

NATANAEL CARDOSO BARBOSA



**UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DOS FATORES
ANTINUTRICIONAIS: TANINOS, INIBIDORES DE
PROTEASES E LECTINAS**

**ANÁPOLIS, NOVEMBRO
2014**

NATANAEL CARDOSO BARBOSA

**UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DOS FATORES
ANTINUTRICIONAIS: TANINOS, INIBIDORES DE
PROTEASES E LECTINAS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Licenciatura
em Química apresentado à Coordenação de
Licenciatura em Química do Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Orientadora: Prof. Msc Viviane de Araújo Ribeiro
Co-orientadora: Prof. Dr^a Laura Maria Barbosa
Gonçalves

**ANÁPOLIS, NOVEMBRO
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA

Barbosa, Natanael Cardoso
B238 Uma revisão bibliográfica dos fatores antinutricionais: taninos,
inibidores de proteases e lectinas. / Natanael Cardoso Barbosa. – –
Anápolis: IFG, 2015.
88 p.: il.
Inclui CD- Rom

Orientador: Profº Msc Viviane de Araújo Ribeiro, co- orientadora
Prof. Dra. Laura Maria Barbosa Gonçalves.

Trabalho de Conclusão do Curso de Licenciatura em Química,
Instituto Federal de Goiás, Campus Anápolis, 2015.

1. Taninos – Revisão Bibliográfica. 2. Protease. 3. Peptidase
4. Ribeiro, Viviane de Araújo. 5. Gonçalves, Laura Maria Barbosa
I. Título.

CDD 540

Código 001.2015

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Claudineia Pereira de Abreu,
CRB-1/1956.

Biblioteca Clarice Lispector, IFG Campus Anápolis
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família!

Meus pais, irmã e cunhado, e sobrinhos que sempre me incentivaram...

E em especial à minha querida esposa, Raquel Ziza, que sempre me apoiou nos momentos mais importantes da minha vida! Que com seu sorriso, sempre foi capaz de me fazer suportar os momentos mais difíceis....

AGRADECIMENTOS

À Deus, que neste ano de 2014, me permitiu continuar vivendo...

À minha orientadora, Prof^a. Viviane, que soube relevar meus erros e aperfeiçoar meus acertos...

À Professora Laura Maria pelas orientações e disposição em ajudar...

À Professora Rejane Dias, pela dedicação com que corrigiu este trabalho e pelas palavras de incentivo...

À coordenação do curso de Química do IFG...

Meu muito Obrigado!

RESUMO

Fatores antinutricionais são substâncias produzidas pelas plantas e pertencem à classe dos metabólitos secundários, cuja função é defendê-las contra ataques de fungos, bactérias e herbívoros. Quando ingeridos em grandes quantidades, podem provocar efeitos nutricionais indesejados. Os taninos, compostos fenólicos são considerados fatores antinutricionais por terem a capacidade de se complexar com moléculas e precipitá-las impedindo a absorção pelo corpo humano. Os inibidores de proteases são proteínas que atuam inibindo a ação catalítica de enzimas se ligando à sítios específicos e dificultando a ação de substâncias benéficas ao organismo. As lectinas são proteínas com especificidade para carboidratos, que ligando-se a eles, aglutinam-se, formando precipitados e provocando carência nutricional desta substância. Com o objetivo de contribuir para o acesso à informação, este trabalho presta-se a uma revisão bibliográfica das mais recentes pesquisas na área de Fatores Antinutricionais. Foram reunidas definições descritas pela literatura, ações fisiológicas e conseqüências para o organismo humano, bem como resultados encontrados em pesquisas que determinaram os respectivos teores em alguns alimentos. Concluiu-se que tratam-se de substâncias que possuem dupla ação no organismo - ao mesmo tempo em que suas propriedades são usadas na farmacologia como algo benéfico, também podem prejudicar o corpo humano – e que ainda há pouca informação acessível, sendo assim, necessária maior atenção na disponibilidade destas pesquisas.

PALAVRAS CHAVE: Fator Antinutricional, Taninos, Inibidores de Proteases, Lectinas

ABSTRACT

Anti-nutritional factors are substances produced by plants and belong to the class of secondary metabolites, whose function is to defend them against fungal attacks, bacteria and herbivores. When ingested in large quantities, can cause undesirable nutritional effects. The tannins, phenolic compounds antinutritional factors are considered to have the ability to complex molecules and to precipitate them preventing the uptake by the human body. The protease inhibitors are proteins that act by inhibiting the catalytic action of enzymes by binding to specific sites and hindering the action of substances beneficial to the organism. Lectins are proteins with specificity for carbohydrates which by binding to them, coalesce, forming precipitates and nutritional deficiency causing this substance. In order to contribute to access to information, this work lends itself to a literature review of the latest research in the area of anti-nutritional factors. Settings described in the literature were pooled, physiological actions and consequences to the human body and results in research that determined their content in some foods. It was concluded that these are substances with double action in the body - while its properties are used in pharmacology as something beneficial, can also harm the human body - and that there is still little information available, therefore, necessary greater attention to the availability of this research.

KEYWORDS: anti-nutritional factor, tannins, proteases inhibitors, lectins

LISTA DE FIGURAS

PÁGINAS

01	Mecanismo de ativação das defesas da planta.....	09
02	Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.....	12
03	Biossíntese do ácido chiquímico.....	14
04	Biogênese de galataninos e elagitaninos.....	15
05	Estrutura do ácido Gálico e ácido Elágico: de onde se deriva os galitaninos e elagitaninos.....	16
06	Precursor comum dos taninos hidrolisáveis:β-1,2,3,4,6-pentagalolil-D-glicose.....	16
07	Biossíntese de Flavonóides.....	17
08	Biossíntese de taninos condensados.....	18
09	Estrutura de Taninos condensados formada por grupos de polihidroxi-flavanol-3.....	18
10	Blueberry ou uvas-do-monte (A) e Mangostão (B).....	24
11	Cranberries ou oxicocos (A) e Romã (B).....	25
12	Amaranto da espécie <i>Amaranthus hypochondriacus</i> (A) e Frutos da Aroeira (B).....	26
13	Árvore e fruto do Baobá.....	26
14	Jiló (A) e Maxixe (B).....	28
15	Graviola (<i>Annona muricata</i> L.).....	29
16	Pequi(A) e Cagaita (B).....	34
17	O Caraguatá (A), o Tarumã (B), a Laranjinha de Pacu (C), o Araçá (D), o Saputá (E) e o Pateiro (F).....	35
18	Jatobá.....	36
19	Arranjo característico das serino proteases. Os resíduos da tríade catalítica Asp102-Ser195-His57 estão representados pela cor azul. Tripsina (A) PDB1FY8 e a subtilisina (B) PDB 1S01. Note que as estruturas são diferentes: quimotripsinas (A) possuem maior quantidade de folhas-βs, enquanto as subtilisinas maior quantidade de α-hélices. Na tripsina (A) mostramos também representado em azul o Asp189 (mais a direita) que confere a especificidade.....	38
20	Modelo de inibidores competitivos – (A) Substrato e enzima (B) inibidor e Enzima.....	40
21	Modelo de Inibidor Não-competitivo.....	40
22	Modelo de Inibição incompetitiva.....	41
23	Representação do processo digestório na presença de inibidores de protease. O esquema mostra que uma parcela das enzimas é temporariamente inativada pela formação do complexo enzima-inibidor, diminuindo a eficiência do processo digestório.....	43
24	Estrutura tridimensional de BPTI extraída de Boi. As pontes dissulfeto são representadas em azul e o loop reativo é indicado pela seta.....	47
25	Estrutura tridimensional do inibidor de proteína de soja do tipo Bowman-Birk.....	48
26	Estrutura tridimensional do inibidor de Bowman Birk. Em (1a) é mostrada a área superficial do inibidor. Em (1b) é mostrado o esqueleto molecular que dá forma ao inibidor. Em (1c) interação entre inibidor (cinza escuro) e tripsina suína (cinza claro).....	50

27	Estrutura tridimensional do inibidor tipo batata I extraído de <i>Cucurbita máxima</i> (abóbora, PDB 1MIT). A única ponte dissulfeto é mostrada em azul e o <i>loop</i> reativo é indicado pela seta.....	51
28	Estrutura tridimensional do inibidor tipo batata II. As pontes dissulfeto estão representadas em azul e o <i>loop</i> reativo é indicado pela seta.....	51
29	Estrutura tridimensional do inibidor tipo abóbora.....	52
30	Estrutura tridimensional do inibidor de subtilisina extraído de <i>Streptomycesalbogriseolus</i> da família SSI.....	52
31	Estrutura tridimensional do inibidor da família das antistasinas extraído da saliva de sanguessuga <i>Hirudo medicinalis</i> (PDB 1HIA).....	52
32	Estrutura tridimensional da elafina humana (PDB 2REL) que possui o arranjo característico da família chelonianina.....	53
33	Estrutura tridimensional do inibidor da família ascaris extraído de <i>Ascaris lumbricoides</i> (verme, PDB 1ATA).....	53
34	Exemplos de inibidores de proteases.....	55
35	Representação dos tipos de lectinas: Merolectinas, Hololectinas e Quimerolectinas.....	62
36	(A) Estrutura terciária representativa de um monômero de uma lectina de leguminosa; (B) Dimerização em ConA; (C) Tetramerização em ConA.....	64
37	Representação hipotética de uma hemaglutinação produzida por lectina.....	65

LISTA DE TABELAS**PÁGINAS**

1	Taninos condensados de acordo com o grau de hidroxilação nos anéis A e B dos monômeros básicos.....	19
2	Teor de taninos totais em alguns vegetais.....	22
3	Avaliação da concentração de teores de taninos por um período de seis meses em plantas in natura e em conserva.....	28
4	Avaliação de Taninos e Fitatos na matéria seca em feijão preto irradiado nas dose 2,4,6,8 e 10kGy.....	30
5	Teor de Taninos após a cocção dos grãos de feijão.....	30
6	<i>Teor de Taninos %mEq de catequina (matéria seca) em feijão cru e cozido, em diferentes tempos de armazenamento.....</i>	31
7	Compostos Fenólicos em frutas do cerrado.....	33
8	Inibidor de tripsina nas farinhas de soja integrais e submetidas ao tratamento térmico (mg de tripsina inibida / g de proteínas no extrato).....	56
9	Porcentagem de redução da atividade inibitória de tripsina nos diferentes tempos de processamento.....	57
10	- Médias de níveis de inibidores de tripsina (UIT/mg de farinha de soja integral . FSI) com relação à interação cultivar x períodos de germinação.....	58
11	Classificação de Lectinas do Grupo II em famílias.....	61
12	Resultados encontrados de taninos.....	70

RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
1 INTRODUÇÃO.....	07
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	09
2.1 MECANISMOS E ATIVAÇÃO DAS DEFESAS DAS PLANTAS.....	09
2.2 COMPOSTOS METABÓLITOS.....	11
2.3 CAPÍTULO 01.....	13
2.3.1 TANINOS – UM METABÓLITO SECUNDÁRIO E UM FATOR ANTINUTRICIONAL.....	13
2.3.2 TANINOS HIDROLIZÁVEIS.....	14
2.3.3 TANINOS CONDENSADOS.....	17
2.3.4 AÇÃO FISIOLÓGICA DOS TANINOS.....	21
2.3.5 TANINOS EM ALIMENTOS.....	22
2.3.6 TANINOS NAS PLANTAS DO CERRADO.....	31
2.4 CAPÍTULO 02.....	37
2.4.1 PROTEASE / PEPTIDASE.....	37
2.4.2 MECANISMO DE INIBIÇÃO.....	38
2.4.3 AÇÃO FISIOLÓGICA DOS INIBIDORES DE PROTEASES.....	43
2.4.4 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS INIBIDORES DE PROTEASES.....	44
2.4.5 INIBIDOR TIPO KUNITZ (STI E BPTI).....	46
2.4.6 INIBIDOR TIPO BOWMAN-BIRK (BBI).....	48
2.4.7 INIBIDORES NA INDÚSTRIA FARMACÉUTICA.....	53
2.4.8 INIBIDORES DE PROTEASES EM ALIMENTOS.....	56
2.5 CAPÍTULO 03.....	60
2.5.1 LECTINAS: HISTÓRICO E CLASSIFICAÇÃO.....	60
2.5.2 ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	63
2.5.3 AÇÃO FISIOLÓGICA DAS LECTINAS.....	66
2.5.4 LECTINAS EM ALIMENTOS.....	67
3 METODOLOGIA.....	70
4 ANÁLISE DOS RESULTADOS ENCONTRADOS.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

1 – INTRODUÇÃO

As plantas, como qualquer ser vivo, possuem a necessidade de se proteger contra os perigos dos predadores. Como não podem correr ou se esconder e às vezes meios físicos como espinhos nem sempre detêm certos herbívoros, elas desenvolveram um mecanismo de defesa passivo, cujo papel é desempenhado por substâncias químicas que atuam de maneira muito eficiente contra fungos e bactérias, além de ações herbicidas.

Monteiro *et al.*, (2003) mostram um exemplo prático de como a natureza utiliza algumas substâncias como meio de defesa das plantas. Segundo os autores, nas savanas africanas existe uma espécie de antílope que se alimenta das folhas de acácia, que possuem taninos em baixa quantidade e não afetam sua qualidade nutricional. No entanto, quando estas árvores são depredadas pelos animais, suas folhas liberam o etileno, espécie de hormônio vegetal que induzirá o aumento da síntese de taninos nas folhas das árvores vizinhas e em cerca de 30 min., a quantidade de taninos encontrados nas folhas é tão grande que se os animais continuarem comendo, morrerão!

Esse mecanismo de defesa das plantas tem sua origem nos chamados metabólitos secundários, substâncias produzidas pela planta que não está ligada diretamente a sua função de crescimento ou desenvolvimento.

Para tais substâncias foi utilizado o termo “fator antinutricional” que tem sido usado para descrever compostos ou classes de compostos presentes numa extensa variedade de alimentos de origem vegetal, que quando consumidos, reduzem o valor nutritivo desses alimentos.

Neste trabalho apresentamos uma revisão bibliográfica de três fatores antinutricionais: Taninos - compostos derivados dos flavonóides; Inibidores de Proteases - proteínas que agem inibindo a atividade enzimática e as Lectinas - proteínas que aglutinam carboidratos dificultando a absorção de nutrientes.

No capítulo de Taninos, é mostrada a classificação dada pela literatura científica e seu mecanismo de atuação no corpo humano, bem como sua estrutura e interação química com diversas outras moléculas. Analisaremos também os alimentos e plantas que tiveram o teor de Taninos quantificados, dando especial atenção aos alimentos e plantas do cerrado.

Quanto aos inibidores de Proteases, o objetivo é esclarecer, baseados nos trabalhos já publicados, a respeito da classificação, estrutura química e mecanismo de inibição

desta substância; mostrar como atuam no organismo humano e identificar os alimentos já testados quanto ao teor de inibidores de proteases.

Sobre as Lectinas, é apresentada sua estrutura química e como são classificadas, além de seu mecanismo de ação fisiológica e os alimentos que contêm tais substâncias.

Estes três metabólitos apresentam características importantes para o meio científico, por se tratar de substâncias ambíguas em suas funções. Ao mesmo tempo em que suas propriedades as colocam como substância que podem ser usadas na indústria ou fármacos, também são fatores antinutricionais, caso ingeridas pelo ser humano e animais.

E é justamente sobre esta ambigüidade, que temos como objetivo reunir em um único trabalho, informações científicas que ajudem a entender melhor o caráter antinutricional destas substâncias. Entendemos que há nos meios convencionais de busca, pouca disponibilidade de artigos, trabalhos científicos e livros que tratem com exclusividade sobre este tema.

Em nossa atual realidade, onde a necessidade de se produzir cada vez mais e em melhor qualidade, é de vital importância para suprir a carência de nutrientes na alimentação humana, não basta apenas desenvolver técnicas apuradas de produção. Faz-se necessário uma releitura e entendimento da relação entre a estrutura química dos alimentos e a interação com os organismos vivos, que deles dependem para sua sobrevivência.

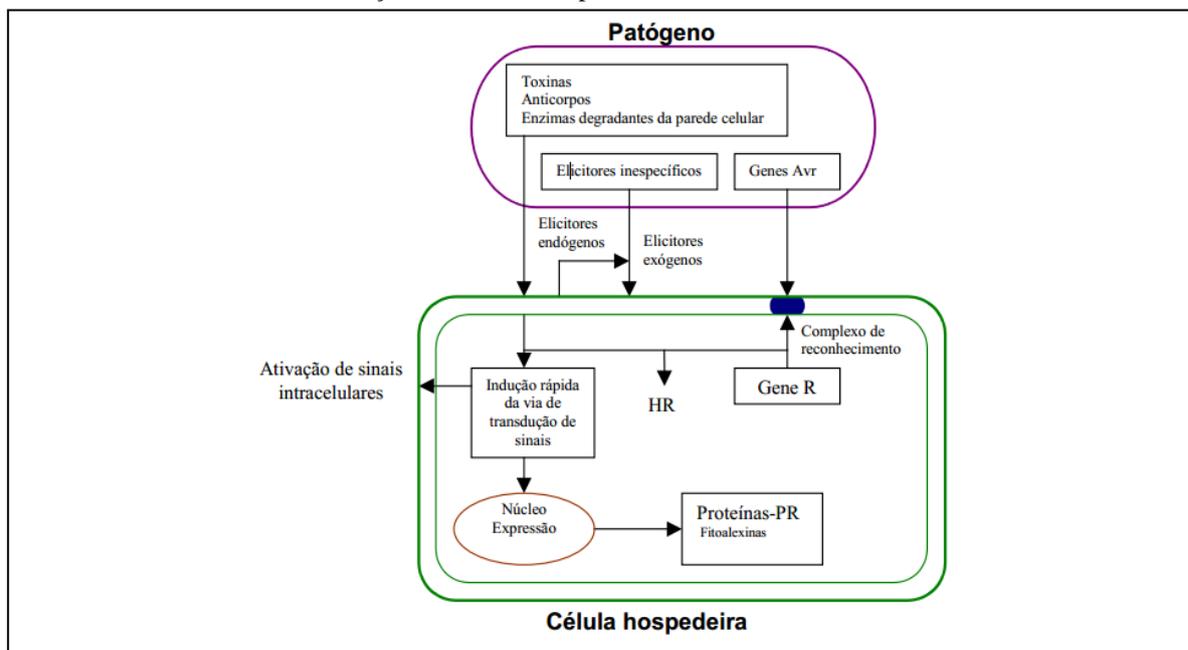
2 – REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – MECANISMO E ATIVAÇÃO DAS DEFESAS DAS PLANTAS.

O mecanismo de defesa das plantas está relacionado ao processo de indução de resistência contra patógenos e ataques herbívidas. A resposta ao ataque envolve a interpretação de sinais por parte da planta como: “abertura de canais de íons, modificações do status de fosforização de proteínas e ativação transcricional de numerosos genes relacionados à defesa”. De maneira geral a defesa da planta inicia-se com o reconhecimento do agressor, em seguida há a emissão de sinais bioquímicos que induzirão o aumento de substâncias importantes para a defesa (SILVA et al., 2008).

O reconhecimento por parte da planta se dá através da interação de um receptor presente na membrana plasmática da célula vegetal e um elucitor produzido por um fitopatógeno, que é uma molécula capaz de induzir uma resposta de defesa da planta. A partir desta ligação inicia-se o processo de produção de compostos de defesa vegetal conforme figura 01 (LABANCA, 2002).

FIGURA 01 – Mecanismo de ativação das defesas da planta



FONTE: SILVA et al., 2008 adaptado de SLATER et al., 2003

Os elucitores podem ser classificados de acordo com sua origem. Podem ser espécie-específicos, quando são moléculas codificadas “pó genes” do patógeno ou, quando a própria planta sofre depredação e fragmentos da parede celular da planta são liberados durante o processo de infecção. A planta possui um gene de reconhecimento específico para cada patógeno chamado de gene R. Para cada gene invasor existe uma interação com um gene da resistência. Esta interação é chamada de gene-a-gene(SILVA *et al.*, 2008).

Os elucitores podem ser extraídos das estruturas do patógenos e das células das próprias plantas sendo elucitores de origem biótica. No entanto, processos abióticos podem também liberar elucitores, como, por exemplo, quando a planta sofre algum tipo de depredação. Além do mais, o processo de defesa da planta pode ser elucidado pelo contato com substâncias orgânicas, como exopolissacarídeos bacterianos, fungos e o próprio vírus inativo e por substâncias químicas como silício, ácido salicílico, quitossana, cloreto férrico entre outros e até mesmo a luz em comprimento de onda específico. Após o reconhecimento, é necessário um sinalizador que irá desencadear o processo de defesa. Supõem-se que algum sinal bioquímico faça este trabalho, mas até o momento nenhuma conclusão foi alcançada, pois para ser considerado um sinalizador primário seria necessário que substância fosse sintetizada pela planta, induzisse a produção de defesas e ainda aumentasse a resistência a patógenos. Embora a natureza destes sinalizadores primários ainda seja desconhecida algumas substâncias fazem bem este papel, como ácido salicílico, ácido jasmônico e o etileno. Após a etapa da sinalização, segue as barreiras de defesa que segundo palavras de SILVA *et al.*, (2008) são divididas em barreiras estruturais pré e pós-formadas.

De forma resumida, no caso das barreiras estruturais pré-formadas podemos citar fatores como a cutícula, tricomas, estômatos e vasos condutores. As barreiras estruturais pós-formadas podem desenvolver a lignificação, suberificação, formação de papilas e de camadas de abscisão e de cortiça, bem como as tiloses. As barreiras bioquímicas pré-formadas envolvem a presença de fenóis, alcalóides, fototoxinas, glicosídeos cianogênicos e glicosídeos fenólicos. Enquanto as barreiras bioquímicas pós-formadas podem englobar o acúmulo de fitoalexinas e de proteínas-PR, bem como a formação de radicais livres, oriundos principalmente do estresse oxidativo (SILVA, *et al.*, 2008)

2.2 - COMPOSTOS METABÓLITOS

Chamamos de metabolismo, o processo incessante que ocorre nas células de todos os seres vivos com o objetivo de manter o organismo vivo, promovendo a sua manutenção e renovação celular; e cujas direções, são orientadas por enzimas específicas, estabelecendo o que conhecemos por rotas metabólicas. Este processo gera os chamados metabólitos, que são classificados em primários e secundários (VIZOTTO, KROLOW e WEBER, 2010).

Os metabólitos primários, por definição, são moléculas encontradas em todas as células vegetais cuja função estrutural é responsável pela síntese de substâncias essenciais para a manutenção da vida, como proteínas, lipídeos, açúcares entre outras (PEREIRA e CARDOSO, 2012).

No entanto, nos organismos vivos, embora em diferentes concentrações, existe um verdadeiro arsenal metabólico (enzimas, coenzimas e organelas), que são capazes de produzir, transformar e armazenar inúmeras outras substâncias não relacionadas à manutenção da vida. Entre estas substâncias estão os metabólitos secundários, cuja função e variedade de compostos estão relacionadas diretamente à defesa da planta. Os metabólitos secundários já foram considerados produtos descartáveis pelas plantas e sem função orgânica importante. No entanto, hoje, reconhece-se sua importância, pois agem como sinalizadores químicos, permitindo à planta interagir com o ambiente, proporcionando ao vegetal defesa ou proteção contra herbívoros ou patógenos ou ainda contra a radiação solar (SANTOS, 1999).

Os metabólitos secundários podem sofrer interferência externa em sua produção biológica. Têm-se provado que o clima, a temperatura, os raios ultra-violeta, ou até mesmo a disponibilidade de água são, dentre outros, fatores externos que influenciam na produção dessas substâncias, muito embora, os autores afirmem que apenas alguns grupos de espécies vegetais têm sido alvos de estudos, desconhecendo, por exemplo, como se dá esta interação com espécies de plantas selvagens (GOBBO-NETO e LOPES, 2006).

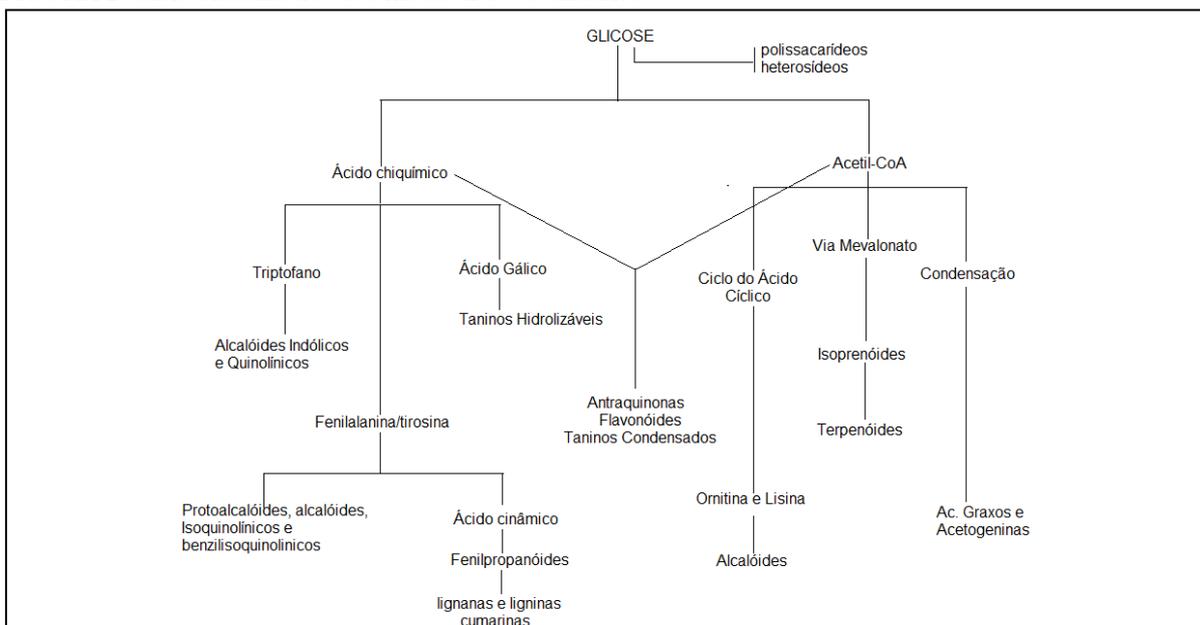
Embora qualquer tecido ou célula vegetal seja capaz de sintetizar os metabólitos secundários, as plantas normalmente os produzem em sítios no interior das células de partes específicas de sua estrutura e realizam a estocagem em outra parte, principalmente nos vacúolos. Essa compartimentalização é muito importante para a sobrevivência do vegetal. Os

glicosídeos cianogénicos são isolados das hidrolases, sendo armazenados nos vacúolos das células epidérmicas. Somente em caso de ataque herbicida, como a mastigação, onde os tecidos são lesionados é que os glicosídeos cianogénicos e as hidrolases se misturam e reagem formando e liberando o HCN. Embora a concentração dos metabólitos secundários varie muito ao longo do período de 24h, essa é a forma que a planta tem de se defender e ficar protegida (GOBBO-NETO e LOPES, 2006; SANTOS, 1999).

Quando pensamos no processo de metabolismo, temos que considerar que a linha divisória entre metabolismo primário e secundário não é nítida. Isto porque na maioria das células e organismos, as rotas metabólicas de produção, transformação e reação, são muito similares. Muito embora as rotas dos metabólitos secundários só sejam ativadas em determinadas situações específicas, como por exemplo, em períodos de estresse que passe a planta, muitos metabólitos são ativados dentro da seqüência das reações dos metabólitos primários (SANTOS, 1999).

Como mostrado na Figura 2, o processo de produção dos metabólitos secundários, se forma através do metabolismo da glicose, através dos seus intermediários: o ácido chiquímico e o Acetil-CoA; que por sua vez favorecem a via de produção de inúmeros produtos, como exemplo os flavonóides (SANTOS, 1999).

FIGURA 2: Ciclo biossintético dos metabólitos secundários



FONTE: SANTOS, 1999

2.3 – CAPÍTULO 01

2.3.1 – TANINOS – UM METABÓLITO SECUNDÁRIO E UM FATOR ANTINUTRICIONAL

A palavra tanino é utilizada na literatura científica como sinônima do termo tanante, que é uma substância usada desde a antiguidade para dar resistência à pele dos animais para a produção de couro. São compostos presentes em uma extensa variedade de vegetais agindo na defesa das plantas; sendo os responsáveis pelo pigmento avermelhado de algumas plantas e frutos e pelo gosto adstringente de alguns alimentos. A sensação de adstringência é gerada devido à capacidade que os taninos possuem de entrar, em contato com a saliva, formar um complexo insolúvel, que ao precipitar as glicoproteínas salivares, ocasiona a perda do poder lubrificante (MONTEIRO *et al.*, 2003).

Historicamente, plantas ricas em taninos sempre foram utilizadas para transformar a pele dos animais em couro. Isto porque estes compostos são capazes de se complexar com macromoléculas criando fibras de colágeno na pele adquirindo resistência ao calor, água e abrasivos (SANTOS E MELLO, 1999; MONTEIRO *et al.*, 2003).

Em 2013, cientistas europeus, ao pesquisarem várias espécies de vegetais a fim de identificar as células que produzem os taninos, descobriram uma organela dentro do cloroplasto celular que a chamaram de tannosomes. Segundo os autores, os tannosomes se formam através das tilacóides, espécie em forma de “discos achatados” dentro dos cloroplastos. Essas organelas após sintetizarem os taninos e “empacotá-los”, os levam para fora do cloroplasto e em seguida os transportam para o vacúolo da planta de onde serão liberados para agirem na defesa vegetal (BRILLOUET *et al.*, 2013).

Os taninos fazem parte dos chamados flavonóides, que são estruturas que apresentam ao menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxílicos, sendo estes grupos substituintes que incluem seus grupos funcionais (ROCHA *et al.*, 2011).

Os taninos são sólidos, sem forma definida em sua maioria, solúveis em água, álcool, glicerina e polietilenoglicol e na presença de solventes orgânicos apolares, são insolúveis (CORNÉLIO, BERNARDINO e MOCCOL, 2003; SILVA e SILVA, 2000).

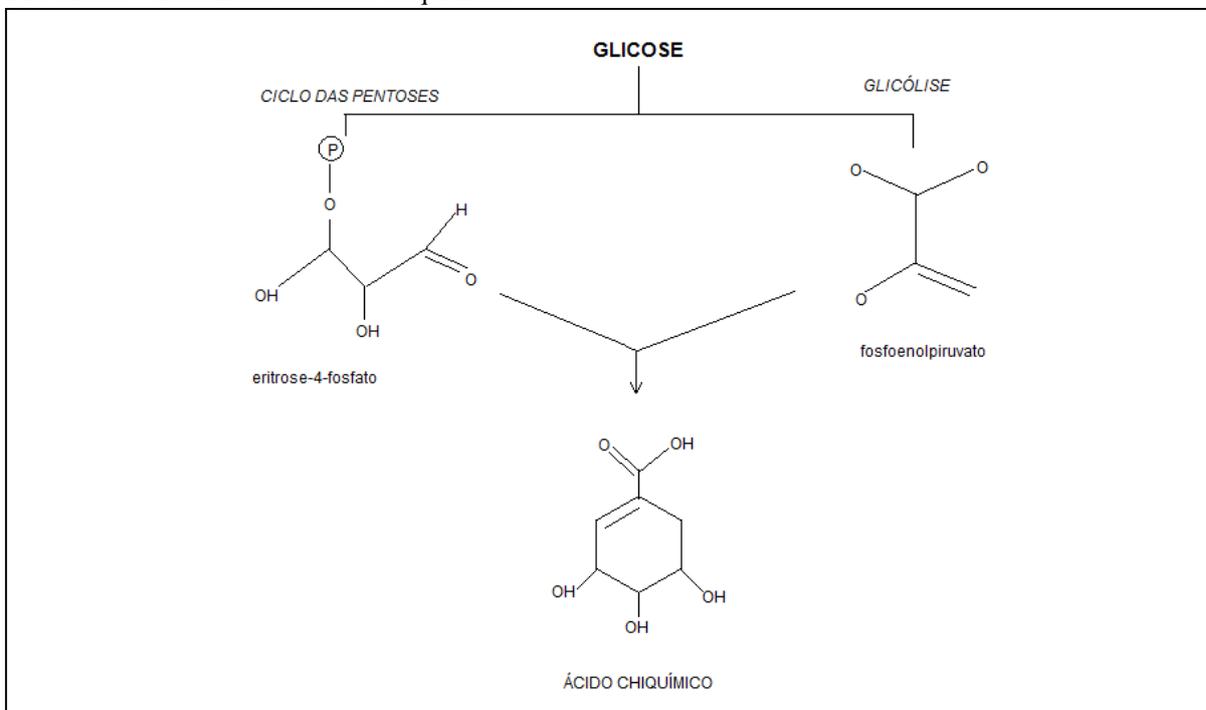
Apresentam peso molecular compreendido entre 500 a 3000 Dalton e possuem a capacidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, minerais, gelatinas e alcalóides (MONTEIRO et al., 2003).

Tradicionalmente os taninos são classificados de acordo com sua estrutura química em dois grupos: os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados (SANTOS, 1999).

2.3.2 – TANINOS HIDROLIZÁVEIS

Os taninos hidrolisáveis são derivados do ácido chiquímico, que por sua vez é formado pela condensação aldólica de dois metabólitos da glicose conforme figura 3. Uma vez formado, o ácido chiquímico pode ser metabolizado em ácido gálico, que é um precursor dos galitaninos, exemplo de tanino hidrolisável (SANTOS, 1999).

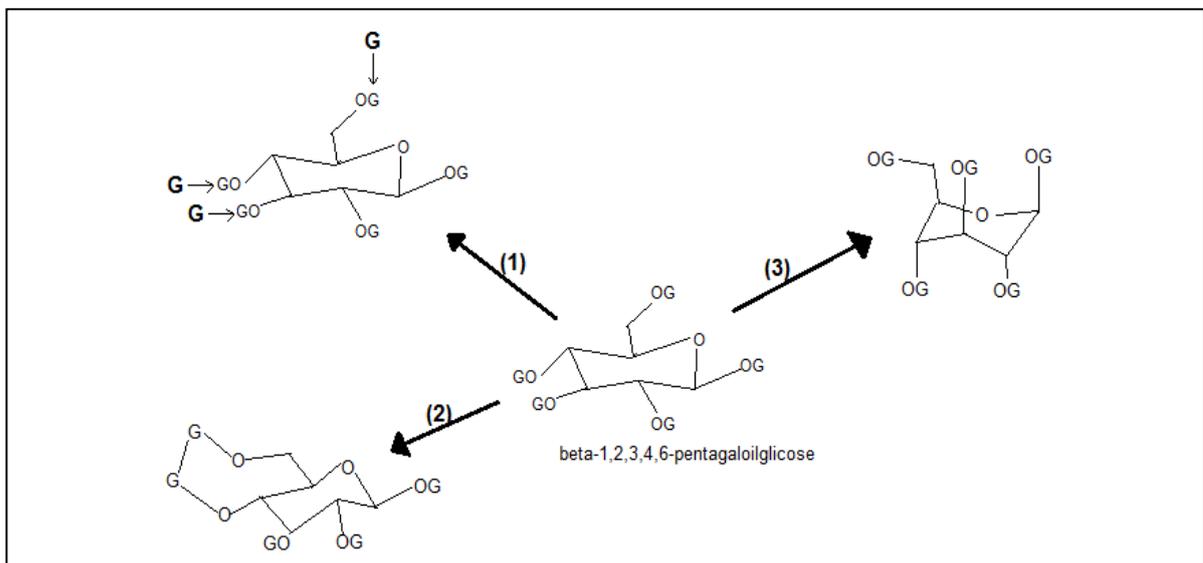
FIGURA 3 – Biossíntese do ácido chiquímico.



FONTE: SANTOS, 1999

A reação do ácido gálico com UDP-glicolise, forma o β -glicocalina (β -1-O-galoila-D-glicose), que é um intermediário para o β -1,2,3,4,6-pentagaloil-D-glicose que por sua vez sofre ações oxidativas, formando os galotaninos e elagitaninos. Existem três rotas metabólicas, conforme Figura 4, que geram os elagitaninos e os galataninos a partir do pentagaloil-glicose. A rota 1, mostra a formação de galotaninos pela adição de grupos galoila. A rota 2, leva a formação de elagitaninos com a glicose na conformação de cadeira mais estável e a rota 3, leva a formação de elagitaninos, empregando glicólise na conformação de cadeira com os substituintes em posição axial (SANTOS e MELLO, 1999).

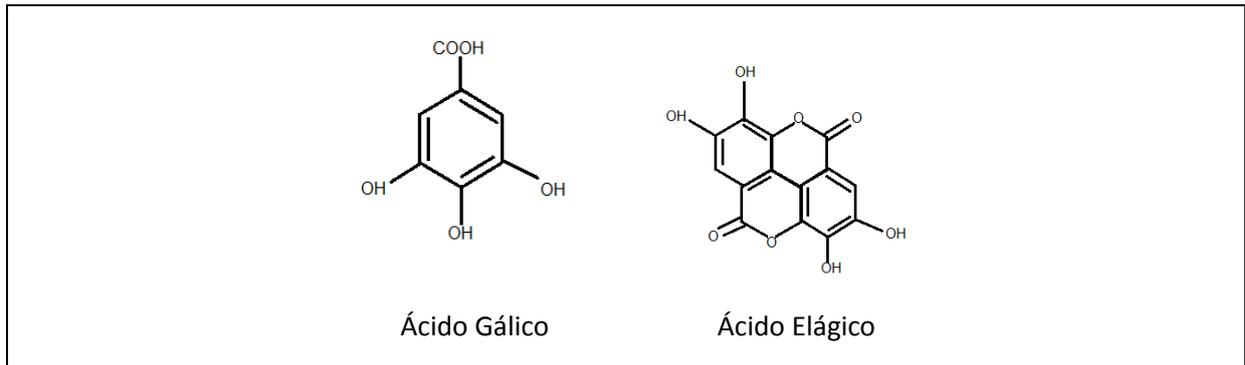
FIGURA 4 – Biogênese de galataninos e elagitaninos



FONTE: SANTOS e MELLO (1999).

Os taninos hidrolizáveis incluem os galitaninos e os elagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico (Figura 5). Os taninos galotaninos, são encontrados na maioria das frutas como caqui e banana e os taninos elagitaninos são utilizados no tratamento preventivo de câncer e encontrados em frutas vermelhas como morango, framboesa e amora (BERNARDES *et al* 2011 e GILANI, 2005).

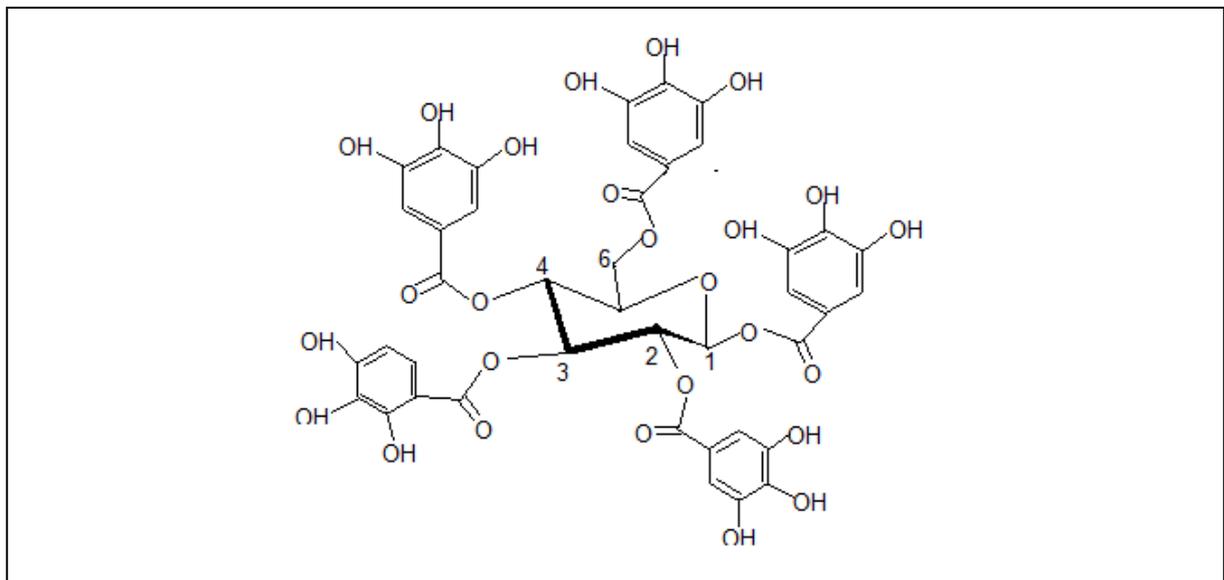
FIGURA 5 –Estrutura do ácido Gálico e ácido Elágico: de onde se deriva os galitaninos e elagitaninos.



FONTE: BERNARDES *et al* (2011).

Uma característica importante para os taninos hidrolisáveis é que possuem um precursor imediato comum, tanto para os galitaninos como para os elagitaninos: o β -1,2,3,4,6-pentagaloi-D-glicose (Figura 6). Os galotanninos são formados a partir de ligações meta-depsídicas dos ácidos gálicos com o precursor imediato. Enquanto os elagitaninos, são formados pelo acoplamento dos ácidos elágicos ao precursor imediato (SANTOS e MELLO, 1999).

FIGURA 6 – Precursor imediato comum dos taninos hidrolisáveis - β -1,2,3,4,6-pentagaloi-D-glicose.



FONTE: SANTOS e MELLO (1999).

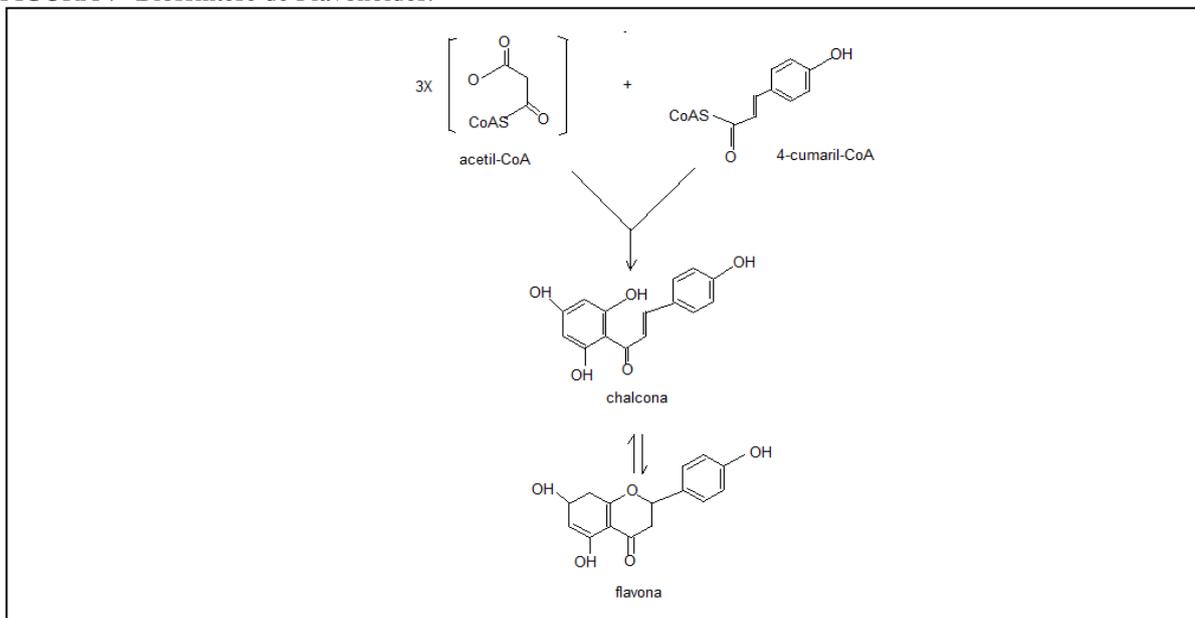
2.3.3 – TANINOS CONDENSADOS

Os taninos condensados são derivados dos flavonóides e representam um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Seu mecanismo de biogênese é assim detalhado por Santos e Mello (1999):

Di-hidroflavonóis são os substratos diretos para a abundante classe de flavonóis e para a formação de flavan-3,4-dióis, que são conhecidos como leucoantocianidinas. Através da redução de di-hidroflavonóis na posição 4, catalizada pela di-hidroflavonol-4-redutase, formam-se primeiramente os flavan-2,3-trans-3,4,cis-dióis (ex. leucopelargonidina), os quais são intermediários na formação de catequinas, proantocianidinas e antocianidinas. Catequinas (ex. afzelequina) são sintetizadas a partir das leucoantocianidinas, para, posteriormente sofrerem redução na posição C-4. Essa reação é catalizada pela flavan-3,4-cis-diól-redutase. Proantocianidinas (ex. propelargonidina B-3) provavelmente é originada a partir de leucoantocianidina e catequinas por uma reação de condensação. A enzima catalizadora dessa reação entretanto ainda não é conhecida (SANTOS e MELLO, 1999).

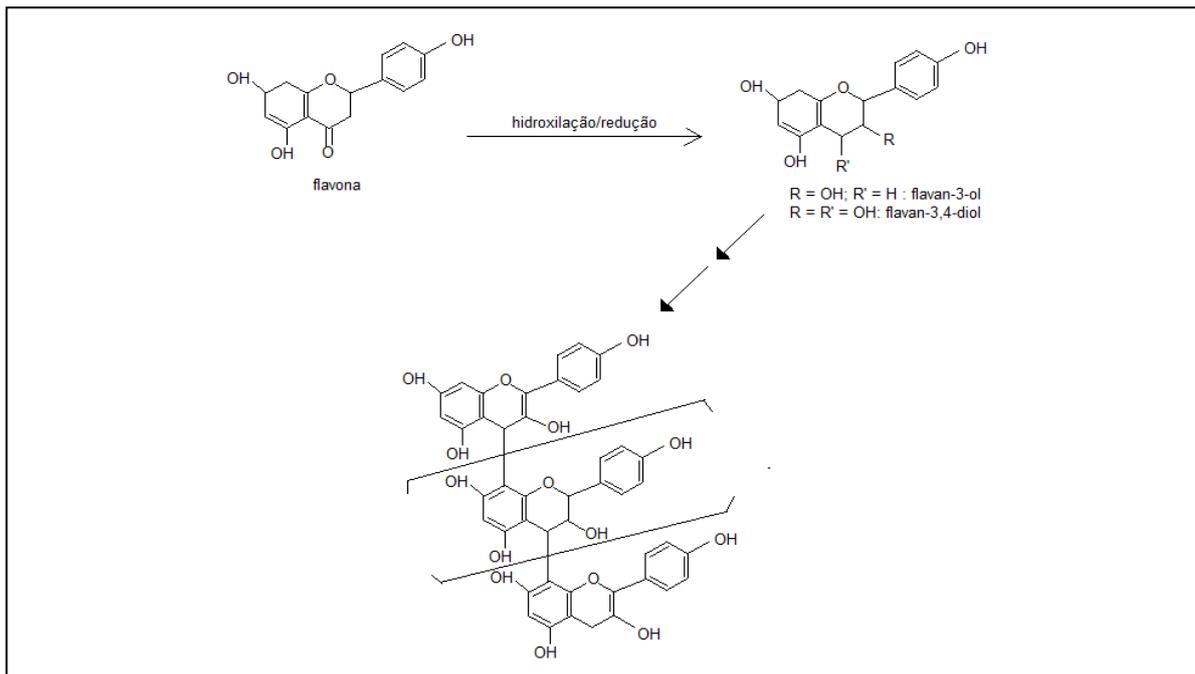
Santos (1999) demonstra o metabolismo dos flavonóides (Figura 7) como forma de explicar a origem dos taninos condensados afirmando que são derivados do metabolismo dos flavonóides sendo hidroxilados no C-3 de uma flavona, seguido por redução, conforme mostrado na Figura 8.

FIGURA 7- Biossíntese de Flavonóides.



FONTE: SANTOS, 1999.

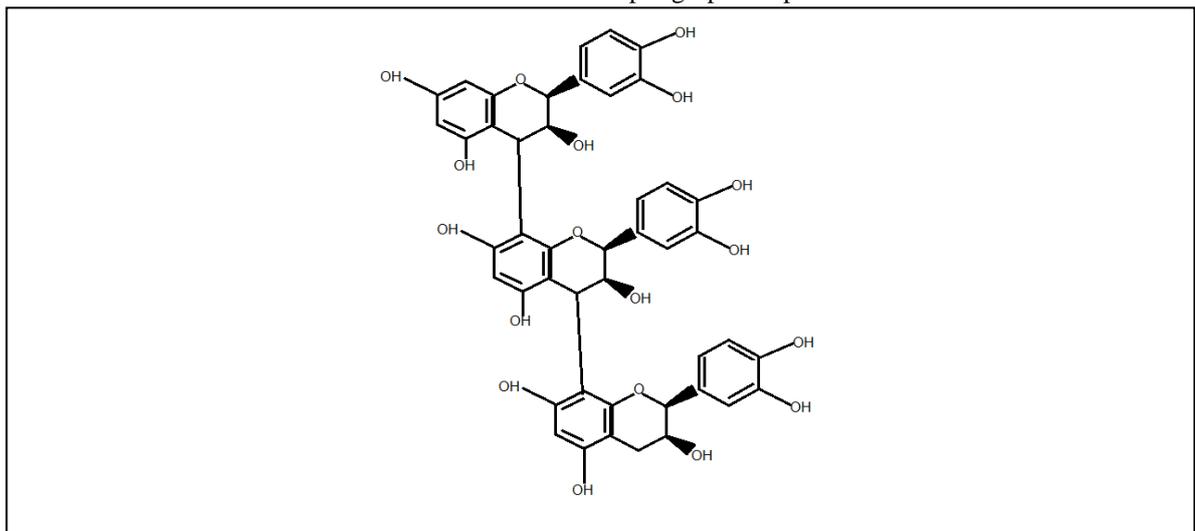
FIGURA 8 – Biossíntese de taninos condensados.



FONTE: SANTOS, 1999

Os taninos condensados são encontrados em vegetais como: uva, pêra, maçã, maracujá, cacau, romã, açaí, nozes, amêndoas, cravo, canela, feijão vermelho. Possui em sua estrutura química um grupo de polihidroxi-flavanol-3 (Figura 9) produtos do metabolismo do fenilpropanol (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004; SANTOS e MELLO, 1999).

FIGURA 9 – Estrutura de Taninos condensados formada por grupos de polihidroxi-flavanol-3.

FONTE: BERNARDES *et al.*, 2011.

Assim como os taninos hidrolisáveis, a formação de taninos condensados exige-se um precursor comum, neste caso, os flavan-2,3-trans-3,4-cis-dióis que são resultado da reação de redução dos di-hidroflavonóis na posição 4, catalizada pela di-hidroflavonol-4-redutase. A ausência ou a presença de hidroxila na posição C-5 do anel, divide os taninos condensados em dois grupos, conforme a Tabela 1. (SANTOS e MELLO, 1999)

TABELA 1 – Taninos condensados de acordo com o grau de hidroxilação nos anéis A e B dos monômeros básicos.

TIPO	PROANTOCIANIDINA	MONÔMERO - NOME TRIVIAL	SUBSTITUINTE			
			R1	R2	R3	R4
1	Prodistenidina	Distenina	H	H	H	H
	Propelargonidina	Afzelequina	H	H	OH	H
	Procianidina	Catequina	H	OH	OH	H
	Prodelfinidina	Galocatequina	H	OH	OH	OH
2	Proguibourtidina	Guibourtinidol	H	H	OH	H
	Profisetinidina	Fisetinidol	H	OH	OH	H
	Prorobinetinidina	Robinetinidol	H	OH	OH	OH
	Proteracacinidina	Oritina	OH	H	OH	H
	Promelacacinidina	Mesquitol	OH	OH	OH	H

FONTE: SANTOS e MELLO, 1999

Embora sejam conhecidos os benefícios farmacológicos que esta classe de compostos possuem graças à capacidade que os mecanismos de ação dos taninos tem em se complexar com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros), e possuir atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres, podem também causar o escurecimento enzimático de frutas além de possuir uma outra habilidade que confere aos taninos o caráter antinutricional, que é a capacidade de complexação com macromoléculas, como as proteínas e polissacarídeos, reduzindo significativamente a biodisponibilidade mineral e a digestibilidade protéica no organismo humano (PEREIRA e CARDOSO, 2012; ROCHA *et al*, 2011; MELLO e SANTOS 2011).

Segundo REED (1995), a capacidade de complexação dessa classe de compostos deve-se entre outros fatores à presença de grupos hidroxilafenólicos, que permite a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas e a capacidade de combinação com celulose e pectina para formar complexos insolúveis.

Pode-se afirmar que os complexos taninos/proteínas quando formados, se mantêm estáveis graças às ligações de hidrogênio. No entanto, para que estas ligações permaneçam de forma duradoura, é necessário que haja um limite definido sobre o peso molecular dos taninos, pois para que haja um acoplamento perfeito entre as moléculas o tanino não pode ser nem muito grande ou não se encaixaria nos espaços interfibrilares das proteínas e nem deve ser muito pequeno ou as ligações de hidrogênio não serão suficientes para mantê-los unidos (MONTEIRO *et al.*, 2003).

Os taninos reagem com as proteínas na forma não oxidada, através de pontes de hidrogênio ou ligações hidrofóbicas. Quando estão oxidados os taninos se transformam em quinonas, que fazem ligações covalentes com alguns grupos funcionais das proteínas, principalmente os grupos sulfidrilos da cisteínas e amino da lisina (SILVA e SILVA , 2000).

O método colorimétrico é o ideal para se detectar alguns grupos de taninos específicos sendo que o mais recomendado é o método de Folin-Denis. Este método não faz distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido ascórbico, que podem formar precipitados interferindo na leitura espectrofotométrica. Para quantificar taninos condensados, os métodos mais utilizados são o butanol - HCL e o vanilina. O método da vanilina, depende da reação da vanilina com os taninos para se formar complexos coloridos e de fatores como tipo do solvente, tempo de reação, temperatura e ainda concentração da própria vanilina. Cada mol de taninos pode se ligar a doze mols de proteínas e são facilmente oxidáveis tanto por metais como cloreto férrico, o que leva ao escurecimento de suas soluções, quanto por influencia de enzimas vegetais específicas (MONTEIRO *et al.*, 2003).

Encontrar métodos de redução no teor de taninos é muito desejável, pois este fator antinutricional tem a capacidade de reduzir drasticamente a digestibilidade. A alta temperatura altera os compostos da parede celular e decompõem certos compostos fenólicos. Por isso, um dos métodos mais eficientes de se eliminar certos fatores antinutricionais, é aquecer os alimentos por um período mínimo de 10 min (MECHI, CANIATTI-BRAZACA e ARTHUR, 2005)

2.3.4 – AÇÃO FISIOLÓGICA DOS TANINOS

A medicina popular e tradicional tem utilizado de algumas plantas como tratamento contra diversas doenças; tais como diarreia, hipertensão arterial, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas renais e urinários e processos inflamatórios em geral. Esse efeito farmacológico, depende de três características principais: capacidade de se complexar com íons metálicos, atividade antioxidante e seqüestradora de radicais livres e por último a capacidade de se complexar com macromolecular como as proteínas (SANTOS e MELLO, 1999).

Várias doenças degenerativas como o câncer, esclerose múltipla, asteroesclerose e o próprio processo de envelhecimento, são situações que estão associadas a um grande número de radicais livres no organismo. O tratamento com taninos tem sido uma excelente alternativa para a diminuição destes radicais no corpo humano, uma vez que os taninos possuem a capacidade de precipitar proteínas, interceptando o oxigênio e estabilizando os radicais. São considerados importantes agentes na luta contra a diminuição do risco de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer ou até mesmo no tratamento de pessoas com Mal de Parkinson e Alzheimer. Os taninos podem ainda proteger o organismo contra lesões, impedindo que radicais livres destruam os lipídios, os aminoácidos e as bases do DNA, evitando danos à célula (BENEVIDES *et al.*, 2011 e PEREIRA e CARDOSO, 2012).

Os taninos, podem ser considerados indesejáveis na nutrição justamente por inibir enzimas digestivas e assim afetar a utilização de vitaminas e minerais, podendo ainda em alta concentração, causar deficiência protéica ou desenvolver câncer de bochecha e esôfago. Os taninos podem ter duplo efeito. Por um lado, podem agir como captadores de radicais livres do organismo, que provocam doenças degenerativas como o câncer, esclerose múltipla, arteriosclerose e o próprio processo de envelhecimento, além de serem uma poderosa arma contra a replicação do HIV, por outro, os taninos estão envolvidos possivelmente na formação de cânceres, hepatotoxicidade e efeitos anti-nutricionais (MONTEIRO *et al.*, 2003)

Ainda segundo Monteiro et al., (2003) em determinada localidade dos EUA, a população mantém a tradição de comer nozes após o almoço. O problema é que estas nozes contêm 25% a mais de taninos e podem ser as grandes responsáveis pela alta incidência de câncer de esôfago nesta localidade.

Contraditoriamente, Monteiro *et al.*, (2003) citam no mesmo trabalho que os taninos altamente consumidos pelos japoneses, através do chá verde, rico em ácido tânico e outros polifenóis, também podem ser os responsáveis pelo baixo risco de câncer gástrico percebido nesta comunidade.

No Brasil ainda não há informações sobre o valor total consumido diariamente de taninos, mas para se ter uma idéia, os americanos ingerem cerca de 1g de taninos por dia segundo (SANYAL, 1997).

Segundo Santos e Mello (1999), alguns estudos sobre a atividade dos taninos, mostraram que dependendo da quantidade e do período de ingestão, tais substâncias podem também ter ação antibacteriana e ação sobre protozoários além de atuarem na reparação de tecidos e na regulação enzimática e protéica.

2.3.5 – TANINOS EM ELIMENTOS

Em artigo publicado por Battestin, Matsuda e Macedo (2004), afirmam que pesquisas realizadas por diferentes autores, mostram uma variação na quantidade de taninos encontrados nas plantas, conforme tabela 02. Esta variação decorre não somente de um vegetal para o outro, mas também variam de acordo com as diferentes partes colhidas e analisadas.

TABELA 2 – Teor de taninos totais em alguns vegetais.

PRODUTO	TEOR DE TANINO
Folha do Abacaxi	0,81%
Caule do Abacaxi	0,61%
Sorgo	0,60 – 2,61%
Mandioca	0,62 – 1,11%
Cajú	0,35 – 0,72%
Café (casca)	1,31 – 2,97%
Folha de Couve-Flor	0,21 g/100mg
Folha de brócoli	0,325 g/100mg
Couve	0,290 g/100mg

Folha da Taioba	1,0 g/100mg
Limbo da Taioba	1,17 g/100mg
Caule	0,82 g/100mg

FONTE: Adaptado de BATTESTIN, MATSUDA e MACEDO, 2004.

Os taninos também são encontrados também em alimentos como: erva-mate, ervas que formam o chá verde e o chá preto, além de sementes, raízes e frutas como maçã, uva, caju e abacaxi; e vegetais como brócolis, couve-flor e mandioca (BERGAMASCO, 2014).

Nunes (2005) afirma que a concentração de taninos no caju, varia de acordo com o período da colheita, o ano, o tipo e a variedade do fruto podendo encontrar diferentes concentrações. Em análises realizadas pelos autores, foram encontrados, por exemplo, teores que variam de 1,09% a 1,40%. As folhas do brócolis, da couve e da couve-flor, são exemplos de resíduos desprezados pela indústria na preparação de alimentos e que poderiam ser usados para suprir a necessidade nutricional da população de baixa renda. Estas espécies de vegetais possuem em sua estrutura química, substâncias como os taninos que são fatores antinutricionais e podem comprometer o consumo de tais partes da planta.

Santos (2006) realizou um estudo buscando um método eficiente para a diminuição de tais compostos durante o preparo. Para isso, realizou a cocção de folhas dos vegetais em diferentes temperaturas de 0, 2,4,6,8 e 10 min. Após o tratamento verificou-se a redução de taninos nas três espécies de brássicas estudadas sendo que as folhas de couve-flor obtiveram a maior perda de 66,51% do total de compostos fenólicos presentes, dentre eles os taninos. Embora tenha havido uma redução na taxa de fatores antinutricionais, a redução ainda não foi suficiente para um consumo seguro de tais hortaliças.

A maçã, uma das frutas mais consumidas mundialmente, é usada no Brasil para a produção da Sidra bebida feita a base de suco de maçã fermentado, com teor alcoólico de 4 a 8%. Para a produção da bebida é necessário que as frutas tenham pelo menos uma característica que é: sabor doce, baixa acidez e alto teor de taninos. Um estudo realizado com 124 cultivares de maçãs brasileiras de 1982 a 2003 demonstrou que em média os frutos da macieira continham 315 mg.L^{-1} de compostos fenólicos em sua estrutura sendo uma dos principais os taninos (ZARDO, 2007).

Freitas *et al.*, (2009) afirmam que no Caqui, bastam apenas 0,8 mg de taninos para cada 100g da fruta para que já se perceba a adstringência causada pelos taninos. Para fins

práticos no tratamento de destanização da fruta, seriam necessários três dias de exposição total da fruto a vapores de etanol para a diminuição dos teores de taninos a níveis imperceptíveis.

Os blueberries ou uvas-do-monte (Figura 10-A) estão entre as frutas mais estudadas em relação a alimentos com alto valor nutricional, devido à sua boa concentração de antocianinas, proantocianidonas, flavonóides e taninos que conferem a esta fruta grande poder antioxidante e inibem o processo de desenvolvimento de células cancerosas (FIB, 2010).

O mangostão (Figura 10-B) tem sido classificado como uma fruta que contém todos os nutrientes necessários para a saúde humana, entretanto, sua casca que representa cerca de 70% de seu peso, contém uma quantidade expressiva de xantonas e taninos, causando forte adstringência o que impede o ataque de fungos e bactérias e até mesmo de animais enquanto seus frutos não estiverem completamente maduros (FIB, 2010).

Figura 10 – Blueberry ou uvas-do-monte (A) e Mangostão (B)



O guaraná, planta originaria da Amazônia e bastante consumida pela população, embora contenha quantidade significativas de substâncias benéficas, também possui em sua estrutura, grandes quantidades de alcalóides, terpenos, flavonóides, amido, saponinas e principalmente taninos (FIB, 2010).

Os cranberries (Figura 11-A) ou também chamados de oxococos, em teste realizados *in vitro*, mostrou ser bons combatentes contra células cancerígenas. No entanto, este processo não foi comprovado quando ingerido por humanos, sendo rapidamente eliminado pela corrente sanguínea. Em sua composição, os taninos têm apresentado bons efeitos anticoagulantes e efeitos contra as placas dentárias (FIB, 2010).

De maneira geral, a romã (Figura 11-B) não é uma fonte significativa de nutrientes. Contudo, a grande quantidade de compostos fenólicos, principalmente taninos hidrolisáveis, faz desta fruta um importante instrumento de estudos no combate de radicais livres, sendo que um estudo *ex vivo*, com plasma sanguíneo indicou um aumento de 32% da capacidade antioxidante plasmática após a absorção de um extrato do suco de romã (FOOD, 2010).

FIGURA 11 – Cranberries (A) e Romã (B)



O Brasil sempre optou pela produção em larga escala de leguminosas como a soja e o feijão. No entanto para o agricultor familiar este tipo de cultivo, não é mais atrativo e portanto seria interessante que se introduzissem no país outras espécies de grãos de grande valor nutritivo e de fácil manejo. Uma destas opções seria o cultivo do *Amaranthus* sp (figura 12-A), uma planta que produz grãos muito nutritivos e que a Embrapa Cerrados em Planaltina-GO, tem estudado algumas espécies americanas para a introdução no Brasil. Nestes estudos tem-se demonstrado que, embora possuam bom valor nutricional, também apresentam compostos taninos em quantidade moderada que estão concentrados na casca das sementes sendo que quanto mais escura, maior a concentração. Na espécie *A. cruentus*, varia de 0,043 a 0,13%, na espécie *A. hypochondriacus*, de 0,054 a 0,065%, no *A. edulis* é de 0,22% e no *A. hybridus* é de 0,12% (AMAYA-FARFAN, MARCÍLIO E SPEHAR; 2005).

A aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) produz frutos (figura 12-B) que são largamente utilizados na culinária mundial como especiaria, por proporcionar agradável paladar no tempero dos alimentos. Possui um sabor suave e levemente picante sendo apropriado para a produção de molhos para carnes e na produção de salame, chocolates e

massas. Entre as substâncias encontradas nas sementes, foi detectado no fruto um valor de 2,70% de taninos condensados e de 2,54% na casca (BERNARDES *et al.*, 2011).

FIGURA 12 - Amarantho da espécie *Amaranthus hypochondriacus* (A) e Frutos da Aroeira (B)



O baobá (Figura 13), árvore característica das savanas africanas, produz um fruto rico em compostos fenólicos. Além de constituírem importante fonte de proteínas e fibras para a população africana a polpa do fruto possui uma grande capacidade antioxidante, devido à presença de taninos (CASTRO, 2008).

FIGURA 13 – Árvore e fruto do Baobá



Castro (2008) estudou a composição fenólica deste fruto e segundo palavras do autor:

O extrato em metanol apresentou uma concentração de fenóis de 724mg/g por equivalentes de ácido gálico e um poder antirradicalar de 63%, enquanto o extracto em acetona/água um valor de 526mg/g por equivalentes de ácido gálico, mas um poder antirradicalar superior, de 87%. Este maior valor de ARP para o extrato em acetona/água, pode ser explicado pela sua previsivelmente maior quantidade em polifenóis, como será de esperar, em comparação com o extrato em metanol, sugerindo que os compostos com elevada atividade antioxidante encontram-se principalmente nesta última fração relatada. Estes resultados confirmam a elevada capacidade antioxidante na polpa do fruto de baobá, como o relatado utilizando Trolox para aferir a capacidade antioxidante solúvel em água da polpa⁷, o que indica

a presença de grandes quantidades de substâncias, que atuam como sacadores ou por meios de redução de radicais livres e de inibição da peroxidação lipídica, o que contribui para a prevenção ou redução do desenvolvimento de patologias associadas ao stress oxidativo, sendo este um dos fatores para o uso deste fruto tropical africano nas inúmeras aplicações medicinais. (CASTRO, 2008).

A pitangueira, muito conhecida no Brasil, cujas folhas são popularmente utilizadas em chás, possui função terapêutica no combate à diarreia não infecciosa, graças a compostos fenólicos existentes em sua estrutura, como os taninos, que estão relacionados com o poder antiinflamatório e antibacteriano das folhas desta árvore (VIANA, SANTANA e MOURA, 2012).

Nas uvas de espécies *Cabernet Sauvignon*, *Tannat*, *Nebbiolo*, *Baga*, *Petit Verdot*, *Sangiovese Grosso*, encontramos os taninos condensados que proporcionam ao vinho um sabor levemente amargo, muito desejado para alguns tipos de vinhos tinto. Estão presentes nas sementes, polpa e casca, sendo que neste caso, quanto mais grossa a casca maior a quantidade de taninos condensados. Os taninos hidrolizáveis também fazem parte da produção de vinhos, sendo extraídos em outras fases da produção, como quando os vinhos são estocados em barris de carvalho e extraem desta madeira os taninos hidrolizáveis (MIWA, 2009).

Benevides *et al* (2013), avaliaram a concentração de teores de taninos no jiló (*Solanum gilo*) e no maxixe (*Cucumis anguria L.*) (figura 14), planta também conhecida como pepino indiano. A determinação de teores se deu através da análise de planta in natura e em conserva durante um período de seis meses. E, conforme a tabela 3, após este período foi constatado que o jiló reduziu sua concentração de taninos de 11,6% e o maxixe para 6,4%.

Figura 14 – Jiló (A) e Maxixe (B)

TABELA 3 – Avaliação da concentração de teores de taninos por um período de seis meses em plantas *in natura* e em conserva.

PRODUTO	IN NATURA	TO	T1	T2	T3	T4
Jiló	3,46+/-0,04	3,06+/-0,01	2,16+/-0,02	0,44+/-0,04	0,43+/-0,03	0,34+/-0,02
Maxixe	1,56+/-0,00	1,49+/-0,03	1,72+/-0,15	0,25+/-0,06	0,26+/-0,04	0,13+/-0,01

FONTE: BENEVIDES et al., 2013

Nunes et. al., (2013) analisaram a graviola (*Annona muricata L.*) (Figura 15), uma fruta originária das Antilhas e utilizada pela população como tratamento terapêutico contra doenças causadas pelo aumento do nível de estresse oxidativo. Os autores afirmam que esta propriedade antioxidante é caracterizada pela presença de taninos condensados, que segundo suas análises, demonstraram um percentual 0,34% de teor, valores que estão dentro dos parâmetros da literatura científica encontrada quando comparados por exemplo, aos valores encontrados por Castro et. al., (1984) que quantificaram os teores de taninos em 0,25% para frutos verdes e 0,22% para frutos maduros.

FIGURA – 15 – Graviola (*Annona muricata L.*).

Os taninos também estão presentes nas leguminosas, principalmente no feijão onde, pesquisas como *Mechi, Caniatti-Brazaca e Arthur (2005)*, *Delfino et al (2005)* e *Silva e Silva (2000)*, tem comprovado a existência de taninos em diferentes proporções e em diversas variedades desta leguminosa.

Mechi, Caniatti-Brazaca e Arthur (2005), analisaram o processo de irradiação no feijão preto (*Phaseolus Vulgaris L.*) como forma de combater perdas por pragas e ao mesmo tempo, discutiram o impacto do processo de irradiação e cocção dos grãos em relação ao teor de taninos. A matéria prima analisada foram grãos crus e cozidos de feijão preto, variedade Diamante Negro, sem e com irradiação, nas doses de 2, 4, 6, 8 e 10kGy. O processo utilizado para a análise de taninos nos grãos foram os mesmos descritos na metodologia de *Price et al (1980)*.

Segundo *Mechi, Caniatti-Brazaca e Arthur (2005)*, não se observa nenhuma relação entre a intensidade de radiação emitida e o teor de tanino encontrado nos grãos. Conforme a tabela 4, o maior teor de taninos foi na dose de 8 kGy e a menor na dose de 2 kGy.

TABELA 4 – Teor de Taninos e Fitatos na matéria seca em feijão preto irradiado nas dose 2,4,6,8 e 10kGy.

Doses	Cru		Cozido
kGy	Taninos	Fitato	Fitato
0	0,93 +/- ^{bc}	8,02 ¹ +/- 0,0 ^{a2B3}	9,64 +/- 0,2 ^{bA}
2	0,62 +/- 0,1 ^d	7,20 +/- 0,2 ^{bB}	8,78 +/- 0,3 ^{cA}
4	0,91 +/- 0,1 ^{bc}	6,22 +/- 0,3 ^{cB}	9,36 +/- 0,2 ^{bA}
6	0,80 +/- 0,1 ^{cd}	6,13 +/- 0,2 ^{cB}	9,64 +/- 0,2 ^{bA}
8	1,43 +/- 0,1 ^a	5,04 +/- 0,0 ^{dB}	10,27 +/- 0,1 ^{Aa}
10	1,12 +/- 0,0 ^b	6,38 +/- 0,0 ^{Cb}	7,78 +/- 0,0 ^{dA}

¹Média +/- desvio padrão; ²Letras minúsculas diferentes na vertical indicam diferença significativa entre os tratamentos a nível de 5%; ³ Letras maiúsculas diferentes na horizontal indicam diferença significativa a nível de 5%. FONTE: MECHI,CANIATTI-BRAZACA,ARTHUR (2005).

No entanto, ainda conforme Mechi, Caniatti-Brazaca e Arthur (2005), após os grãos de feijão passarem pelo processo de cocção, houve significativa mudança no teor de taninos, em comparação com os grãos cru, sendo observados os resultados da tabela 5. Os autores, então concluíram que o processo de irradiação em grãos de feijão cru não influenciou no teor de taninos mesmo quando as doses foram aumentadas. Já no processo de cocção, houve considerável diminuição e o teor de taninos ficou abaixo do nível de detecção.

TABELA 5 - Teor de Taninos após a cocção dos grãos de feijão.

Valor Irradiado em em KGy	Resultado em %mEq
1	0,15
2,5	0,15
5	0,13
10	0,1

FONTE: MECHI,CANIATTI-BRAZACA,ARTHUR (2005).

Segundo Delfino *et al.*, (2005), o processo doméstico de maceração e cocção do feijão comum, com descarte da água da maceração não absorvida, resulta em redução de até 85% nos fatores antinutricionais, entre eles os taninos. Isso porquê os taninos podem ser

extraídos através de sua dissolução na água da maceração, como pode ser observado na tabela 6. Segundo os autores, a quantidade de taninos diminui com o passar dos meses de armazenamento devido à oxidação e à menor solubilidade, decorrentes de seu maior grau de polimerização.

TABELA 6: Teor de Taninos %mEq de catequina (matéria seca) em feijão cru e cozido, em diferentes tempos de armazenamento.

	Recém-colhido	Armazenado 3 meses	Armazenado 6 meses
Cru	1,13 ¹ +/- 0,00 ^{a2A3}	1,10 +/- 0,00 ^{aA}	0,90 +/- 0,00 ^{bA}
Cozido	0,74 +/- 0,00 ^{aB}	0,62 +/- 0,00 ^{bB}	0,23 +/- 0,00 ^{cB}

¹ Média de três repetições +/- desvio padrão; ² Médias com letras maiúscula(s) diferente(s) na vertical diferem significativamente (p<0,005); ³ Médias com letras minúscula(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente (p<0,05). FONTE: DELFINO *et al.*, (2010).

Bonett *et al.*, (2007) afirmam que com o aumento de temperatura durante o cozimento, os polifenóis presentes nos grãos de feijões, podem ligar-se com algumas proteínas e serem eliminados na água do cozimento, permanecer livres ou sofrer polimerização. O fato é que os polifenóis livres podem tanto influenciar na digestão das proteínas, por inibição da atividade enzimática como podem reagir com as proteínas penetrando no cotilédone, tornando-as menos suscetíveis à hidrólise enzimáticas. O efeito dos polifenóis da digestibilidade das proteínas das leguminosas é relativamente pequeno, entretanto, algumas pesquisas e trabalhos epidemiológicos indicam uma relação entre câncer esofágico e ingestão de taninos, conforme já relatado.

2.3.6 – TANINOS NAS PLANTAS DO CERRADO

O cerrado brasileiro é o segundo maior bioma da América do sul, perdendo apenas para a floresta amazônica, com uma área de mais de 2.000.000 Km². Faz parte dos territórios de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal, além dos enclaves no Amapá, Roraima e Amazonas. Além de ser uma região com uma grande incidência de raios

solares, este bioma sofre também com períodos longos de seca, geralmente de Abril a Setembro seguidos de período chuvoso. Além do mais, o solo é pobre em nutrientes e as vezes contaminado. Tudo isso, propiciou a evolução de plantas de baixo porte, com troncos retorcidos e cascas grossas, obrigando a planta a buscar resistência e defesa em sua própria estrutura química (SILVA, 2008).

Nota-se flutuações na produção de metabólitos secundários à medida que há variações nos ciclos climáticos e circadianos. E justamente por essas circunstâncias, que as plantas do cerrado possuem um magnífico conjunto de substâncias químicas que dificilmente sejam encontrados em outros lugares (SILVA, 2008).

Uma das principais características do cerrado brasileiro é possuir um solo pobre em nutrientes e contaminado com metais principalmente de alumínio. Além de a região sofrer com um alto nível de incidência dos raios solares e radiação UV, fazendo com as plantas realizem altas taxas de fotossíntese, provocando um excesso de Carbonos e Nitrogênios em sua estrutura. Muitas plantas, visando sua própria defesa contra os raios UV, realocam o excesso de carbonos para a formação de compostos polifenólicos, por exemplo, produzindo compostos flavonóides que protegem a planta contra a radiação solar. Ao mesmo tempo, estes compostos fenólicos, presentes ao longo da epiderme ou em tricomas glandulares, atuam também na defesa da planta contra o ataque de predadores (RIBEIRO e FERNANDES, 2000)

O cerrado goiano possui uma enorme variedade de plantas, sendo rico em espécies frutíferas que são amplamente consumidas pela população local. Além do mais, muitas espécies do cerrado têm despertado interesse por parte das indústrias, pois possuem em suas cascas um grande teor de taninos, substâncias desejáveis comercialmente graças às propriedades tanantes que elas exercem sobre o colágeno da pele dos animais, durante sua transformação em couro pelas indústrias (ROCHA *et al*, 2011 e MENDES *et al*, 1997).

Sabendo disso, Mendes *et al*, 1997, estudaram várias espécies de árvores do cerrado e descobriram que dentre as espécies analisadas a *Piptadenia gonoacantha* (*Pau jacaré*), a *Anadenanthera macrocarpa* (*Angico Vermelho*) e a *Psidium guajava* (*Goiabeira*) foram as espécies com maior concentração de taninos em suas cascas, todas acima de 15% de teor e a espécie encontrada com menor teor foi o *Pau pereira* (*Platicyamus regnelli*) com concentração de 1,35%.

A medicina popular usa a casca da árvore Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), árvore característica do cerrado brasileiro, contra leucorréias e diarreias, tudo

devido à sua propriedade e atividade adstrigente que é consequência da presença de 20% de taninos totais em sua casca. A pitangueira, embora não seja uma árvore exclusiva da região centro-oeste, também é utilizada na medicina popular através da infusão das folhas, para conter diarreia, febre, hipertensão, controlar colesterol e o ácido úrico na urina entre outras, graças à grande presença de polifenóis como os elagitaninos (SANTOS e MELLO, 1999).

Rocha *et al.*, (2011) entendendo a importância do bioma do cerrado, constituído por plantas frutíferas que apresentam propriedades funcionais importantes, buscaram determinar e analisar a composição dos frutos do cerrado com relação ao teor de compostos fenólicos totais e taninos condensados, conforme tabela 7:

TABELA 7: Compostos Fenólicos em frutas do cerrado

FRUTA	ESPÉCIE	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS		TANINOS CONDENSADOS
		mg de AGE/100g de polpa	mg de ATE/100g de polpa	mg de CAE/100g de polpa
CAJU	<i>Anacardium occidentale</i>	159 +/- 3c	190 +/- 4b	112 +/- 1f
GUAPEVA	<i>Pouteria gardneriana</i>	198 +/- 7b	245 +/- 9b	183 +/- 5c
MAMA-CADELA	<i>Brosimum gaudichaudii</i>	177 +/- 4	215 +/- 5	56 +/- 2
CAGAITA	<i>Eugenia dysenterica</i>	90 +/- 4b	126 +/- 3a	7 +/- 0
CAMBUÇÁ	<i>Plinia edulis</i>	159 +/- 7	190 +/- 9	58 +/- 3
GABIROBA	<i>Campomanesia sp</i>	270 +/- 7a	345 +/- 10a	81 +/- 4c
JARACATIÁ	<i>Jaracatia spinosa</i>	203 +/- 11	254 +/- 4	79 +/- 4
PERA-DO-CERRADO	<i>Eugenia klotzchiana</i>	217 +/- 3a	271 +/- 4a	30 +/- 2b
PITANGA-DO-CERRADO	<i>Eugenia puniceifolia</i>	327 +/- 10	390 +/- 15	51 +/- 4

AGE=ácido gálico equivalente; ATE=ácido tânico equivalente; CAE=catequina equivalente. Para cada fruta, médias na mesma coluna seguidas de letras iguais são equivalentes, segundo teste de Tukey (P < 0,05). **FONTE:** Adaptado de ROCHA *et al.*, 2011.

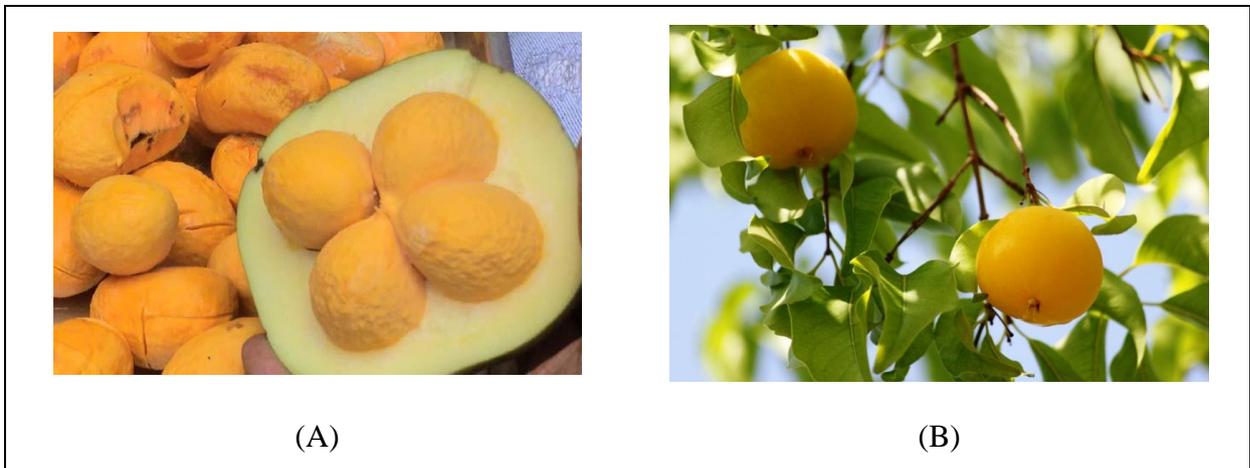
Para Rocha (2011), a análise dos teores de taninos nos frutos do cerrado apresentados na tabela 7, mostraram que são melhores fontes de compostos fenólicos (90 a 327 mg) se comparadas com outras frutas consumidas normalmente como maracujá, abacaxi e cupuaçu que possuem de 20,0 a 21,7 mg, goiaba que possui 83 mg de ou uva e açaí com 117,1 a 136,8mg. Para o caju-do-cerrado a relação entre compostos fenólicos totais e taninos

condensados variou entre 0,8 e 1,4 mostrando que há uma predominância dos compostos fenólicos na forma de taninos condensados o que foi confirmado por Bessa *et al.*, (2013).

O pequi (figura 16-A), fruto característico e exclusivo do cerrado, altamente consumido pela população local, possui uma casca com bom volume de massa e que envolve geralmente de 1 a 5 caroços de cor amarelo ou avermelhado, dependendo da região. De acordo com Barbosa (2013), por muito tempo inutilizou-se a casca deste fruto, no entanto em sua defesa a autora afirma que a casca, antes rejeitada, poderia ser aproveitada para a alimentação de ovinos. No entanto, conclui-se que devido o extrato da casca do pequi apresentar cerca de 38,4% de fenóis totais e 10,7 % de taninos, isto promove uma redução na digestibilidade de nutrientes e de nitrogênio pelos animais necessitando de maiores estudos nesta área.

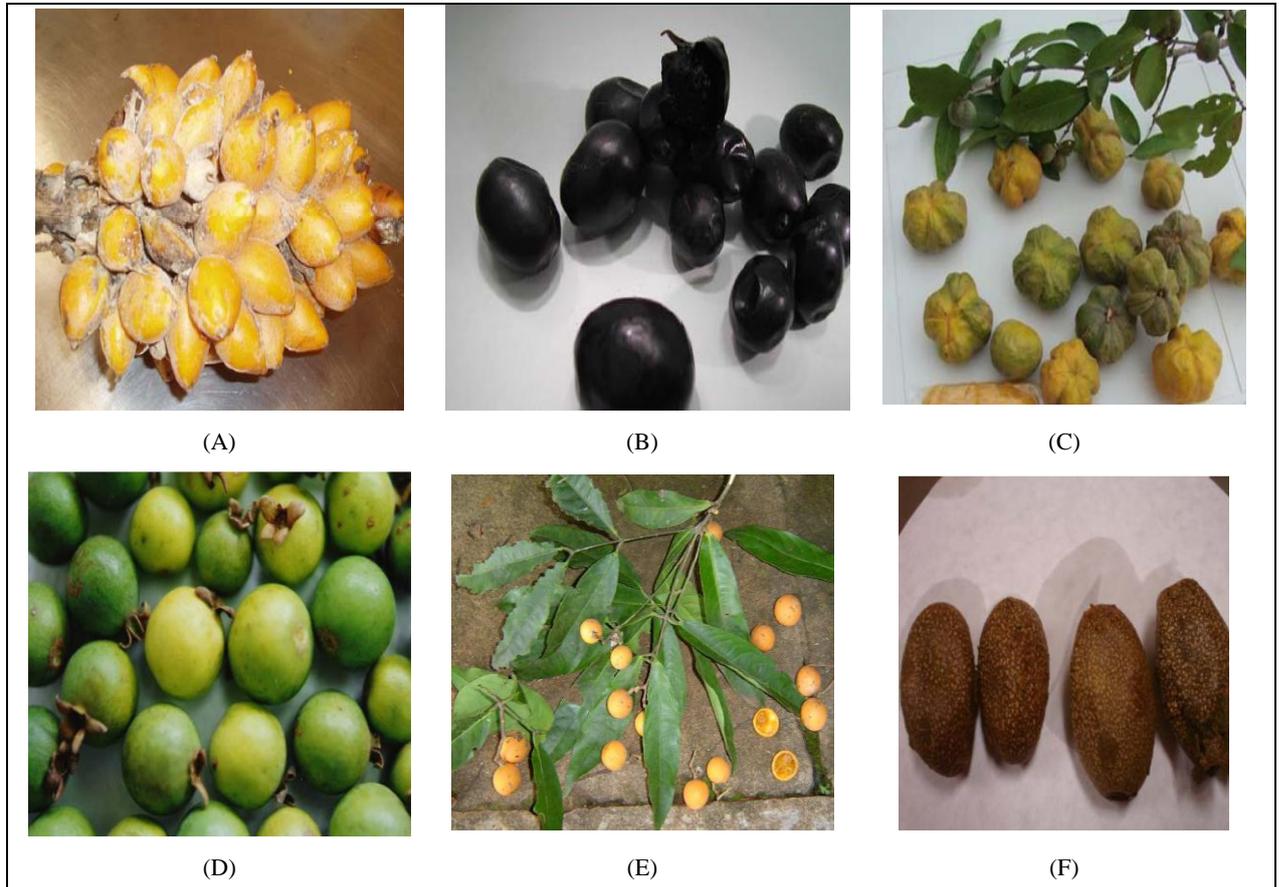
Os frutos da cagaita (figura 16-B) apresentaram os menores teores de 4 a 7 mg polpa, assim como a gabiroba que pertence à família *Myrtaceae* e que embora tenha apresentado elevado teor de compostos fenólicos totais, mostrou ter baixo teor de taninos condensados (ROCHA *et al.*, 2011).

FIGURA 16 – Pequi (A) e Cagaita (B)



O caraguatá, o tarumã, a laranjinha de pacu, o araçá, o saputá e o pateiro (figura 17), são frutos, que embora não exclusivos, estão presentes no cerrado sendo consumidos pela população local e utilizados na medicina popular (SILVA, 2010).

FIGURA 17 – O Caraguatá (A), o Tarumã (B), a Laranjinha de Pacu (C), o Araçá (D), o Saputá (E) e o Pateiro (F)



Silva (2010) analisou a composição química destes frutos e conforme palavras dos autor:

Comparando os resultados de taninos obtidos pela amostras analisadas, em que as amostras com os menores valores de taninos foram as sementes do saputá e o caraguatá e a polpa do tarumã (257,74, 06,73 e 317,07mg de ácido quercitânico.100g⁻¹ de amostra integral, respectivamente), enquanto que os valores mais elevados foram apresentados pela polpa e semente do pateiro (2534,64 e 2954,56mg de ácido quercitânico.100g⁻¹ de amostra integral, respectivamente), com outros resultados reportados na literatura, tais como os resultados obtidos por Câmara e Madruga (2001) que determinaram o teor de taninos na multimistura e em pó de folhas de cassava e encontraram 277,62mg/100g e 996,25mg/100g, respectivamente. Agostini-Costa *et al* (1999) relataram ter encontrado 416mg/100g de tanino em suco de caju integral e 251mg/100g em suco de caju clarificado. Por sua vez, Jacobson *et al.* (2005) detectaram 1,65mg/g de taninos em *S. adstringens* e

1,77mg/g em *S. polyphyllum*. No café, Barcelos *et al.* (2001) encontraram 2,77% de taninos. (SILVA, 2010)

Com exceção do pateiro, a casca foi a parte dos frutos em que mais se encontrou taninos. No caso do Pateiro, a porcentagem de taninos na polpa foi maior (SILVA, 2010)

Para Rocha (2013), a análise do jatobá (Figura 18) mostrou ser um fruto com alto teor de compostos flavonóides, entre eles os taninos, com um resultado de 19,64 mg/100g. Este resultado mostra que os taninos podem ter efeito na cor e sabor dos frutos e interferir no potencial nutricional destas frutas.

FIGURA 18 – Jatobá



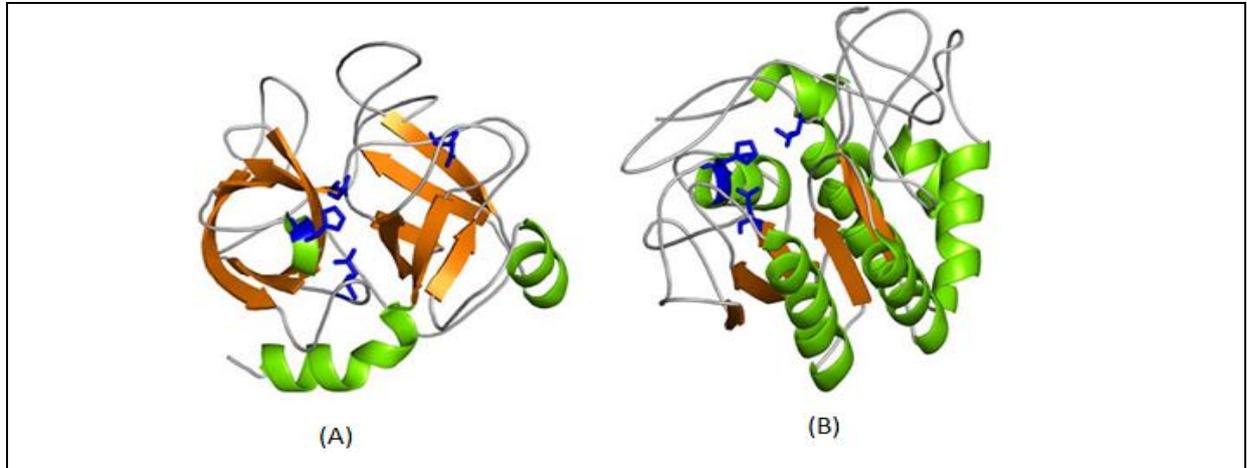
2.4 – CAPITULO 02

2.4.1 - PROTEASE / PEPTIDASE

O termo protease é sinônimo de peptidase, que compreendem dois tipos de enzimas: as endopeptidases e as exopeptidases. As proteases são substâncias que são formadas a partir da quebra de uma enzima peptídica pela adição de uma molécula de água e exercem um importante papel em todos os seres vivos catalisando as proteínas, formando tecidos, liberando hormônios e transportando proteínas através das membranas, além de atuarem na regulação do metabolismo celular, entre outras atividades vitais para o desenvolvimento e manutenção da vida. A União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular tem reconhecido e classificado em quatro classes de acordo com seu mecanismo catalisador: proteases aspárticas, proteases cisteínicas, metaloproteases e serino proteases (TREMACOLDI., 2009; RIBEIRO, 2009)

A classe das serino proteases foi dividida em duas: família da quimotripsina, que incluem as enzimas de mamíferos (tripsina, elastase, etc.) que são produzidas pelo aparelho digestivo dos animais (mamíferos e insetos), e a família da subtilisina, que fazem parte as enzimas de bactérias. A figura 19, mostra diferentes estruturas para as duas famílias, mas quanto ao seu sítio ativo são iguais e justamente por isso o processo de catálise é o mesmo (RIBEIRO, 2009)

FIGURA 19: Arranjo característico das serino proteases. Os resíduos da tríade catalítica Asp102-Ser195-His57 estão representados pela cor azul. Tripsina (A) PDB1FY8 e a subtilisina (B) PDB 1S01. Note que as estruturas são diferentes: quimotripsinas (A) possuem maior quantidade de folhas- β s, enquanto as subtilisinas maior quantidade de α -hélices. Na tripsina (A) mostramos também representado em azul o Asp189 (mais a direita) que confere a especificidade.



FONTE: RIBEIRO, (2009)

Devido ao grande número de processos fisiológicos em que as proteases estão envolvidas, foi necessário dividi-las em duas áreas: A primeira chamada de Proteólise limitada, que são aquelas onde uma única protease cliva um número limitado de ligações peptídicas de uma determinada proteína, inativando-a; e a segunda, chamada de Proteólise ilimitada, onde as proteínas são degradadas em seus aminoácidos constituintes (RIBEIRO, 2009)

Tremacoldi (2009) afirma que as enzimas proteolíticas produzidas no intestino de insetos-pragas ou microorganismo patogênicos são capazes de romper as proteínas da parede celular das plantas, através da hidrólise, o que facilita a infecção e a transmissão de doenças. Neste contexto, como as plantas não possuem meios mecânicos para se defender, os inibidores entram em ação atuando como mecanismo de defesa das plantas contra tais agentes patogênicos.

2.4.2 – MECANISMO DE INIBIÇÃO

O mecanismo de inibição faz com que os inibidores sejam classificados em duas grandes categorias: irreversíveis e reversíveis. De um modo geral, essa divisão se dá de

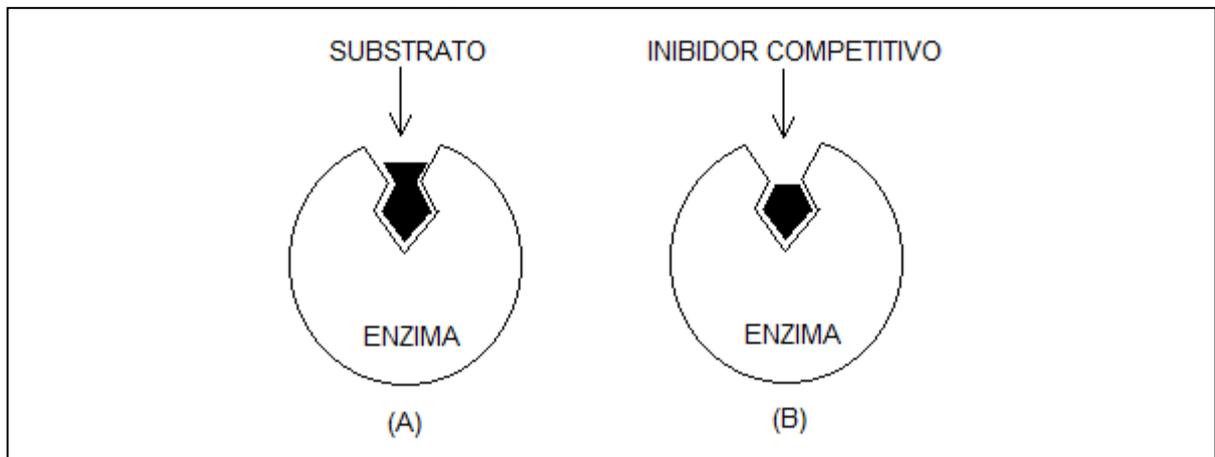
acordo com estabilidade de ligação da molécula com a enzima (MARZZOCO e TORRES, 2007; BERG, TYMOCZKO, STRYER, 1958)

Os inibidores irreversíveis se ligam à enzima e permanece assim ligados por muito tempo por ligação covalente, ou se dissocia muito lentamente, levando a uma inativação praticamente definitiva. Muitos medicamentos importantes são produzidos com base neste princípio, como por exemplo, a aspirina e a penicilina. A penicilina inibe a enzima transpeptidase e impede a síntese de paredes celulares, se a parede celular não existe a pressão osmótica causa a destruição e morte da bactéria. A Aspirina por sua vez reduz a síntese de moléculas sinalizadoras que participam da inflamação, quando se liga covalentemente ao substrato da enzima ciclooxygenase das bactérias. Esse também é o tipo de mecanismo de inibição usado por substâncias tóxicas, como mercúrio e chumbo- que reagem com um grupo sulfidril (-SH) de uma enzima e modifica sua conformação - e os compostos orgânicos de fósforos, que inibem de maneira irreversível a colinesterase, uma enzima que rompe a acetilcolina no espaço sináptico das células nervosas no cérebro. Uma vez quando um neurotransmissor é bloqueado, os sítios receptores do cérebro entram em colapso, os músculos são superestimulados, o coração dispara e convulsões ocorrem e a pode levar o organismo à morte (MARZZOCO e TORRES, 2007; BERG, TYMOCZKO e STRYER, 1958; SACKHEIM e LEHMAN, 1998).

A inibição reversível é obviamente, o mecanismo oposto ao irreversível. Em outras palavras, o inibidor sofre uma rápida dissociação do complexo enzima-inibidor. Este tipo de inibição pode ser classificada em: competitiva e não competitiva. No tipo de inibição competitiva, os inibidores competem com o substrato pelo centro ativo da enzima, com isso a enzima pode se ligar tanto ao substrato como ao inibidor, mas não aos dois no mesmo tempo. No entanto, o inibidor freqüentemente se assemelha ao substrato e se liga ao centro ativo da enzima (FIGURA 20), impedindo assim que o substrato se ligue ao mesmo centro ativo. Como as enzimas atuam como catalizadoras, ao terem seu sítio ativo ligado ao inibidor e não ao substrato, a velocidade catalítica então é reduzida na reação. Este tipo de inibição pode ser anulada aumentando o número de concentração do substrato. Na inibição não competitiva, (FIGURA 21) o inibidor e o substrato podem se ligar simultaneamente a uma enzima, no entanto enquanto o substrato se liga ao centro ativo da enzima o inibidor se ligará a radicais que não pertencem ao centro ativo, como por exemplo a cadeia lateral de um aminoácido – um grupo OH de serina ou SH de cisteína. Esta ligação altera a estrutura da enzima que

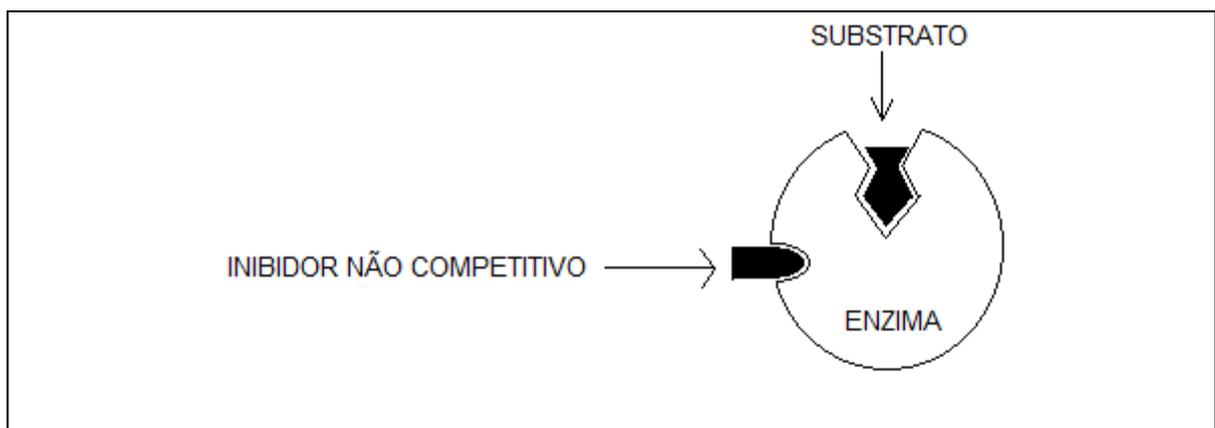
impede a atividade catalítica (MARZZOCO e TORRES, 2007; BERG, TYMOCZKO, STRYER, 1958)

FIGURA 20 – Modelo de inibidores competitivos – (A) Substrato e enzima (B) inibidor e Enzima.



FONTE: Adaptação: BERG, TYMOCZKO, STRYER (1958)

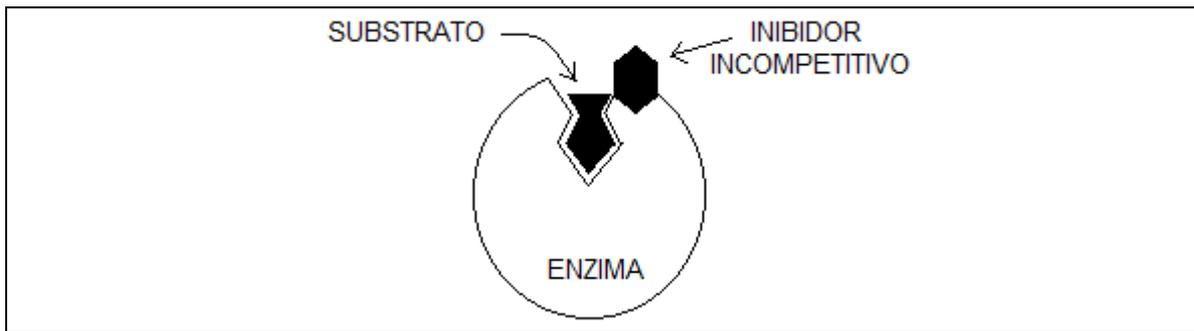
FIGURA 21 – Modelo de Inibidor Não-competitivo.



FONTE: Adaptação: BERG, TYMOCZKO, STRYER (1958)

Há ainda uma terceira classificação entre os inibidores reversíveis citada por Berg, Tymoczko e Stryer (1958), são os inibidores incompetíveis; que segundo os autores, ocorre quando o inibidor só se liga ao complexo enzima-substrato, no ponto onde, provavelmente, se liga a enzima e o substrato conforme figura 22, neste caso assim como a inibição não competitiva, o inibidor altera a estrutura do complexo, inativando-o.

FIGURA 22 – Modelo de Inibição incompetitiva.



Adaptação: (BERG, TYMOCZKO, STRYER, 1958)

Uma classe que está intimamente ligada à defesa das plantas é a dos inibidores de proteases. Presentes em baixas concentrações nas folhas das plantas, estas substâncias podem aumentar sua concentração rapidamente diante de um ataque herbívoro. Sinais específicos são gerados pelas partes danificadas da planta, e transportados via floema, estimulando o aumento de inibidores de proteases em toda a estrutura vegetal. (JOSÉ, 2002)

Uma vez ingeridos, quando se observa a estrutura dos complexos enzima-inibidor, percebe-se que os inibidores não são clivados em toda a sua estrutura como a maioria das proteínas, pelo contrário, apenas a ligação peptídica, no *loop* reativo é proteoliticamente atacada, resultando em um complexo onde apenas o *loop* reativo do inibidor está ligado ao sítio ativo da enzima numa formação de “substrato perfeito”. Mas porque isto acontece se o esperado era que fossem clivados em vários outros sítios reativos? A resposta pode estar na combinação de fatores estruturais e termodinâmicos dos inibidores – como flexibilidade, exposição e interações locais. Sítios de clivagem são encontrados em regiões expostas, protuberantes e flexíveis, nunca em hélices e estruturas betas; isso ocorre porque a clivagem exige um desenovelamento local e uma adaptação ao sítio ativo. Estudos indicaram que os inibidores possuem um grande *loop* ao redor do resíduo P1. É claro que outros diferentes resíduos do inibidor entram em contato com a enzima durante o mecanismo de complexação, mas não são de grande expressão quanto aquela realizada pelo *loop* reativo do inibidor (RIBEIRO, 2009).

Para que haja a formação do intermediário acil-enzima, é necessário um acoplamento perfeito e um posicionamento adequado do sítio ativo da enzima proteolítica e o “*loop*” reativo do inibidor. Por exemplo, a posição P1 do inibidor é que define sua especificidade, e nela deve ter a presença de uma Arg ou Lys para que se faça a interação

iônica com a Asp189 do sítio ativo da tripsina. Duas ações são necessárias para um ataque nucleofílico perfeito. A primeira é a geometria do grupo carbonila na posição P1 e a segunda é a posição e orientação do novo N-terminal do inibidor clivado. Além de que, o ataque só será efetivo graças a uma extensa rede de interações intra e intermoleculares entre inibidor e enzima (RIBEIRO, 2009).

Para explicar o mecanismo de inibição, Ribeiro (2009) afirma que foram necessários muitos estudos de hidrólise, usando inibidores e proteases. Os resultados encontrados são explicados a seguir:

Medindo-se a liberação de íons de hidrogênio durante a combinação de STI e tripsina, foi observado que uma grande e rápida liberação de prótons é seguida por um pequeno e lento consumo de prótons. A explicação apresentada por Finkenstadt e Laskowski (1965) foi que o complexo enzima/inibidor poderia dissociar tanto para enzima e inibidor originais quanto para enzima e inibidor modificado. No STI modificado, chamado STI*, a ligação peptídica do sítio ativo Arg63-Ile64(P1-P1') é especificamente hidrolisada. Os dois fragmentos resultantes são mantidos unidos pelas pontes dissulfeto e por uma ampla rede interna de pontes de hidrogênio que se mantém intacta mesmo após a clivagem do inibidor (RIBEIRO, 2009)

Um mecanismo geral foi criado para ilustrar a reação de complexação e dissociação seguindo pelos inibidores canônicos. Onde E representa a enzima, I o inibidor, EI enzima e inibidor, C o complexo, EI* a Enzima mais o inibidor modificado e I* o inibidor modificado (RIBEIRO, 2009).



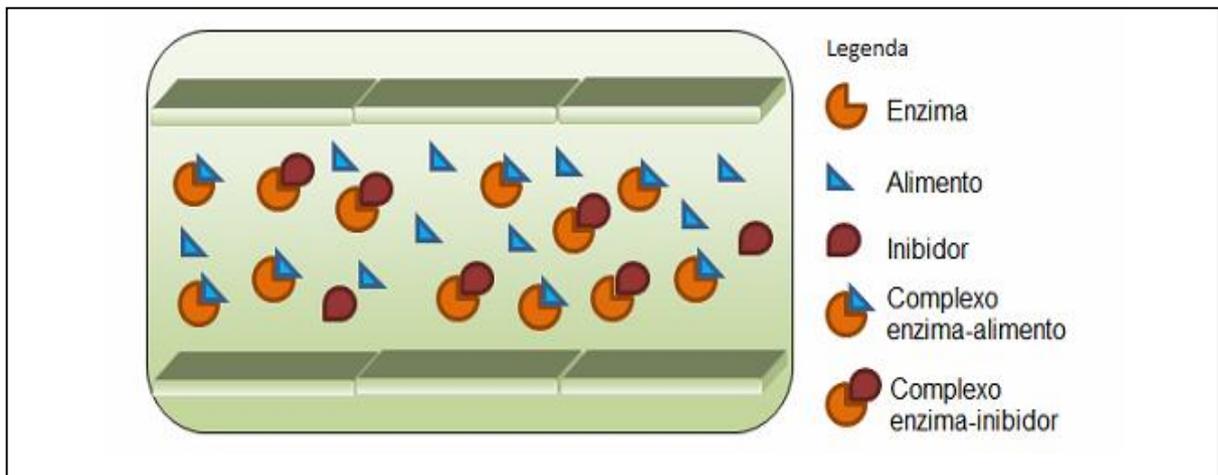
Também, segundo Pereira (2008), grande parte dos inibidores de proteases, possui seu mecanismo de ação com suas enzimas cognatas, por meio de um mecanismo semelhante ao que ocorre na ligação enzima-substrato. Esse grupo de inibidores compreende proteínas pequenas, com 29 a 190 resíduos de aminoácidos e todas elas possuem alça ligante exposta. Embora a formação do complexo enzima-inibidor ocorra rapidamente, a sua dissociação é lenta. As cadeias de inibidor e a proteína se complexam graças as interações das ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals.

2.4.3 – AÇÃO FISIOLÓGICA DOS INIBIDORES DE PROTEASES

As plantas utilizam os inibidores de proteases como forma de defesa, ou seja, atuam combatendo pragas, principalmente insetos, pois ao serem ingeridos, os inibidores irão se complexar com as proteases cognatas e estas serão inativadas, impedindo que haja a catálise enzimática como mostra a Figura 23, comprometendo o sistema digestivo (OLIVEIRA e MACEDO, 2011).

Nos mamíferos jovens, quando alimentados com leguminosas cruas, podem ocorrer problemas com o crescimento, devido à perda fecal excessiva, de proteínas secretadas pelo pâncreas, uma vez que as enzimas pancreáticas são ricas em aminoácidos sulfurados e esta perda não pode ser compensada pela ingestão de proteínas de leguminosas (SILVA e SILVA 2000).

FIGURA 23 – Representação do processo digestório na presença de inibidores de protease. O esquema mostra que uma parcela das enzimas é temporariamente inativada pela formação do complexo enzima-inibidor, diminuindo a eficiência do processo digestório.



FONTE: OLIVEIRA e MACEDO, 2011

Alguns estudos mostraram que a ingestão de inibidores de proteínas causam uma significativa elevação dos níveis de tripsina no estômago dos insetos o que leva o inseto à morte devido a problemas no aparelho digestivo (RIBEIRO, 2009).

Já nos humanos, estudos revelam que os níveis de tripsina e quimotripsina livres no intestino delgado determinam a quantidade de secreção pancreática, isto é, quando os níveis destas substâncias ficam baixos, o pâncreas através da colecistoquinina, é induzido a liberar mais enzimas. Quando um inibidor de proteínas bloqueia a ação da tripsina, isto faz com que haja um aumento excessivo da concentração plasmática de colecistoquinina, que por sua vez induz o pâncreas a liberar continuamente mais enzimas, provocando hipertrofia pancreática (SILVA e SILVA, 2000).

Se ingeridos em quantidades pequenas, os inibidores de protease podem apresentar efeitos anticarcinogênicos, provavelmente devido à sua interação com a serina celular protease. Isto ocorre porque envolveria o bloqueio da criação de formas de oxigênio ativo por neutrófilos estimulados, inibindo assim o crescimento do tumor (PENHA *et al* 2007).

Tem se estudado a ação de inibidores de α – amilase no organismo humano como forma de impedir que o corpo absorva grandes quantidades de carboidratos. Isso aconteceria da seguinte maneira: A digestão de alimentos ricos em carboidratos começa na boca, através da mastigação e ação de uma enzima chamada ASH e continua no intestino com a ação da APH. Esta última, é a responsável em transformar o carboidrato ingerido em glicose, maltose e maltotriose. Caso haja um bloqueio desta enzima, conseqüentemente haverá uma menor absorção de açúcar pelo organismo e pode-se evitar picos hiperglicêmicos prevenindo a diabetes (SILVA, 2008).

2.4.4 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS INIBIDORES DE PROTEASES

Os primeiros cientistas a se interessar por estas moléculas foram Kunitz e Nortrop, que em 1936, extraíram do pâncreas bovino um inibidor chamado de “inibidor de tripsina bovina”, que chamaram de BPTI - *Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor*. Mais tarde em 1945, isolaram também outro inibidor, desta vez de um vegetal, mais especificamente da soja, mas que também inibia a ação da tripsina e que serviu como um dos primeiros modelos para os estudos da bioquímica de inibidores de proteases. Chamaram-na de STI - *Soybean*

Trypsin inhibitor (KUNITZ e NORTHROP, 1936 apud RIBEIRO, 2009; TREMACOLDI, 2009).

O problema foi que Kunitz e Northrop não conseguiram responder todas as perguntas que surgiram no desenrolar de suas pesquisas, principalmente como era o mecanismo de complexação de inibidor e proteína. Esta sensação de não encontrar respostas foi piorando com o passar dos anos, pois quanto mais os cientistas tentavam explicar como a tripsina se ligava aos seus inibidores, mais complexos ficavam os resultados (RIBEIRO, 2009).

Somente com o advento da tecnologia de seqüenciamento genético e cristalografia de proteínas foi possível alcançar resultados satisfatórios. E algumas respostas só foram encontradas após a determinação de estruturas tridimensionais dos complexos tripsina-inibidor (LASKOWSKI e QASIM., 2000).

No organismo humano, dois grupos de proteínas são chamados de inibidores: as macroglobulinas, que são proteínas pesadas presentes no sangue humano que não seguem um padrão de inibição e portanto não atuam de maneira específica, e o segundo grupo, que são os inibidores que possuem mecanismos específicos de atuação de acordo com seu sítio ativo (RIBEIRO, 2009)

A questão é que tais inibidores de proteases específicos além de serem produzidos pelo organismo podem ser ingeridos através da alimentação, aumentando sua concentração no corpo, causando o que chamamos de efeito antinutricional.

Os inibidores de proteases podem ser encontrados em uma ampla variedade de vegetais e existem sob diferentes formas sendo agrupados de acordo com o mecanismo de reação de cada inibidor. Qualquer composto que atue diminuindo a ação de um dado substrato pode ser considerado um inibidor, contudo proteínas que são capazes de formar complexos com enzimas proteolíticas e anular sua reação, são consideradas um inibidores de proteases. Estes inibidores são capazes de inibir algumas enzimas envolvidas na cascata de coagulação ou outras serino-proteinases de importância fisiológica, além de reduzir a absorção e retenção de nitrogênio no organismo. As plantas que produzem os inibidores e os estocam nas sementes e nos tubérculos; os utilizam como meio de defesa, não afetando sua própria estrutura, inibindo apenas proteínas invasoras (SILVA e SILVA, 2000; TREMACOLDI, 2009; STANGARLIN, 2011; LIMA, 2009, CARVALHO e STECH, 1997).

Os inibidores são moléculas cuja massa molecular varia de 10kDa a 90kDa, e de acordo com o modo de ação podem ser divididos em dois grupos: primeiro os inibidores de sítio-específicos, que modificam de maneira irreversível um aminoácido do sítio ativo; e o segundo, aqueles que ocorrem naturalmente, que podem atuar como pseudo-substratos. Vale ressaltar que tanto os inibidores sintéticos quanto os naturais imitam o substrato, competindo com o mesmo na ligação com o sítio ativo das proteases (TREMACOLDI, 2009).

A tripsina é uma importante enzima produzida pelo pâncreas cuja função é digerir proteínas ingeridas. No entanto, os inibidores de tripsina que podem ser encontrados nas batatas, ovos e principalmente nas leguminosas como a soja, podem atuar impedindo que estas enzimas atuem sobre as proteínas, causando sérios problemas de digestão. Os principais inibidores tripsina estudados atualmente são os do tipo Kunitz e Bowman-birk, contudo existem outros grupos de inibidores de outras enzimas tais como: Batata I e II, Abóbora (ou Cucúrbita), Inibidores de Subtilisinas Streptomyces (SSI), Anistasinas, Chelonianina e Ascaris (OLIVA, 2010 e RIBEIRO, 2009) sendo classificadas de acordo com o sítio reativo que é específico para cada grupo, graças à composição de aminoácidos que é diferente e determinante para cada classe (OLIVEIRA e MACEDO, 2011; CARVALHO e STECH, 1997; e CRANCIANINOV *et al.* Doc 268).

2.4.5 - TIPO KUNITZ (STI e BPTI)

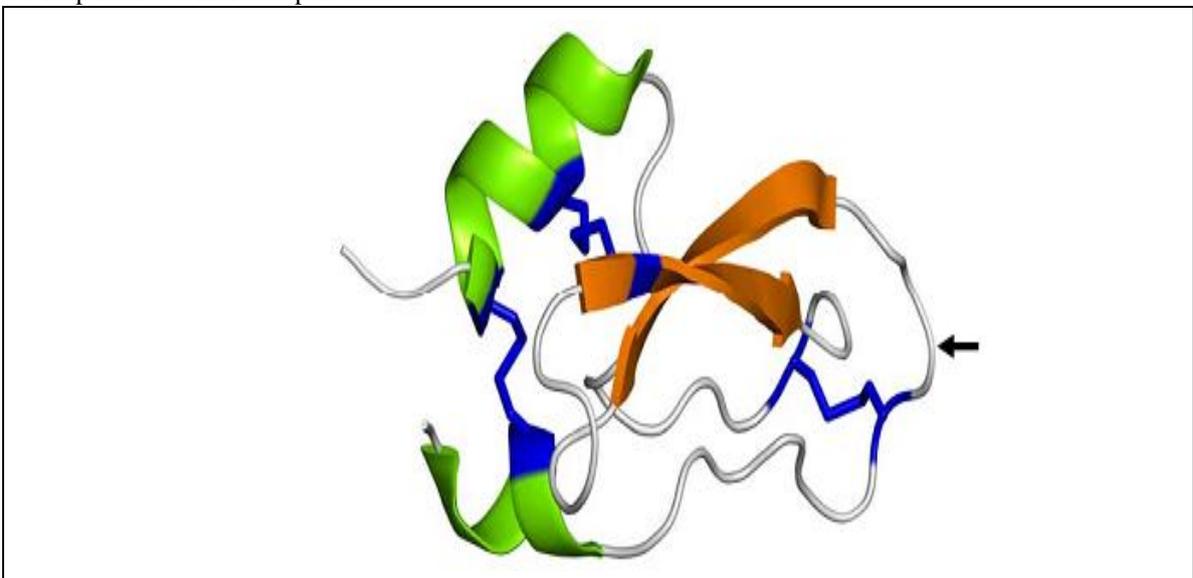
SILVA e SILVA (2000) afirmam que os inibidores de proteases são classificados em duas principais categorias: os de alto peso molecular, que apresentam duas pontes dissulfeto e possuem especificidade primária para tripsina como exemplo os inibidores tipo STI - Kunitz e o outro grupo representado pelo inibidores tipo BPTI Kunitz.

Os inibidores do tipo STI - Kunitz contêm massa molecular de 21 a 22 kDa, contendo de 170 a 200 resíduos de aminoácidos, e sendo formados por uma ou duas cadeias polipeptídicas e, em geral, apresentam quatro resíduos de cisteínas, que formam duas pontes dissulfeto. A análise da estrutura cristalina deste inibidor revelou ausência de alfa-helices, sendo formado principalmente por folhas-beta e estruturas desordenadas. Esta família de inibidores é uma das famílias mais importantes de inibidores de proteases. Ela compreende

proteínas de plantas com atividade inibitória sobre várias enzimas proteolíticas, como as serinoproteases, tripsina, quimiotripsina e subtilisina. São encontrados em todas as partes das plantas, mas principalmente nas sementes de três famílias de Leguminosas, são elas: *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* e *Papilionoideae* (LOPES, 2006; RIBEIRO, 2009).

Já os inibidores tipo BPTI Kunitz, possuem peso molecular em torno de 6kDa e são encontrados em bovinos, ratos, camundongos, peixes, cavalos, sapos, vermes e bicho-da-seda, além dos seres humanos. Desempenham diferentes funções na natureza desde inibição de proteases até poderosas neurotoxinas. Existem proteínas que possuem domínios BPTI Kunitz como as bikuninas, que são, inclusive, prescritas no Japão para tratamento de pancreatite aguda e choque hemorrágico. Sua estrutura tridimensional conforme figura 24, é composta por uma folha- β antiparalela central a qual é fechada em dos lados por uma volta- β formando um grampo- β e no outro lado por uma ponte dissulfeto. Possui uma grande resistência à desnaturação, cuja temperatura é de 95° C. Quando alcança esta temperatura as três pontes dissulfeto são quebradas e a proteína fica inativa (RIBEIRO, 2009).

FIGURA 24 – Estrutura tridimensional de BPTI extraída de Boi. As pontes dissulfeto são representadas em azul e o loop reativo é indicado pela seta.



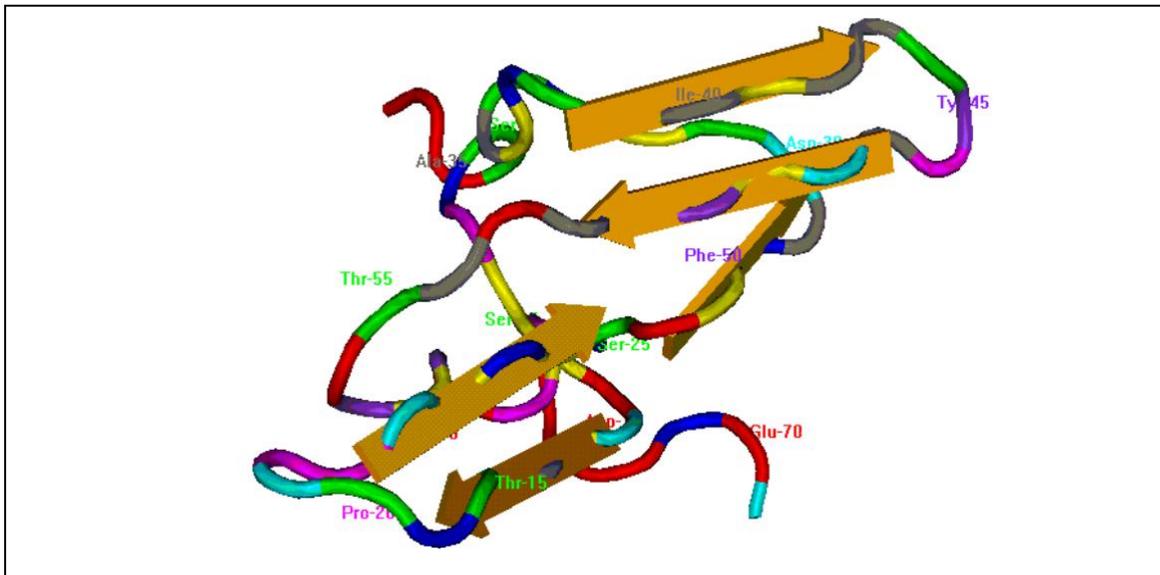
FONTE: RIBEIRO, (2009)

2.4.6 – INIBIDOR TIPO BOWMAN-BIRK (BBI)

Possuem peso molecular entre 6.000 e 10.000 Da, com alta proporção de ligações dissulfeto, 71 resíduos de aminoácidos e capacidade para inibir tripsina e quimotripsina em sítios de ligação independentes (SILVA e SILVA, 2000).

São encontrados nas famílias *Fabaceae*, *Poaceae* e *Solanaceae*. São proteínas de baixo peso molecular, variando de 6 a 9 kDa, sendo caracterizados pela presença de 14 cisteínas que formam sete pontes dissulfeto, as quais permitem a formação de uma estrutura assimétrica composta por dois domínios independentes, um capaz de inibir proteínas do tipo das tripsinas e o outro com atividade inibitória sobre as tripsinas, quimotripsinas ou elastases, localizados em extremos opostos da molécula (Figura 25) (JOSE, 2002; MACEDO *et al*, 2009; OLIVEIRA e MACEDO, 2011).

FIGURA 25 – Estrutura tridimensional do inibidor de proteína de soja do tipo Bowman-Birk



FONTE: JOSE (2002).

A família dos inibidores de Bowman-Birk pode ser encontrada em sementes de leguminosas, no abacaxi *Ananás sativus*, em germe de trigo *Triticum aestivum*, arroz *Oryza sativa*, sementes de *Coix lachryma jobo*, em semente de capim *Staria itálica* e cevada

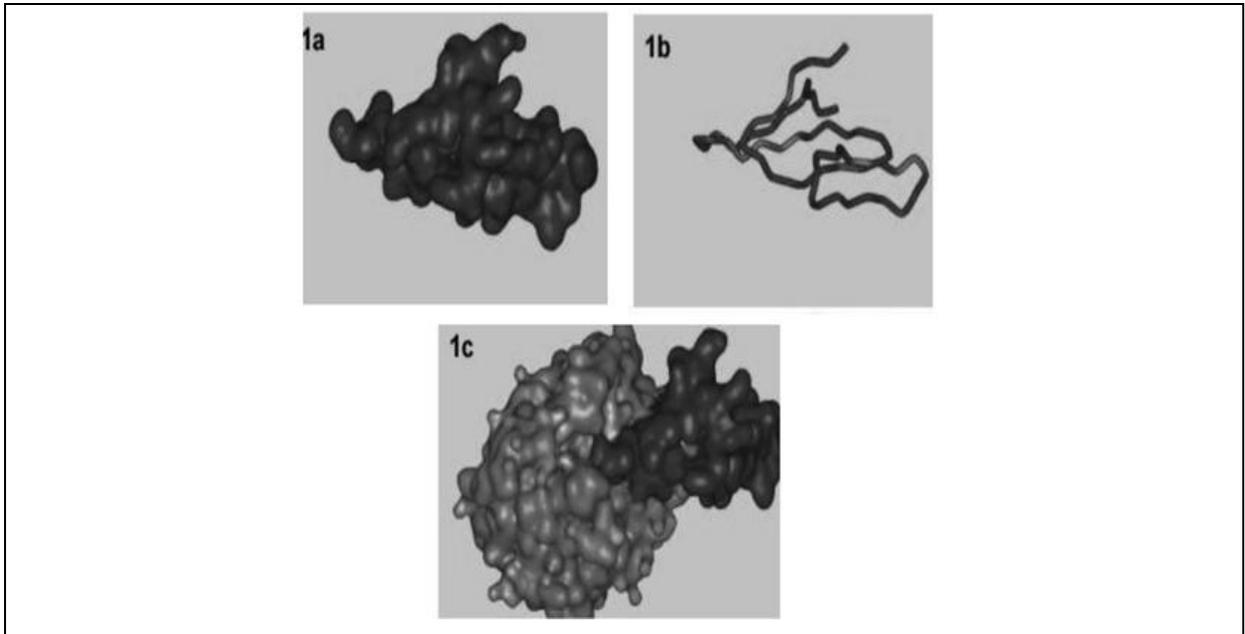
hordeum vulgare. Os primeiros inibidores do tipo Bowman-Birk (BBI) a serem identificados foram encontrados em sementes de soja, posteriormente foram achados em cana-de-açúcar, milho, e recentemente descobriu-se BBIs em sementes de girassol sendo este talvez, o mais potente BBI já encontrado na literatura devido à sua estrutura cíclica de 14 aminoácidos (JOSÉ, 2002 e RIBEIRO, 2009).

Conforme José (2002) explica, existem dois pontos importantes na estrutura dos BBIs:

O primeiro ponto é a conformação da alça de inibição que é complementar ao sítio ativo da enzima a ser inibida, o que permite uma ligação bastante forte entre enzima e inibidor. O outro é a rigidez estrutural ou conformação inflexível da alça de inibição atribuída à presença das pontes dissulfeto entre as cisteínas, à presença de pontes de hidrogênio, ao seu tamanho reduzido, à ocorrência de uma ou mais prolina na alça e, no caso da primeira alça de inibição, uma treonina β -ramificada na posição P2. Estudos da estrutura tridimensional dos BBI de amendoim (Susuki *et al.*, 1987), soja (Werner e Wemmer, 1992) e cevada (Song *et al.*, 1999) revelaram que nas três estruturas as pontes dissulfeto ocorrem entre os mesmos resíduos de cisteínas (C1-C14, C2-C6, C3-C13, C4-C5, C7-C9, C8-C12, C10-C11), o que faz destes resíduos posições muito conservadas durante a evolução (JOSÉ, 2002).

Todos os casos de inibição de proteases estudados mostraram que o sítio reativo do inibidor reage com o sítio ativo da enzima, de maneira semelhante. Esse contato se dá através de uma pequena porção da enzima e do inibidor, com um perfeito ajuste, por meio da formação de numerosas pontes de hidrogênio, ligações salinas e interações de Van der Waals. A constante de equilíbrio é geralmente alta entre 10^7 a 10^{13} M⁻¹. O método de ação de um inibidor de proteína baseia-se na inibição competitiva de uma proteína, via bloqueio de sua atividade proteolítica como mostrado na figura 26 (PEREIRA, 2008; OLIVEIRA e MACEDO, 2011).

FIGURA 26: Estrutura tridimensional do inibidor de Bowman Birk. Em (1a) é mostrada a área superficial do inibidor. Em (1b) é mostrado o esqueleto molecular que dá forma ao inibidor. Em (1c) interação entre inibidor (cinza escuro) e tripsina suína (cinza claro).



FONTE: PEREIRA (2008)

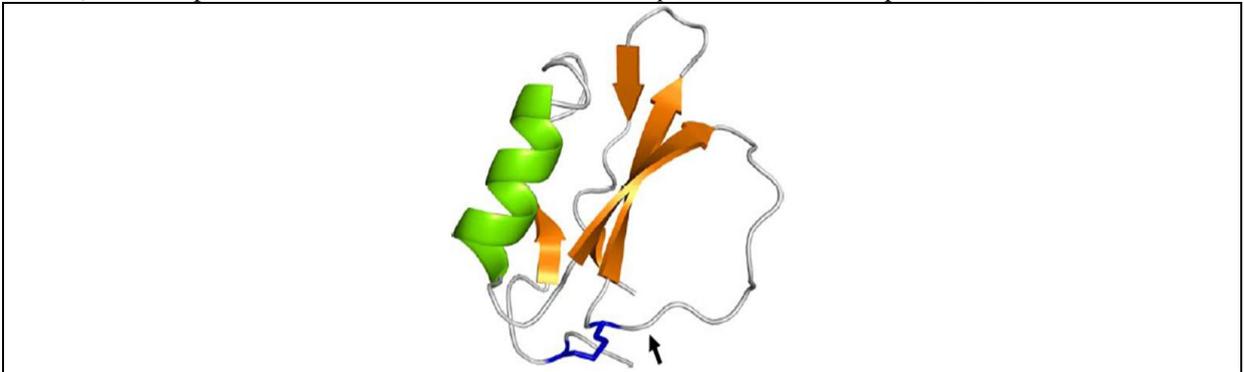
Embora seja conhecido o efeito antinutricional que os inibidores tipo Kunitz e Bowman-Birk possuem, experimentos *in vivo* mostraram que os inibidores citados possuem propriedades de reduzir a formação de radicais de oxigênio, suprimir o crescimento de tumores anais e de cólon induzidos quimicamente, tumor de mama em ratos e humanos e tumor de pulmão em ratos (MCGUIRE, 2003).

Silva e Silva (2000), afirmam que o inibidor *de Bowman-Birk* é relativamente estável à exposição do suco gástrico humano e foi observado que quando adicionado mais do que 4 mg de inibidor por ml de suco pancreático, houve aproximadamente 95% de inibição da tripsina e 50% de inibição da elastase.

Os dois inibidores mais pesquisados são os do tipo Kunitz e Bowman-Birk. No entanto, existem outros tipos de inibidores como: Batata tipo I (Figura 27), que é um inibidor retirado dos tuberculos da batata; consegue inibir a quimotripsina, a subtilisina e a tripsina, e se liga às proteínas que possuem a mesma origem embriológica do inibidor CI-1, já o inibidor de Batata tipo II (Figura 28), foi retirado da berinjela e inibe a tripsina. O Inibidor da família Curcubitae ou abóbora (Figura 29), embora pequenos em sua estrutura de aminoácidos, apenas 29, fazem parte dos mais potentes inibidores devido à sua constante de associação (K_a) que é elevada em relação aos demais inibidores. Os inibidores da subtilisa (Figura 30)

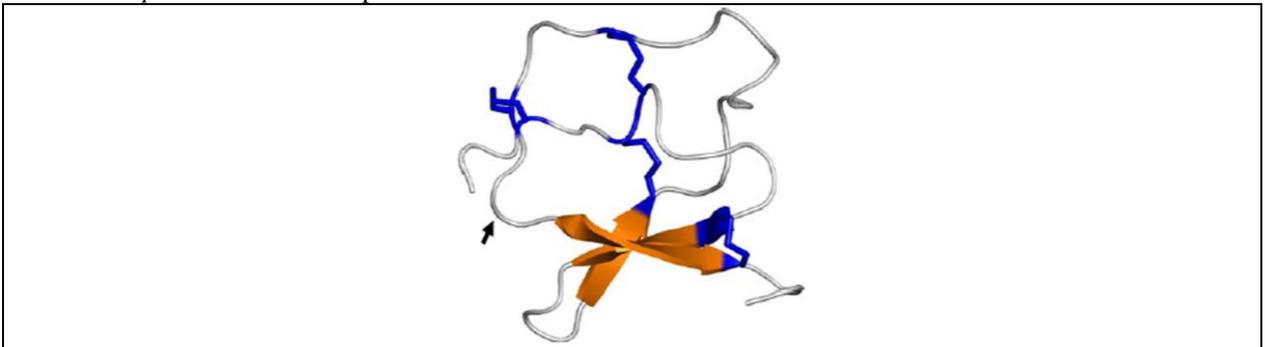
são produzidos pela família das bactérias *Streptomyces*, daí serem conhecidos como inibidores SSI - “*Streptomyces Subtilisin Inhibitors*”. O grupo dos inibidores de Antistasinas (Figura 31), embora pequenos, possuem como assinatura o fato de serem bastante resistente, tendo um conteúdo de cisteínas bastante elevado em sua composição assim como a família dos inibidores de Chelonianina (Figura 32) que também possuem em sua estrutura, proteínas contendo oito resíduos de cisteínas espaçadas, ligadas por pontes dissulfeto. E por fim, como característica marcante dos inibidores da família *Ascaris* (Figura 33), uma estrutura com domínio rico em cisteínas, encontradas em muitas proteínas extracelulares (RIBEIRO, 2009).

Figura 27 - Estrutura tridimensional do inibidor tipo batata I extraído de *Cucurbita máxima* (abóbora,PDB 1MIT). A única ponte dissulfeto é mostrada em azul e o *loop* reativo é indicado pela seta;



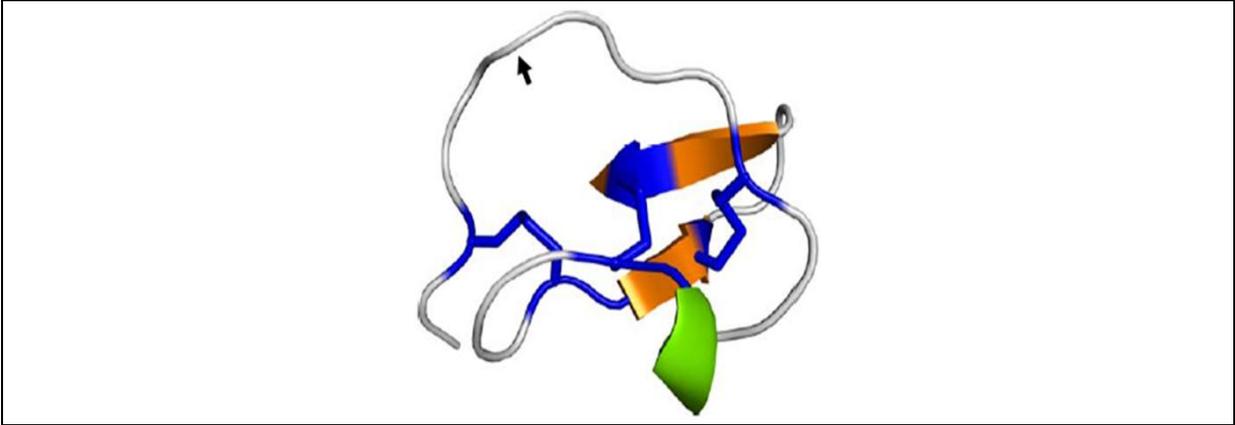
FONTE: (RIBEIRO, 2009)

FIGURA 28 - Estrutura tridimensional do inibidor tipo batata II. As pontes dissulfeto estão representadas em azul e o *loop* reativo é indicado pela seta



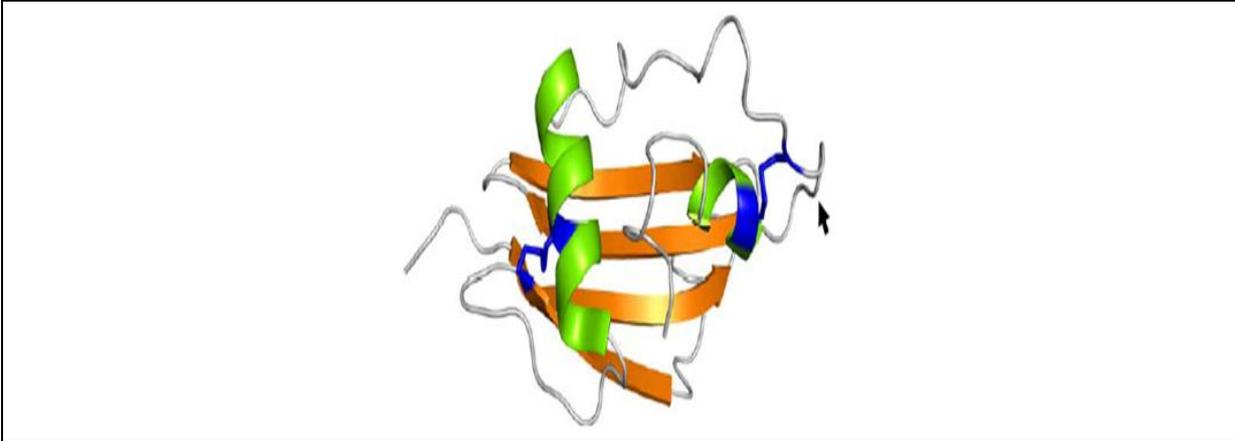
FONTE: RIBEIRO (2009)

FIGURA 29 - Estrutura tridimensional do inibidor tipo abóbora



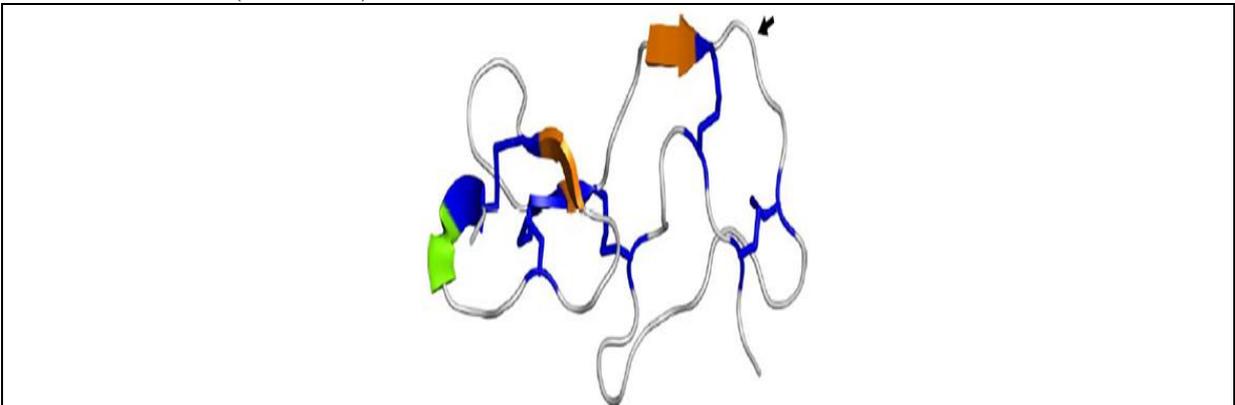
FONTE: RIBEIRO (2009)

FIGURA 30 - Estrutura tridimensional do inibidor de subtilisina extraído de *Streptomycesalbobogriseolus* da família SSI.



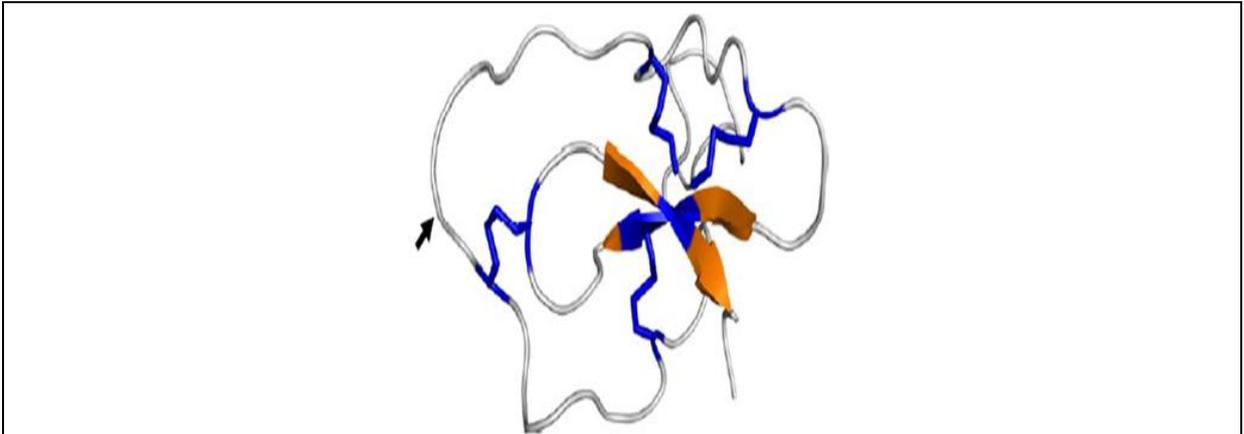
FONTE: RIBEIRO (2009)

FIGURA 31 - Estrutura tridimensional do inibidor da família das antistasinas extraído da saliva de sanguessuga *Hirudo medicinalis* (PDB 1HIA)



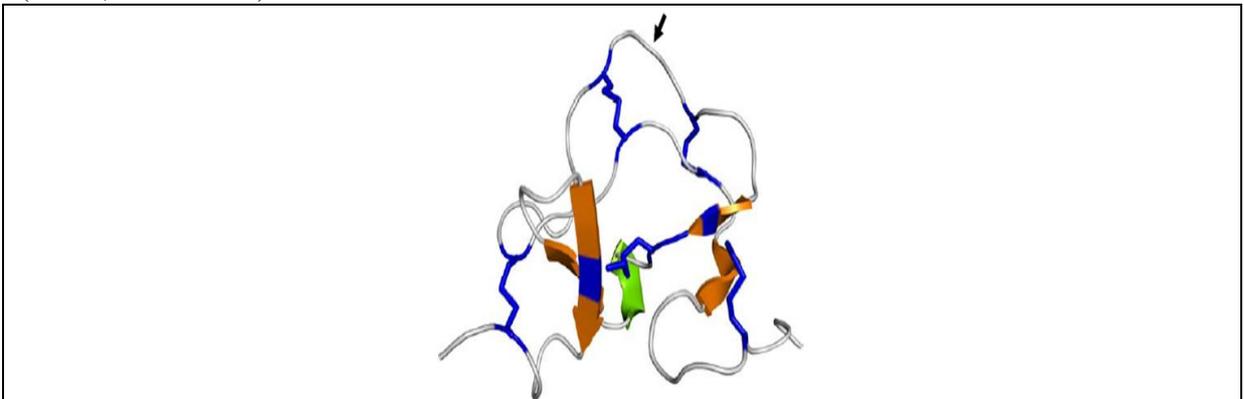
FONTE: RIBEIRO (2009)

FIGURA 32 - Estrutura tridimensional da elafina humana (PDB 2REL) que possui o arranjo característico da família chelonianina



FONTE: RIBEIRO (2009)

FIGURA 33 - Estrutura tridimensional do inibidor da família ascaris extraído de *Ascaris lumbricoides* (verme, PDB 1ATA)



FONTE: RIBEIRO (2009)

2.4.7 – INIBIDORES NA INDÚSTRIA FARMACÉUTICA

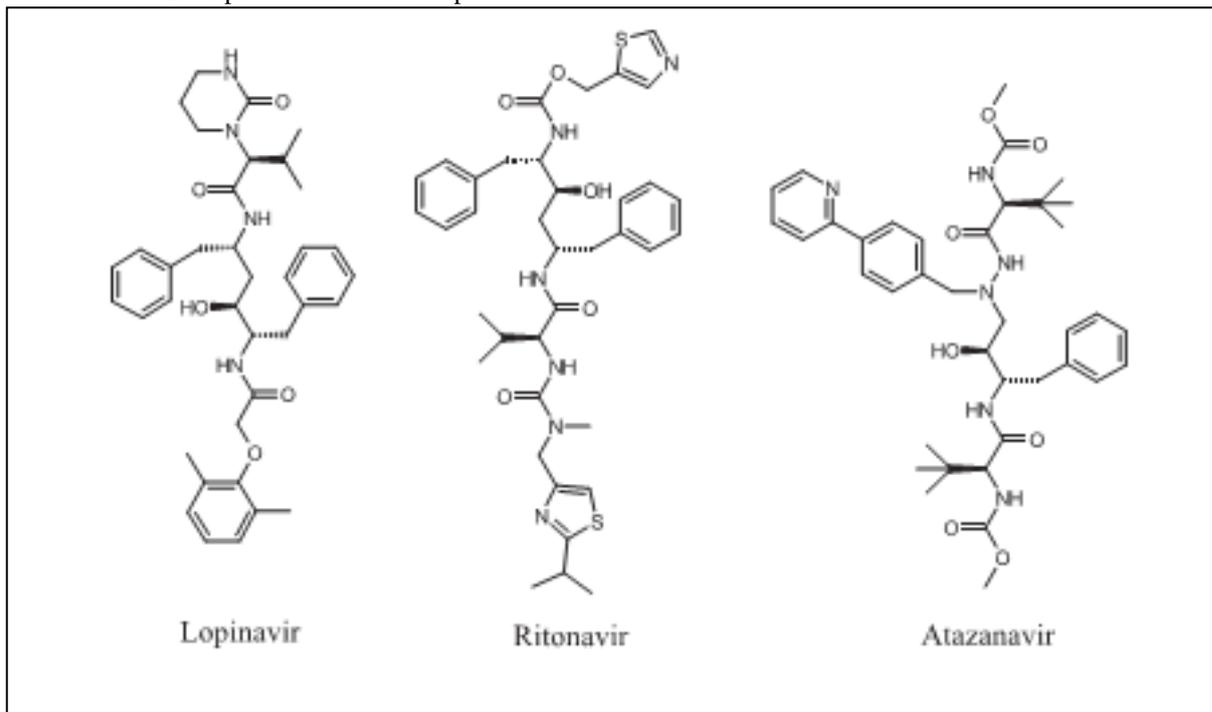
A indústria farmacêutica tem procurado utilizar compostos de origem natural como agentes terapêuticos para as mais variadas doenças, isto porque tais compostos podem se tornar excelentes compostos-protótipos para o desenvolvimento de derivados mais potentes que permitam serem utilizados como fármacos (MELO, BRUNI e FERREIRA, 2006).

O metabolismo é controlado efetivamente pela ação de enzimas. Neste contexto, quando se pensa em uma substância que seja capaz de inibir a ação dessas enzimas,

têm-se um horizonte imenso de aplicações farmacológicas. Pois o princípio ativo de vários medicamentos baseia-se principalmente na propriedade de inibir certas enzimas específicas. O bloqueio de uma única reação promove um efeito cascata de privações e impede que outras reações se concretize. Assim, gradativamente uma série de reações são impedidas tornando aquela célula inativa (MARZZOCO e TORRES, 2007).

A principal pesquisa farmacêutica sobre os inibidores de proteases está nos estudos sobre a relação dos inibidores com o vírus HIV. Hoje, a AIDS representa uma grande preocupação para as autoridades de saúde pública, isto por que aproximadamente 33 milhões de pessoas estão contaminadas pelo vírus HIV e segundo relatórios da ONU, só na África Subsaariana, a AIDS é a principal causa de mortes baixando a expectativa de vida da população de 62 para 47 anos. No Brasil, a Lei 9113/96 garante aos portadores do vírus acesso livre e irrestrito aos medicamentos, até então desenvolvidos para combater a doença, chamados de coquetel de drogas que é uma combinação de fármacos capazes de diminuir o ritmo de infecção pelo vírus, e que são classificados como: inibidores de transcriptase reversa nucleosídeo-nucleotídeo (ITRN), inibidores de transcriptase reversa não-nucleosídeo (ITRNN), inibidores da fusão e inibidores de proteases (Figura 34). Mas mesmos com estas terapias, o vírus não é eliminado; mas apenas reduzido e adormecido. Um dos medicamentos usados hoje, em pessoas com infecção avançada pelo HIV é a zalcitabina (didesoxicitiina). Dentro da célula, esta substância é convertida em didesoxicitidina 5'-trifosfato (ddCTP). O ddCTP, por sua vez, atua inibindo o substrato natural para a transcriptase viral. Como resultado o vírus é impedido de se duplicar. Além do mais, o surgimento de novas cepas de vírus resistentes a estes medicamentos faz com que a indústria farmacêutica esteja sempre na busca por novas substâncias naturais que possam se tornar projetos farmacológicos no combate ao vírus HIV (MELO, BRUNI e FERREIRA, 2006).

FIGURA 34 - Exemplos de inibidores de proteases.



Fonte: Adaptação MELO, BRUNI e FERREIRA (2006)

Um exemplo inibidores orgânico pesquisado pelas indústrias farmacêuticas é o o curry; tempero popularmente utilizado para dar cor e sabor a alimentos, possui em sua estrutura a curcumina, um bis-catecol, composto isolado de rizomas de *Curcuma longa*, além de agir como contraceptivo, pois inibe a atividade dos espermatozoides, tem sido estudados também como potenciais agentes inibidores da HIV-IN. Os compostos da classe dos ácidos dicafeoilquímicos composto encontrado em plantas medicinais na Bolívia e seu derivado sintético, o ácido L-chicórico, quando misturados ao coquetel anti-HIV, mostraram bons resultados no combate ao HIV. Estes compostos apresentam inibição do HIV-IN que varia de 0,06 a 0,66 $\mu\text{g/mL}$ (MELO, BRUNI e FERREIRA, 2006).

2.4.8 – INIBIDORES DE PROTEASES EM ALIMENTOS

Benevides *et al* (2011), afirmam que nas leguminosas, como a soja, verifica-se a ocorrência natural de inibidores de enzimas proteolíticas, como por exemplo, a tripsina. A ação destes inibidores no trato gastrointestinal leva à redução da disponibilidade dos aminoácidos.

A soja tem recebido especial atenção nas pesquisas, por ser um alimento rico em diversos nutrientes e ser bastante utilizado na alimentação humana e animal, porém se consumida *in natura*, podem apresentar os inibidores de proteases que são resistentes no trato gastrointestinal. Assim, com o objetivo de se conseguir melhorar a qualidade nutricional do grão de soja, sem afetar suas propriedades nutricionais, tem-se buscado desenvolver técnicas de forma a se obter variedades com alto teor de proteína, mas que com atividade reduzida ou ausência completa de inibidores de proteínas (MENDES *et al.*, 2007).

Assim, Mendes *et al* (2007) realizaram um estudo com o objetivo de caracterizar a composição centesimal e determinar a qualidade protéica e a quantidade de inibidores de proteases de quatro variedades de soja quando *in natura* e processadas à temperatura de 120°C por 9, 12, 15 e 18 minutos conforme apresentado na tabela 8.

TABELA 8 – Inibidor de tripsina nas farinhas de soja integrais e submetidas ao tratamento térmico (mg de tripsina inibida / g de proteínas no extrato)*

AMOSTRAS **	Tempo de tratamento térmico a 120° C (min)				
	0	9	12	15	18
FS1	1229,17 ^{a*}	191,07a	92,33a	72,45a	0,00a
FS2	1302,60a	108,32b	82,08a	58,53a	0,00a
FS3	928,72c	4,64c	0,00b	0,00b	0,00a
FS4	1128,02b	0,00c	0,00b	0,00b	0,00a

*Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade; ** FS1: farinha de soja KTI+ e LOX +; FS2: Farinha de soja KTI+ e LOX-; FS3: Farinha de soja KTI- e LOX-; FS4: Farinha de soja KTI- e LOX+. FONTE: MENDES *et al* (2007)

Já a Tabela 9 mostra a porcentagem de redução da atividade inibitória da tripsina em todas as variedades de soja analisadas, em comparação com as mesmas farinhas em seu estado *in natura* (MENDES *et al.*, 2007).

TABELA 9 – Porcentagem de redução da atividade inibitória de tripsina nos diferentes tempos de processamento.

AMOSTRAS *	Tempo de tratamento térmico a 120° C (min)			
	9	12	15	18
FS1	84,45	92,48	94,1	100
FS2	91,68	93,69	95,5	100
FS3	99,5	100	100	100
FS4	100	100	100	100

*FS1: farinha de soja KTI+ e LOX +; FS2: Farinha de soja KTI+ e LOX-; FS3: Farinha de soja KTI- e LOX-; FS4: Farinha de soja KTI- e LOX+. FONTE: MENDES *et al* (2007)

Mendes *et al.*, (2007) concluíram que, em geral, a inativação do inibidor de tripsina pelo calor é uma relação do tempo com a temperatura como pode ser observado na tabela 4, pois a diminuição da atividade inibitória é verificada à medida que a temperatura aumenta e de acordo com os resultados encontrados na tabela 5, verifica-se que a temperatura de 120°C por 18 min, foi suficiente para a inativação dos inibidores de tripsina a níveis aceitáveis.

Ribeiro, Ida e Oliveira (1999), entendem que a melhor forma de tratar a soja, visando uma diminuição dos fatores antinutricionais presentes em seus grãos, incluindo os inibidores de tripsina, tipo Kunitz e Bowman-Birk, seria uma seleção genética incluindo alterações em genes de espécies cultivadas no Brasil. No entanto esta técnica além de difícil é pouco viável, economicamente falando. Por isso, analisaram teores de dois cultivares de soja (BR-13 e Paraná) ambas fornecidas pela EMBRAPA, versus tempo de germinação e chegaram à seguinte conclusão, de acordo com a tabela 10: “Os níveis de inibidores de tripsina aumentam 22,05% e 17,10% nas cultivares BR-13 e Paraná, respectivamente, em 72 horas de germinação.”

TABELA 10 - Médias de níveis de inibidores de tripsina (UIT/mg de farinha de soja integral . FSI) com relação à interação cultivar x períodos de germinação.

PERIODO DE GERMINAÇÃO (HORA)	CULTIVAR	
	BR-13 (UIT/g FSI)	PARANÁ (UIT/g FSI)
0	37,09*	40,58*
6	43,36	44,66
12	48,05	45,98
18	47,85	42,25
24	45,89	41,5
30	44,14	44,52
36	44,12	43,76
42	45,85	47,82
48	45,1	47,91
54	45,36	47,86
60	46,82	46,72
66	45,09	47,77
72	45,27	47,52

*Resultados obtidos através da média de três repetições.

FONTE: RIBEIRO, IDA e OLIVEIRA (1999),

Cardoso *et al.*, 2007 analisaram o teor de inibidores de proteases na soja *Glycine Max in natura*, em variedades com e sem inibidores tipo Kunitz (KTI). Os valores encontrados foram de 92,87 a 122,92 mg de inibidores de tripsina/g, próximo do encontrado por MONTEIRO (2003), que foi de 110 a 160 mg de inibidores de tripsina/g. É interessante que CARDOSO *et al.*, (2007) afirmam que mesmo as variações de amostras que estavam isentas de inibidores de proteases tipo Kunitz apresentarem 11% a menos de inibição, mesmo assim os valores encontrados foram altos. Segundo os autores, isso se deve à presença de inibidores de Bowman-Birk também presentes na soja.

Bonett *et al* (2007), conseguiram inativar por completo o inibidor de tripsina em feijões da classe (*Phaseolus Vulgaris*) embebidos com água destilada por uma noite e submetidos à temperatura de 97°C por 7,5 minutos. Isso mostra que se é possível eliminar o inibidor de tripsina em feijões embebidos em água e aquecidos a 100°C por 10 a 15 minutos. Entretanto, os autores afirmam que para o cultivar carioca, o cozimento a 100° C em um período de 15 min a 1 hora, foi suficiente para eliminar apenas 40% de inibidores de proteases

e que mesmo retirando-se a casca dos grãos anteriormente, o resultado não foi alterado, o que comprova também que os taninos não tem relação com os inibidores de proteases.

2.5 – CAPÍTULO 03

2.5.1 – LECTINAS: HISTÓRICO E CLASSIFICAÇÃO

Lectinas são proteínas que, embora não pertençam ao sistema imunológico, conseguem reconhecer um sítio ativo de moléculas de carboidratos, ligando-se de maneira reversível, sem alterar as ligações glicosídicas covalentes pertencentes ao sítio e sem apresentar atividade enzimática. São encontradas em quase todos os seres vivos incluindo vegetais, animais, bactérias e vírus. Nas plantas foram encontradas no citoplasma, embora já tenham sido encontradas também em raiz, caule e folhas (MARTINS, 2009; SILVA e SILVA, 2000; CAMACHO, 2007; PEREIRA, 2005).

As lectinas fazem parte dos chamados compostos metabolitos secundários, e por isso são usadas por plantas, como arma defensiva contra ataques de bactérias, fungos e insetos. Nos insetos as lectinas agem interferindo na alimentação, desenvolvimento, reprodução e sobrevivência em diferentes estágios de vida (BELMONTE, *et. al.*, 2013).

As primeiras pesquisas sobre as lectinas datam do século XIX, em 1888, quando Hermann Sttilmark, na universidade de Dorpat na Estônia, ao estudar a toxicidade da *Ricinus communis* (mamona) sintetizou uma proteína que causava a aglutinação de eritrócitos e que foi chamada de *Ricina* (MARTINS, 2009; CAMACHO, 2007; SANTANA, 2004; SILVA e SILVA, 2000).

Somente a partir da década de 60 é que esta proteína voltou à evidência com duas grandes descobertas: a primeira feita por Peter C. Nowell (1960) onde descobriu que a lectina *Phaseolus vulgaris* (PHA) tinha a capacidade de fazer com que linfócitos entrassem em mitose assim como a lectina ConA (concanavalina A), embora esta última pudesse ser inibida por monossacarídeos. A segunda descoberta feita por Joseph C. Aub foi que as células malignas podiam ser aglutinadas pela lectina de gérmen de trigo, o que levou os cientistas a proporem que alterações nos açúcares da parede celular e a suscetibilidade para aglutinar lectinas, estão associadas ao desenvolvimento de células cancerosas (MARTINS, 2009).

A nomenclatura das lectinas seguem a seguinte regra: devem ser designadas pelos nomes científicos das espécies originais das quais foram purificadas. Como exemplo pode ser citado a lectina da *Dolichos biflorus*, ou DBL e a *Concanavalina A* ou ConA.

Geralmente a literatura científica costuma utilizar uma sigla proveniente do nome completo da lectina para citá-la com maior facilidade. Há também quem nomeiam as lectinas de acordo com sua especificidade glicídica que podem vir acompanhadas da parte em que foi extraída da espécie por exemplo: Lectina específica para D-galactose da *Zea mays*, ou Lectina específica para D-galactose de sementes da *Erythrina speciosa* (SANTANA, 2004; KONOZY E COLS., 2003; SILVA e SILVA, 2000; MARTINS, 2009; PEREIRA, 2005).

As lectinas podem ser classificadas de diversas formas: quanto à conformação tridimensional, quanto à especificidade, quanto à similaridade dos aminoácidos entre outras. Contudo se a finalidade for classificar as lectinas quanto ao mecanismo de reconhecimento Lectina-Carboidrato, é importante classificá-la quanto sua atividade, pois conforme palavras do autor: “(...) a acessibilidade do ligante ao sítio de reconhecimento determina mecanismos de reconhecimento distintos.” (Santana, 2004). Ainda segundo o autor, esta classificação pode ser assim descrita:

GRUPO 1 : os sítios ligantes destas proteínas envolvem por completo o ligante por estarem mais profundos na proteína, tais como as proteínas transportadoras.

GRUPO2: Grupo ao qual pertencem grande parte das lectinas conhecidas. São proteínas que possuem um sítio ligante mais externo que apenas “acomoda” o carboidrato ligante. São proteínas que apenas se ligam aos glicídios sem alterar quimicamente a estrutura da molécula. São proteínas ligadas ao reconhecimento e ligação ao carboidrato específico. Estas lectinas podem ser divididas conforme a tabela 11.

Tabela 11: Classificação de Lectinas do Grupo 2 em famílias.

	Tipo de Lectina	Especificidade	Massa Molecular dos Monômeros (Kda)	Número de monômeros	Sítios Ligantes glicídios por monômero	Ligações Dissulfeto	Íons Metálicos coordenados
Lectinas de plantas	Legumes	Diversa	25-30	2 ou 4	1	-	Ca ⁺² , Mn ⁺²
	Cereais	NacGlc AcNeu	18	2	2	++	-
Lectinas de animais	Tipo-C	Diversa	>> 15	Variável	de 1 a 8	+	Ca ⁺²
	Tipo-S	Galactose	14-35	?	1	-	

FONTE: SANTANA, 2004, Adaptado de SHARON, 1993

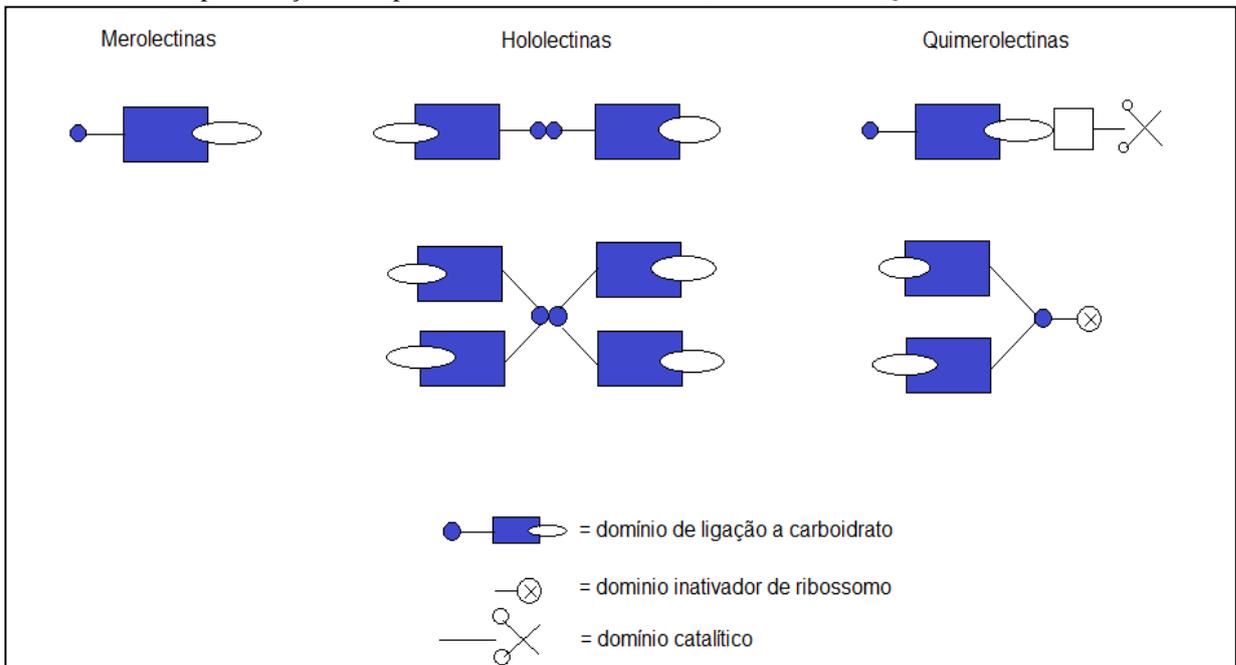
Autores como Guzman-Partida *et al.* (2004) e Povineli e Finardi Filho (2002), também classificam as lectinas de acordo com sua especificidade de ligação por

monossacarídeos conforme a configuração dos carboidratos 3 e 4 (C₃ e C₄) do anel piranosídico dos monossacarídeos inibidores. Esta classificação é a mais simples e a mais usada, pois divide as lectinas em grupos como: glicose e manose, manose, D-galactose, N-acetilglicosamina, fucose e oligossacarídeos complexos. Estes monossacarídeos são aqueles que causam a maior inibição da aglutinação de eritrócitos induzida pela lectina.

As lectinas mais estudadas são aquelas pertencentes à família leguminosae que apresentam em seu grupo, proteínas similares estruturalmente, mas diferentes quanto à sua especificidade. Por isso foram classificadas, levando em consideração além de sua estrutura, sua função biológica. Foram assim divididas: Família Merolectinas, Família das hololectinas e as quimerolectinas (figura 35) (MARTINS, 2009).

As merolectinas são células monovalentes, incapazes de aglutinar células. As quimerolectinas são proteínas que agem independentemente do domínio de ligação a carboidratos, pois possuem um domínio de ligação e outro não relacionado a atividade catalítica. As hololectinas são a maioria das lectinas das plantas e são as grandes aglutinadoras da classe das lectinas por possuírem dois ou mais domínios de ligação a carboidratos (PEREIRA, 2005).

FIGURA 35 – Representação dos tipos de lectinas: Merolectinas, Hololectinas e Quimerolectinas.



FONTE: MARTINS, 2009 adaptado de PEUMANS e VAN DAMME, 1995

2.5.2 – ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Lectinas são proteínas glicolisadas, compostas de 2 ou 4 monômeros cujo peso molecular varia de 8,5 a 265 kDa. Para realizar a atividade hemaglutinante, algumas lectinas necessitam de cátions Ca^{2+} e Mn^{2+} , que estão associados aos aminoácidos que participam da ligação ao carboidrato (MOREIRA, *et al.*, 1991).

As lectinas encontradas nas leguminosas possuem massa molecular aproximada de 30 kDa, e constituem cerca de 10% das proteínas do extrato das sementes. Quando consumidas em grande quantidade essas proteínas podem apresentar efeitos tóxicos, interferindo no metabolismo, e em casos extremos podendo levar animais a morte (CAMACHO, 2007).

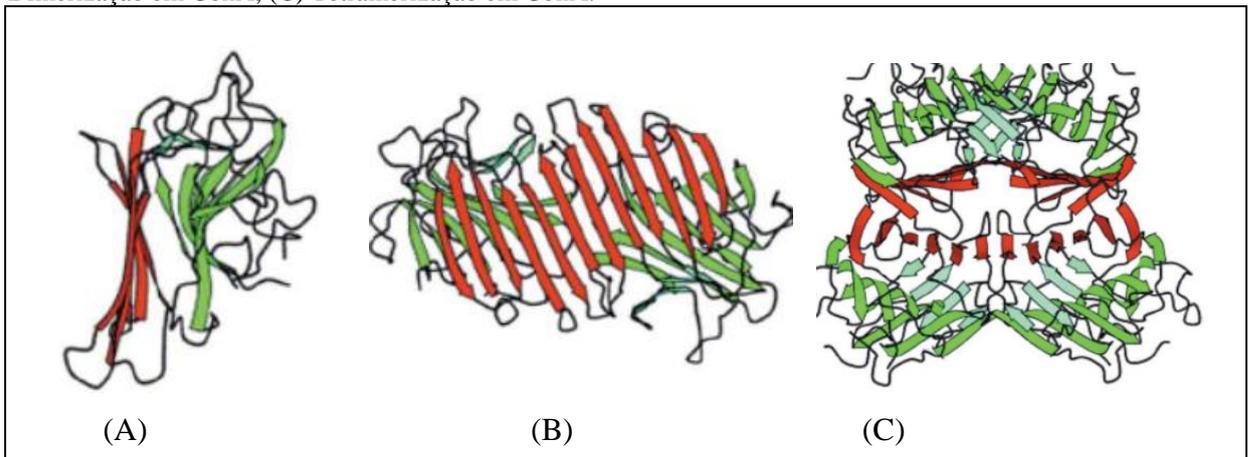
A estrutura das lectinas dos vegetais é assim descrita por Povineli e Finardi Filho (2002):

“De maneira geral as lectinas vegetais são compostas por subunidades, idênticas ou não, que variam de dois a quatro monômeros por moléculas, sendo raras as formas monoméricas, como é o caso da lectina da batata. Algumas lectinas são diméricas, como a do germe de trigo (WGA) com duas subunidades idênticas e peso molecular de 21,6 kDa e a ricina, com duas subunidades distintas e peso molecular de 63 kDa. A mais comum, no entanto, é a forma tetramérica, como das lectinas de *Canavalia ensiformis* e de *Dioclea grandiflora*, ambas com 4 subunidades idênticas” (POVINELI e FINARDI FILHO, 2002).

Segundo Martins (2009) o grupo das lectinas encontradas em leguminosas possui pequenas diferenças estruturais e é o grupo mais estudado, com cerca de 210 sequências de estruturas caracterizadas sendo a primeira delas a lectina de *Canavalia ensiformis*. Segundo palavras do autor:

“Apesar de terem essencialmente a mesma estrutura terciária, as lectinas de leguminosas exibem uma considerável diversidade no modo que seus monômeros de oligomerizam em dímeros e tetrâmeros com pequenas alterações na sequência de aminoácidos (CHANDRA *et al.*; 2001; SRINIVAS *et al.*, 2001). A reunião tetramérica de lectinas obtidas de sementes da subtribo Diocleinae, gênero *Cratylia* e *Canavalia* envolve associações cruzadas de lados posteriores de dois dímeros por alinhamento antiparalelo de suas folhas- β (DEL SOL, *et al.*, 2007) (FIGURA 36). Diferentemente das similaridades nas sequências destas moléculas, o modo como essas subunidades se associam para formar os dímeros e tetrâmeros é bastante diverso. Cada monômero contém sítios de ligação íons metálicos bivalentes que são essenciais para o correto dobramento do arranjo interno do sítio de ligação a carboidrato” (MARTINS, 2009).

FIGURA 36 – (A) Estrutura terciária representativa de um monômero de uma lectina de leguminosa; (B) Dimerização em ConA; (C) Tetramerização em ConA.

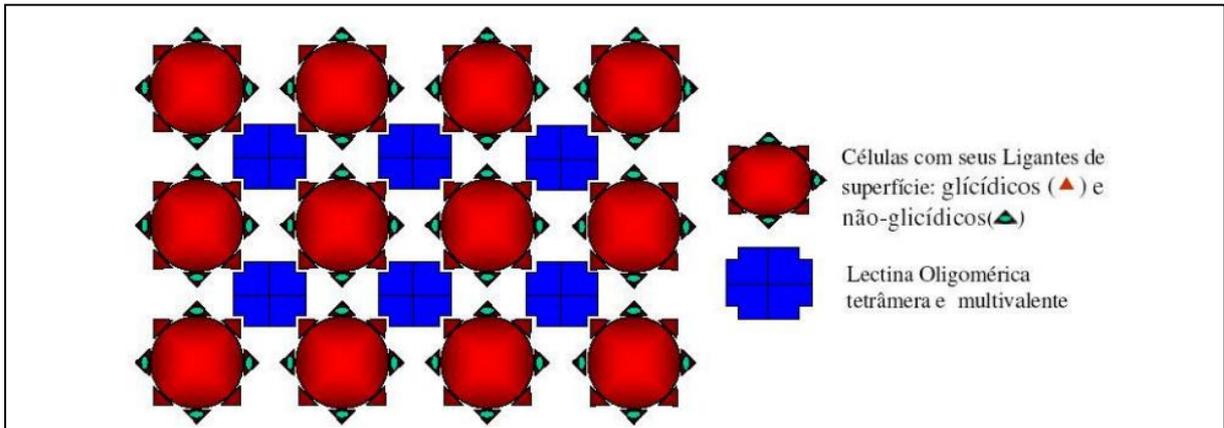


FONTE: MARTINS (2009) adaptado de SRINIVAS *et al.*, (2001).

Povinel e Finardi Filho (2002) concordam com Martins (2009) quando afirmam que não há aspectos comuns entre as estruturas das lectinas, e acrescentam que existem múltiplas formas moleculares de lectinas devido à mobilidade eletroforética distinta, que são pequenas modificações na estrutura primária, através de mudanças nas cadeias laterais e nos carboidratos de glicolectinas. Também afirmam que, os aminoácidos presentes na estrutura das lectinas são formados por cerca de 30% de aminoácidos ácidos, Asp, Glu, Ser e Thr e com exceção da lectina do gérmen de trigo, a estrutura é pobre de aminoácidos sulfurados.

As atividades biológicas das lectinas são baseadas em sua ligação específica com os carboidratos. Sua capacidade de aglutinação é resultado da interação entre os sítios ligantes disponíveis da lectina e os carboidratos, onde se estabelece uma ponte ligante formando uma verdadeira rede de lectinas e carboidratos, conforme figura 37. Essa capacidade de se aglutinar, é uma das ferramentas que temos para identificar a atividade das lectinas, pois uma vez formados podem ser vistas facilmente (SANTANA, 2004).

FIGURA 37 – Representação hipotética de uma hemaglutinação produzida por lectina



FONTE: SANTANA, 2004

Uma das grandes evidências de que as lectinas atuam na defesa da planta é que elas se acumulam exatamente nas partes mais suscetíveis a ataques herbívoros ou que dependem para sua sobrevivência, como as sementes. Além do mais são as únicas proteínas capazes de identificar, reconhecer e se ligar a glicoconjugados de outros organismos presentes nas bactérias e fungos ou expostos no sistema digestivo de insetos e herbívoros (PEUMANS e DAMME, 1995).

Algumas funções importantes das lectinas nas plantas é descrita por Povineli e Finardi Filho (2002) como sendo: “(...) *elongação da parede celular e regulação de crescimento, reconhecimento dos receptores de membrana, mitose induzida na formação celular e protoplasto, morfogênese embrionária, fagocitose e proteção celular (...)*”.

A atividade das lectinas podem ser influenciadas por fatores como a presença ou ausência de íons metálicos, temperatura e pH. Por exemplo, quando a lectina Con A. entra em contato com meio ácido, este retira da lectina os íons metálicos Mn^{2+} e Ca^{2+} impedindo que ela se ligue ao carboidrato. Isto pode ser revertido adicionando primeiramente Mn^{2+} e em seguida Ca^{2+} . Os metais são parte essencial da estrutura das lectinas proporcionando a elas estabilidade à variação da temperatura e pH. A variação de pH de 2 para 7 diminui sua atividade hemaglutinante (POVINELI e FINARDI FILHO, 2002).

2.5.3 – AÇÃO FISIOLÓGICA DAS LECTINAS

As células utilizam os carboidratos como ferramenta de comunicação para diversos sistemas biológicos. No entanto, estes mesmo carboidratos presentes na parede celular possuem informações que podem influenciar em fenômenos de diferenciação, proliferação e interações entre células em condições fisiológicas e patológicas; sendo que tais informações podem ser reconhecidas e inibidas por um grupo específico de proteínas, as lectinas (PEREIRA, 2005).

Muito embora as lectinas estejam amplamente distribuídas no reino vegetal, ainda não se sabe completamente como elas atuam no organismo humano, quando ingeridas. Os experimentos realizados em ratos, camundongos e porcos de laboratório indicam que, as lectinas se ligam a receptores glicosados presentes no intestino impedindo a absorção e utilização de nutrientes além de absorverem substâncias nocivas (LIMA, 2009; KAUR *et al*, 2006; CAMACHO, 2007).

Isso leva a uma grande perda de peso e no caso de animais experimentais, foi observado a inibição do crescimento, além do fato de que as lectinas não apenas destrói a parede celular, mas também inibem a ação de várias outras enzimas intestinais. E isto dá às lectinas um caráter tóxico, justamente devido á sua alta resistência à degradação proteolítica além do fato de que as lectinas atuam de maneira direta sobre as enzimas digestivas (peptidases, dissacaridases, fosfatases e amilases) (VASCONCELOS e OLIVEIRA, 2004).

Silva e Silva (2000) afirmam que as lectinas possuem uma alta especificidade para açúcares na superfície celular promovendo estimulação mitogênica de linfócitos e aglutinação de células cancerosas. Segundo palavras do autor:

“Embora muitas lectinas reconheçam e se liguem a açúcares simples tais como glicose, manose, galactose, N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina ou fucose, a afinidade é muito maior para com os constituintes de glicoproteínas: Ácido siálico e N-acetilgalactosamina contendo cadeias de glicanos, encontrados em animais e seres humanos” (SILVA e SILVA, 2000).

As lectinas podem ter também uma forte ação hipoglicemiante, pois como possuem alta especificidade por açúcares, isto faz com que haja um aumento tanto da secreção

de insulina por meio das células β , quanto minimiza a ação da insulina pela interação com os resíduos de carboidratos de glicoproteínas (KAVALALI, 2003).

Quando ingeridas, embora boa parte seja inativada pela pepsina, outra parte resiste a este processo e na passagem para o intestino delgado reconhecem resíduos de carboidratos se ligando a eles provocando interferência na absorção de nutrientes (ABREU *et al.*, 2010).

Devido à característica quase exclusiva que as proteínas possuem de ligação específica com carboidratos, faz delas excelentes marcadores em estudos histoquímicos, bioquímicos e em técnicas para caracterizar e diferenciar células cancerosas. Uma vez que a superfície externa da membrana celular e a matriz extracelular consistem principalmente de glicoconjugados, que são restos de carboidratos resultantes da invasão neoplásica, estes podem ser detectados por marcadores protéicos como as lectinas (CAMACHO, 2007).

Lectinas usadas em tratamento médico e administradas via oral podem interagir com diferentes glicoproteínas do trato gastrointestinal exercendo influência no sistema digestivo, além de serem utilizadas como agente terapêutico contra tumores, com o benefício de não apresentar efeitos colaterais (PRYME *et al.*, 2004).

2.5.4 – LECTINAS EM ALIMENTOS

As lectinas são encontradas em diferentes partes da planta. Conforme palavras de Povineli e Finardi Filho (2002):

Entre as plantas, as lectinas tem sido relatadas e purificadas de folhas, frutos, raízes, tubérculos, rizomas (PEUMANS *et al.*, 1985), bulbos, cascas, caules (VAN DAMME *et al.*, 1987) e predominantemente de sementes de muitas plantas (BOLINI e CHRISPEELS, 1978; WANG e NG, 1998), onde elas constituem até 10% do conteúdo total de proteínas de extratos de sementes maduras (PEUMANS e VAN DAMME, 1995). A maioria das lectinas de sementes maduras de leguminosas está localizada nos cotilédones que funcionam como reserva de nutrientes, usados durante sua germinação (POVINELI e FINARDI FILHO 2002).

Segundo Lima (2009) as lectinas são encontradas principalmente nas leguminosas como a soja, o feijão e o amendoim além de cereais, berinjela e no tomate.

Com a soja é possível obter uma farinha rica em diversos nutrientes, mas que possui em sua estrutura bioquímica, substâncias hemaglutinantes que somam 3% do total de sua composição. Trata-se de uma glicoproteína (lectina) com peso de 120 kDa (MIZUBUTI e IDA, 1999).

Abreu *et al.*, (2010), analisaram as lectinas presentes na farinha da folha da mandioca e afirmam que tais substâncias não necessitam dos cátions Ca^{2+} e Mn^{2+} para realizarem sua atividade hemaglutinante. Ao contrário das lectinas presentes nas sementes de *Pouteria torta*, fruta popularmente conhecida como Abiurana ou Guapeba, encontrada no cerrado, na mata Atlântica e na Amazônia. Segundo os autores:

(...) quando incubada com ácido EDTA $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ e ácido EGTA $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$, apresentou perda da atividade biológica, mostrando ser dependente de íons Ca^{2+} , Mn^{2+} e Mg^{2+} . No entanto, quando Ca^{2+} ($12,5 \text{ mmol.L}^{-1}$) e Mn^{2+} ($12,5 \text{ mmol.L}^{-1}$) foram adicionados ao ensaio de hemaglutinação, a atividade da lectina de *Pouteria torta* foi restaurada. (ABREU, 2010).

As lectinas presentes nos grãos, em especial as lentilhas, são muito perigosas para o organismo humano. Quando ingeridas sem o devido tratamento, as lectinas ali presentes, se ligam às proteínas dos alimentos ou a bactérias intestinais e rompem a parede intestinal. Assim que as lectinas ultrapassam essa barreira intestinal, resíduos de proteínas ou bactérias ativam as células T que por sua vez são sensíveis à mielina. As células T são células capazes de produzir anticorpos que produzem substâncias tóxicas contra invasores. A mielina é um tipo de capa gordurosa que envolve as fibras nervosas neurais acelerando a condução de impulsos nervosos. Quando as lectinas acionam as células T, estas atacam a mielina que perde sua função e os nervos axônicos, contribuindo assim para a formação da esclerose múltipla (SEM, 2014).

No feijão, aproximadamente 10% de toda proteína presente são de glicoproteínas, como lectinas, sendo tóxicas para mamíferos e aves. Essa toxicidade já foi comprovada em ratos de laboratório, quando administraram-se via oral e intraperitoneal extratos de lectinas tóxicas nestes animais. Verificou-se morte imediata logo após a aplicação intraperitoneal, e os animais que receberam o tratamento via oral, foi percebido uma perda de peso, alteração do pâncreas e do baço e após duas semanas, morreram (BONETT *et al.*, 2011).

Foram encontradas lectinas no gérmen de trigo e a hipótese de que quantidades significativas de lectinas são enviadas para o meio externo durante a germinação ficou mais evidente pelo fato de que a detecção de lectinas foi maior na casca das sementes do que em seu interior (POVINELI e FINARDI FILHO 2002).

Quanto às frutas do cerrado, de um modo geral, existem poucos estudos que buscam quantificar e qualificar a atividade hemaglutinante e a concentração de lectinas em tais plantas (NOZAKI, 2012).

3 – METODOLOGIA

Para o presente trabalho foram analisadas 106 publicações, entre: artigos científicos, livros, artigos em revistas especializadas e sites. Foram visitadas 4 bibliotecas universitárias sendo 03 (três) na cidade de Anápolis-GO e 01 (uma) em Goiânia-GO no período de 01 de Julho a 30 de novembro de 2014. Buscou-se localizar publicações nos diferentes meios de acesso disponíveis, visando um maior esclarecimento do assunto.

4 – ANÁLISE DOS RESULTADOS ENCONTRADOS

Para os taninos, os resultados encontrados em porcentagem ou miligramas está expresso na tabela 12.

Tabela 12 – Resultados encontrados de taninos

PLANTA	TEOR DE TANINOS ENCONTRADOS*
PAU JACARÉ	> 15%
ANGICO VERMELHO	> 15%
GOIABEIRA	> 15%
PAU PEREIRA	1,35%
BARBATIMÃO	20%
CASCA DO PEQUI	10,70%
CAJU	190 mg de ATE / 100g de polpa
GUAPEVA	245mg de ATE / 100g de polpa
MAMA CADELA	215 mg de ATE / 100g de polpa
CAGAITA	126 mg de ATE / 100g de polpa
CAMBUÇA	190 mg de ATE / 100g de polpa
GABIROBA	345 mg de ATE / 100g de polpa
JARACATIA	254 mg de ATE / 100g de polpa
PERA DO CERRADO	271 mg de ATE / 100g de polpa

PITANGA DO CERRADO	390 mg de ATE / 100g de polpa
MARACUJÁ	20 a 21,7 mg de ATE / 100g de polpa
ABACAXI	20 a 21,7 mg de ATE / 100g de polpa
CUPUAÇÚ	20 a 21,7 mg de ATE / 100g de polpa
GOIABA	83 mg de ATE / 100g de polpa
UVA	117,1 mg de ATE / 100g de polpa
AÇAÍ	136,8 mg de ATE / 100g de polpa
FOLHA DO ABACAXI	0,81% de ATE / 100g de polpa
CAULE DO ABACAXI	0,61% de ATE / 100g de polpa
SORGO	0,60 – 2,61% de ATE / 100g de polpa
MANDIOCA	0,62 – 1,11% de ATE / 100g de polpa
CAFÉ (CASCA)	1,31 – 2,97% de ATE / 100g de polpa
FOLHA DE COUVE-FLOR	0,21 mg de ATE / 100g de polpa
FOLHA DE BRÓCOLI	0,325 mg de ATE / 100g de polpa
COUVE	0,290 mg de ATE / 100g de polpa
FOLHA DA TAIOBA	1,0 mg de ATE / 100g de polpa
LIMBO DA TAIOBA	1,17 mg de ATE / 100g de polpa
CAULE DA TAIOBA	0,82 mg de ATE / 100g de polpa
JATOBÁ	19,64 mg de ATE / 100g de polpa

*** Referenciados na revisão bibliográfica**

Tais resultados demonstram que existem uma grande variedade de alimentos, inclusive aqueles altamente consumidos pela população como couve, brócolis e couve flor que embora seu percentual seja aparentemente pequeno, ainda assim podem causar danos à saúde humana.

Sabe-se que tais resultados podem ser modificados levando-se em consideração o local, o período e ainda as diferentes partes da planta coletadas por cada pesquisador. Por isso é necessário mais dados e outros estudos, que reproduzam o processo de extração destas substâncias e que possam confirmar ou alterar tais resultados.

Quanto aos resultados encontrados para os inibidores de protease, embora estejam presentes em outros alimentos, percebemos uma atenção especial à soja e ao feijão. Farinhas produzidas a partir dos grãos de soja, possuem quantidades consideráveis de inibidores de proteases sendo possível neutralizá-los através do aquecimento ou cozimento dos grãos.

Já as lectinas, além de apresentarem a soja como importante fonte desta proteína, é encontrada também no feijão e na mandioca, onde certa de até 10% das proteínas totais são de lectinas. Contudo como comprovado, as lectinas necessitam de metais para se ativar como o Ca^{2+} e o Mn^{2+} .

Pereira *et. al.*, (2008), detectou a presença de proteínas lectinas em folhas de mandioca em diferentes quantidades e amostras. Mas não conseguiram detectar atividade hemaglutinante. Segundo os autores isso se deve ao fato de que em algum momento perdeu-se algum fator necessário para a ativação da proteína. Sugerem que possam ser cátions metálicos Ca^{2+} e Mg^{2+} , perdidos durante a purificação. Essa atividade hemaglutinante, no entanto, foi detectada por CRISTINA SILVA (2008), quando adicionou ao seu ensaio de hemaglutinação uma solução de $1,3 \text{ mmol L}^{-1}$ de cátions Ca^{2+} e 5 mmol L^{-1} de Mn^{2+} . Isso foi necessário para estabilizar os sítios de ligação dos açúcares e assim ativar a atividade hemaglutinante

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelo exposto, observou-se que tanto os Taninos como os Inibidores de Proteases e Lectinas possuem ações indesejáveis no organismo. Suas estruturas químicas e ações fisiológicas podem provocar, desde deficiência nutritiva até determinados tipos de cânceres. Sabe-se também que existe uma gama muito grande de alimentos onde já foram detectadas expressivas quantidades de fatores antinutricionais e que já foram determinadas técnicas eficazes para a neutralização de tais efeitos.

Embora já se conheça e estejam bem definidos os mecanismos de ação dos fatores antinutricionais, faz-se necessário um continuo estudo com o intuito de localizar a presença destes fatores em outras variedades de alimentos, principalmente em frutos do cerrado cujas espécies são muito importantes para a população local; bem como a melhor forma de neutralizá-los sem interferir na atividade de outros nutrientes.

E é justamente em relação à população regional, que percebemos outro problema: a falta de informação sobre o tema. Em conversas informais sobre o tema deste trabalho, sempre havia uma interrogação por parte das pessoas, a respeito do assunto, demonstrando um total desconhecimento quanto às conseqüências de se comer alimentos ricos em Taninos, Inibidores de Protease ou Lectinas. Consideramos que nos meios convencionais acessíveis a esta população, não há muitos trabalhos disponíveis que tratem do tema com profundidade e clareza. As publicações têm, em sua grande maioria, apenas citações sobre os fatores antinutricionais e se dedicam quase exclusivamente a tratá-los como algo benéfico para a farmacologia, o que, é claro, não deixa de ser importante e verdadeiro.

Não basta apenas produzir conhecimento, deve-se fazê-lo chegar àqueles que poderão usufruir de tais resultados. Sugere-se então que continuem a serem realizados pesquisas e estudos a respeito do tema, principalmente em alimentos regionais, e que se tornem disponíveis à população de forma mais acessível possível, para que a ciência possa servir realmente ao seu propósito.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABREU, C. M. P., SILVA, M. C., CORRÊA, A. D.SANTOS, C. D., MARCOS, F. C. A. - **Extração da lectina da folha de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*). e o efeito de cátions divalentes na atividade hemaglutinante** - Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 30(Supl.1): 103-107, maio 2010
- AMARAL, D.R; OLIVEIRA, D.F.; CAMPOS, V. P. CARVALHO, D.A. – **Efeitos de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de meloidogyne exigua do cafeeiro** – Nematologia brasileira v. 26 – 2002
- AMAYA-FARFAN, J.; MARCIÍLO, R.; SPEHAR, C.R. – **Deveria o Brasil investir em novos grãos para a sua alimentação? A proposta do amaranto (*Amaranthus Sp.*)**. - Segurança Alimentar e Nutricional. v.12, p. 47-56, Campinas - SP, 2005
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, K. L.; MACEDO, A. G. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v.15, n.1, p. 63-72, 2004
- BELMONTE, B.R; NAPOLEÃO, T.H; PONTUAL, E.; ALBUQUERQUE, L.; SÁ, R.A; PAIVA, L.M; COELHO, L.C.B.; PAIVA, P.M.G – **Atividade Inseticida de Lectina de *Myracrodruon Urundeuva* contra *Sitophilus Zeamais*** - I Conicbio / II Conabio / VI Simcbio (V. 2). –Ucpe – Recife – PE, Nov. 2013
- BENEVIDES, C.M.J.S; SOUZA, M.V.B; SOUZA, R.D.; LOPES, M.V .- **Fatores antinutricionais em alimentos: Revisão - Departamento Ciências da Vida, Universidade do estado da Bahia (Uneb), Segurança alimentar e nutricional**, Campinas, 18(2): 67-79, 2011.
- BENEVIDES, C.M.J.; SOUZA, R.D.B.; SOUZA, M.V.; LOPES, M.V. **Fatores antinutricionais em vegetais**. Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr., Araraquara, v.24, n.3, p. 321-327, Jul/Set. 2013.
- BERG, J.M.; TYMOCZKO J. L; STRYER L.. – **Bioquímica – 1958** – Trad. Antonio J.M. Moreira, Rio De Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, 2010
- BERGAMASCO, C – **Fatores Antinutricionais e seu impacto na saúde humana** - <http://www.polonutricional.com.br/arquivos.asp> – Acessado em 04/09/2014 às 00:29h
- BERNARDES, N. R.; GLÓRIA, L. L.; NUNES, C. R.; PEÇANHA, F. F.; MUZITANO, M. F.; OLIVEIRA, D. B. – **Quantificação dos Teores de Taninos e Fenóis Totais e avaliação da atividade antioxidante dos frutos de Aroeira** – Rev. Vértices, Campos dos Goytacazes – RJ, v. 13, n. 3, p. 117-128, Set/Dez. 2011

BESSA, N.G.F.de; BORGES, J.C.M.; BESERRA, F.P.; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA, M.A.B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S.L.; RIBEIRO, L.U; QUIRINO, M.S; CHAGAS JUNIOR, A. F; ALVES, A. - **Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins - Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013**

BONETT, L. P., BAUMGARTNER, M. S. T., KLEIN, A. C., SILVA, L. I. **Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 235-246, Set/Dez. 2007.**

BRASILEIRO, A.C.M.; DUSI, D.M.A. TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE PLANTAS. IN: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (EDS.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1999

BRASILEIRO, A.C.M; LACORTE, C.; STUDART-GUIMARÃES, C; **Transformações genéticas em espécies florestais**, Ciência Florestal, V.13, N. 1, P. 167-178, Santa Maria-RS, 2003

CAMACHO, N.N. – **Expressão heteróloga da lectina de *Bauhinia forficata* em *Escherichia coli* e efeito sobre linhagens clulares tumorais** – Tese de Mestrado – UFPELOTAS - Pelotas - 2007

CAMPBELL, M. K - **Bioquímica 3ª ed. trad.** Henrique Bunselmeyer Ferreira (*et al.*) – 3 ed – Artmed ed. Porto Alegre: 2000

CARVALHO, M. R. B. DE & STECH, M.R. – **Avaliação da composição centesimal e das atividades dos fatores antinutricionais em diferentes cultivares de soja**. São Paulo, 1997

CASTRO, N.M.N; - ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO - **Química dos Compostos extractáveis em metanol da popa do Baobá (*Adansonia digitata*)** – Tese de dissertação em Bioquímica e Química dos Alimentos – Universidade de Aveiro, Portugal - 2008

CORNÉLIO, M. L.; BERNARDINO, M. J.; MOUCO, G. – **Controle de qualidade de ervas medicinais** – Revista Biotec. Ciência e Desenvolvimento. - nº 31 – 2003

COSTA, V. R.; COSTA, E. V. – **Biologia: ensino médio** / Organização e seleção de textos 125 p (coleção explorando o ensino; v. 6) Ministério da educação, Secretaria de Educação Básica, 2006.

CHUNG K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G.; **Trends Food sci. Technol.** 1998.

CHENG, Z. Y.; XUE Q. Z., **The structure and regulation of plant proteinase inhibitor genes and their strategy in pest control:** Yi Chuan Xue Bao, v. 30, p. 790-6. 2003

DELFINO, R. A.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. – **Interação de polifenóis e proteínas e o efeito na digestibilidade proteica de feijão comum (*Phaseolus vulgaris L*) cultivar pérola** – Rev. Ciencia e Tecnologia dos alimentos -Campinas - SP – 2010

DELLEDONNE, M.; ALLEGRO, G.; BELENGHI, B.; BALESTRAZZI, A.; PICCO, F.; LEVINE, A.; ZELASCO, S.; CALLIGARI, P.; CONFALONIERI, M. - **Transformation of white poplar (*populus alba L*) with a novel *Arabidopsis Thaliana* cysteine proteinase inhibitor and analysis of insect pest resistance.** Molecular Breeding, v. 7, p. 35-42, 2001

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. – **Propriedades dos antioxidantes de compostos Fenólicos** – Rev. Visão Acadêmica, v. 5, n. 1, Jun/ 2004

EVANGELISTA, J. - **Tecnologia de Alimentos**; ED ATHENEU, 2008

FIB - FOOD INGREDIENTES BRASIL - **Alimentos vs. Doenças** – São Paulo, SP – Revista nº 12, p. 18-33 – Fevereiro/Março – 2012

FREITAS, D. G.C., SOARES, A.G. FONSECA, M. J. O, NEVES JR., A. C. V. CONEGLIAN R. C. C.- **Metodologia de Detecção da Adstringência em Frutos de Caqui para Determinação do Tempo de Destanização**, Comunicado Técnico 147 – EMBRAPA – RJ, Rio de Janeiro, 2009

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. – **Tecnologia de Alimentos: Principios e aplicações**. Ed. NOBEL São Paulo -,2008

GILANI, G.S; COCKELLL K.C; SEPEHR E. - **Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods.** J AOAC INT. 2005.

GIBNEY, M.J.; VORSTER, H.H.; KOK, F.J. – **Introdução à nutrição humana** – ED NUTRITION SOCIETY - GRÃ-BRETANHA – 2005

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P.- **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** Quim. Nova, vol. 30, no. 2, 374-381, 2007

GUZMÁN-MALDONADO SH; ACOSTA-GALLEGOS J, PAREDES - LÓPES O. **Protein and mineral content of a novel collection of wild and weed common bean (*Phaseolus vulgaris L*).** JSCI FOOD AGRIC. 2000

HANSEN, G.; WRIGHT, M.S.- **Recent advances in the transformation of plants.** Trends in plant science, v. 4, p.226-231, 1999

HELENA, R. D. S. - **Estudo cinético e termodinâmico da utilização do tanino de Acácia negra (*Acacia mernsii*) na remoção de metais nobres para o processo de reciclagem de placas de circuito impresso** – PUCRS – Porto Alegre – Ago/2009.

JOSÉ, M. O. M. A. - **Inibidores de proteinase do tipo bowman-birk: evolução molecular, expressão na superfície de fagos filamentosos e seu papel na interação planta-inseto** – USP – Piracicaba – Out/2002

JOSÉ, M.O.M.A. - **Inibidores de proteinase do tipo Bowman-Birk: Evolução molecular, expressão na superfície de fagos filamentosos e seu papel na interação planta-inseto.** Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba – Out./2002

KAVALALI, G. – **Hypoglycemic activity of urtica pilulifera in streptozotocin diabetic rats.** Journal of Ethnopharmacology, v. 84, p. 241-245 – Feb, 2003

LABANCA, E.R.G.- **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*).** Dissertação de mestrado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP – Piracicaba-SP, 2002

LASKOWSKI M, QASIM MA - **What can the structures of enzyme-inhibitor complexes tell us about the structures of enzyme substrate complexes?** Biochim Biophys Acta 1477(1-2):p. 324-37. 2000,

LE COUTEUR, P.; BURRESON, J - **Os botões de Napoleão: as 17 moléculas que mudaram a história** – Rio de Janeiro: Jorge Zahar Ed., 2006

LIMA, T. A. - **Caracterização de compostos nutricionais e antinutricionais em taiobas (*Xanthosoma schott*)** – UNB – 2009

LOPES, J. L. S. - **Purificação e investigação das propriedades físico-químicas de inibidores de proteases extraídos de sementes de *Acacia plumosa lowe*** – USP – São Carlos – 2006

MARA L. L. - RIBEIRO, E.I.I.; OLIVEIRA, M. C. N. - **Efeito da germinação de soja cv. br-13 e paraná sobre ácido fítico, fósforo total e inibidores de tripsina** - Pesq. Agropec. Bras., v.34, n.1, p.31-36, Brasília, Jan. 1999

MARTINS G.V.F. - **Avaliação do potencial citotóxico das lectinas de *canavalia ensiformis*, *canavalia brasiliensis* e *cratylia floribunda*** – Tese de mestrado – UFPB – João Pessoa, 2009

MARASCHIN, M., VERPOORTE, R. – **Engenharia do Metabolismo secundário: Otimização da produção de metabolitos secundários em culturas de células vegetais** – Rev. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, v. 03, p. 24-28, Rio de Janeiro-RJ, 2011

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. – **Bioquímica básica** – 3 ed.– Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro - RJ, 2007.

MIZUBUTI, I. Y., IDA, E. I - **Constituintes antinutricionais e seus efeitos indesejáveis na alimentação.** Semina: Ci. Agr. Londrina, v. 20 n. 01, p. 107-112, Março, 1999

MIWA, M. - **Taninos.** Rev. Adega Ed. 43 (5/2009) – Maio/2009

MCGUIRE, J. J. - **Anticancer antifolates: current status and future directions** - Curr pharm des, v. 9, p. 2593-613. 2003

MECHI, R; CANIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. – **Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*phaseolus vulgaris L.*) irradiado** – Ciência e tecnologia dos alimentos, Campinas-SP, 2005

MELO, E.B; BRUNI, A. T.; FERREIRA, M. M. C. - **Inibidores da HIV - integrase: potencial abordagem farmacológica para tratamento da AIDS.** – Química Nova, vol 29 n° 3, 555-562, 2006

MENDES, F.Q; OLIVEIRA, M. G. A.; CARDOSO, L. R; COSTA. N.M.B.; SANT'ANA, R.C.O. **Digestibilidade protéica e caracterização bromatológica de linhagens de soja com ausência ou presença do inibidor de tripsina kunitz e das isozimas lipoxigenases.** Biosci. j., Uberlândia – MG, 2007

MENDES, L. M.; TRUGILHO, P. F.; CAIXETA, R.P.; LIMA, J. T. - **Avaliação do conteúdo em taninos condensados de algumas espécies típicas do cerrado mineiro** – CERNES – Universidade Federal de Lavras – 1997.

MONTEIRO, M. R. P. **Avaliação da Digestibilidade protéica de genótipos de soja com ausência e presença do inibidor de tripsina Kunitz e lipoxigenases.** Braz. J. Food Technol., v.6, n.1, p.99- 107, 2003.

MOREIRA, R.A. – **Plant lectins, chemical and biological aspects.** Memórias do instituto Oswaldo Cruz, v. 86, Rio de Janeiro, OCT. 1991

MORA, A. L., HIGA, A. R., HIGA, R. C. V., SIMON, A. A. - **Melhoramento genético para a produção de tanino no Brasil** - AINFO.CNPTIA.EMBRAPA.BR – 2001

NELSON, D. L., COX, M. M. – **Princípios de Bioquímica de Lehninger** – 5 ed.- Ed. Artmed – Porto Alegre-RS, 2011.

NOZAKI, V.T.; - **Potencial nutricional da amêndoa e da polpa da guarirova, *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.** Dissertação de Doutorado – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – Campo Grande, 2012

NUNES, C.R., BERNARDES, N. R., GLORIA, L. L., BARBOSA, J. B. PEREIRA, S. M. F., OLIVEIRA, D.B. - **Atividade antioxidante e o teor de taninos e fenóis totais dos frutos de *Annona muricata L.*** - VÉRTICES, Campos dos Goytacazes/RJ, v.15, n. 3, p. 93-110, set./dez. 2013.

OLIVA, M.L.V. - **Novel subclassification for kunitz protease inhibitors from leguminous seeds**, BIOCHIMIE, DOI:10.1016/J.BIOCHI.2010.03.021. 2010.

OLIVEIRA, C. F. R; MACEDO, M. L. R - **Emprego de inibidores de protease vegetais como ferramenta biotecnológica alternativa no controle de pragas** – Perspectiva online, sser.perspectivas.com.br, vol. 1, n 1, 2011

PENHA, L. A. O; FONSECA, I. C B. F.; MANDARINO, J. M.; BENASSI, V. T. - **A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico** – B. CEPPA., v 25, n. 1 Curitiba – JAN/JUN 2007

PEREIRA, S. F. - **Caracterização dos efeitos biológicos das lectinas de *canavalia brasiliensis* e de *canavalia ensiformes* em preparações do sistema nervoso central e em células tumorais** – Tese de mestrado - UFSC - 2005

PEREIRA, C. A., CORREA, A. D., SANTOS, C. D. ABREU, C. M. P, SOUZA, R. V, MAGALHÃES, M. M. - **Hemaglutinina 900 de folhas de mandioca (*manihot esculenta crantz*): purificação parcial e toxicidade** - Ciênc. agrotec., Lavras, v. 32, n. 3, p. 900-907, maio/jun., 2008

PEREIRA, R. J; CARDOSO, M G. – **Metabólicos secundários vegetais e benefícios antioxidantes** – J. biotec. biodivers. v.3, n. 4: p 146-152, Nov. 2012

PERONA, J. J.; CRAIK, C. S. - **Structural basis of substrate specificity in the serine proteases**. Protein Science, v. 4, n. 3, p. 337-360, Mar. 1995.

PERES, P. E. C. – **Efeito do pmsf na incorporação de flúor e remineralização do esmalte dental** – UNICAMP – Piracicaba-SP, 1997

PEUMANS, W.J.; DAMME, E.J.M.van – **Plant lectins: versatile proteins with important perspectives in biotechnology**. *Biotechnology and genetic engineering Reviews*, v. 15, n. 4, p. 199-227, 1998.

POVINELI, K. L.; FINARDI FILHO, F., - **As múltiplas funções das lectinas vegetais**. *Nutrire; rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc Food Nutr.*, São Paulo, SP. , v.24, p.135-156, dez., 2002

PRICE, M.L.; HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. **Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeon peas, and human mung beans**. *J. Agric. Food Chem.*, v. 28, n. 2,p. 459-461, 1980.

PRYME, I. F.; BARDOCZ, S.; PUSZTAI, A.; EWEN, S. W.; PFÜLLER, U. - **A mistletoe lectin (ml-1)-containing diet reduces the viability of a murine non-hodgkin lymphoma tumor**. *Câncer detection and prevention*, v. 28, p. 52-56, 2004.

RAMOS, L. S. N - **Polpa de caju (*anacardium occidentale l.*) desidratada na alimentação de frangos de corte: metabolizabilidade, desempenho e características de carcaça** – Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí.Teresina-PI, 2005.

REED JD.- **Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes**. *J ANIM SCI*.1995

RIBEIRO, C. – **Análise de padrões de interação entre serino proteases e seus inibidores protéicos** – universidade federal de minas gerais – Belo Horizonte, 2009

ROCHA, W. S., LOPES, R. M., SILVA, D.B., VIEIRA, R. F., SILVA, J. P., AGOSTINE-COSTA, T. S.; **Compostos fenólicos totais e taninos em frutas do cerrado**. *Rev. bras. Frutic.*, , v. 33, n. 4, p. 1215-1221, Jaboticabal – SP, Dez/ 2011

RIBEIRO, S.P.; FERNANDES, G.W – **Interações entre insetos e plantas no cerrado: teoria e hipóteses de trabalho**; Série *Oecologia brasiliensis*, vol vii. PPGE-UFRJ – Rio de Janeiro/ 2000

SANTANA, M.A – **Isolamento, propriedades bioquímicas e estudos biológicos da lectina de sementes da *macrotyloma axillare*** – Universidade Federal de Ouro Preto – Ouro Preto, 2004

SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários**. in: Simões,C.M.O *et al. farmacognosia: da planta ao medicamento*. Universidade/UFRJ/EDDA/UFSC Porto Alegre, 1999.

SANTOS, S.C.; MELLO, J.C.P. - **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. p. 615-656, Florianópolis/Porto Alegre: UFSC e UFRGS, 1999

SANTOS, M. A. T. - **Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócoli, couve-flor e couve** - Ciênc. Agrotec., Lavras.30, n2 p.94-301, Mar, 2006

SANYAL, R., - **Inhibition of the genotoxic effects of heterocyclic amines in human derived hepatoma cells by dietary bioantimutagens**. Mutagenesis, v. 12, p. 297-3003, 1997

SEM lentilhas no ano novo! Porque ser cauteloso com as leguminosas (on line), 2014 – Disponível em : <http://primalbrasil.com.br/sem-lentilhas-no-ano-novo-porque-ser-cauteloso-com-as-leguminosas/> Acesso em : 11 Nov 2014

SILVA, M. R; SILVA, M. A. A. P. - **Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas**. Revista Nutrição, 13(1): 3-9, Jan./ 2000

SILVA, E.M. – **Ação inibitória de extratos de plantas do cerrado sobre α -amilases com ênfase em kielmeyeracoriacea** – UNB, Brasília-DF, 2008

SILVA, R. A da; REIS, V. M; BALDANI, J. I; OLIVARES, F. L. – **Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos – seropédica**: Embrapa agrobiologia, p. 49, documento 250, 2008

SILVA, T.C.C.; NUNES DA SILVA, V.L.; BERTOLDO PACHECO, M.T.; BERNARDES, C.F.- **Fatores antinutricionais da soja: inibidores de tripsina** – 49º Congresso brasileiro de Química – Porto Alegre – RS, 2009.

SILVA, G. M.; **Potencial Antioxidante dos frutos do Cerrado e do Pantanal, no estado de Mato Grosso do Sul** – Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – Campo Grande, 2010

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F; PASCHOLATI, S.F. – **A defesa vegetal contra fitopatógenos** – ver. Scientia Agraria Paranaensis, v. 10 n. 1 – 2011

TREMACOLDI, C R. – **Proteases e inibidores de proteases na defesa de plantas contrapragas** – EMBRAPA – DOCUMENTO 353 – JUN 2009

VASCONCELOS, I.M; OLIVEIRA, J.T – **Antinutritional properties of plant lectins** *toxicol* 44(4): 385-403 - 2004

VERZA, S. G. - **Avaliação das variáveis analíticas dos métodos de determinação do teor de taninos baseados na formação de complexos com substâncias protéicas e derivados da polivinilpirrolidona** – UFRS – Porto Alegre / 2006

VIANA, F. C., SANTANA, A. C. M., MOURA, R. M. X. - **Identificação fitoquímica de flavonóides e taninos em folhas de pitanga (eugenia uniflora l.) utilizadas tradicionalmente na região sul da Bahia – InterPHases Informações Farmaceuticas – V. 1, p. 28-37, FACSUL/UNIME- Itabuna, BA - 2012**

VICKERY, M. L. E.; VICKERY, B. - **Secondary plant metabolism**, The macmillan press ltd: London, 1981.

VIZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. - **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**; Documento 316, EMBRAPA Clima Temperado, Nov. 2010

ZARDO, D. M. – **Avaliação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante em maçãs e seus produtos** – Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Ponta Grossa – Ponta Grossa-PR - 2007