



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE PROTEÍNA ISOLADA DE ERVILHA NO PERFIL
DE AMINOÁCIDOS PLASMÁTICOS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS: UM ENSAIO
CLÍNICO RANDOMIZADO**

COORDENADORA

Profa. Dra. Francilene Gracieli Kunradi Vieira

PARTICIPANTES

Suellen Guesser Homem, Doutoranda PPGN/UFSC

Prof. Dr. João Borges Laurindo, PPGEAL/UFSC

FLORIANÓPOLIS

2025

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 JUSTIFICATIVA	15
4 MÉTODOS	16
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	16
4.2 PARTICIPANTES	16
4.3 GRUPOS DE ESTUDO, ALOCAÇÃO E RANDOMIZAÇÃO	17
4.4 TAMANHO AMOSTRAL	17
4.5 CARACTERIZAÇÃO DA INTERVENÇÃO NUTRICIONAL	17
4.6 PROTOCOLOS DA PESQUISA	20
4.7 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS	20
4.7.1 Avaliação antropométrica e estado nutricional	20
4.7.2 Avaliação do consumo alimentar	21
4.7.3 Avaliação da qualidade proteica	22
4.7.3.1 Determinação do escore químico de AA	22
4.7.3.2 Digestibilidade proteica <i>in vitro</i> (DPIV)	22
4.7.4 Procedimentos bioquímicos	23
4.7.4.1 Aminoácidos plasmáticos	23
4.7.4.2 Glicose e Insulina	24
4.7.4.3 HOMA-IR	24
4.7.4.4 Marcadores inflamatórios	24
4.7.4.5 Perfil lipídico	25
4.7.5 Tratamento e Análise dos dados	25
4.8 CRITÉRIOS ÉTICOS DE PESQUISA	26
5 CRONOGRAMA	27
6 ORÇAMENTO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
APÊNDICES	36

1 INTRODUÇÃO

O consumo de proteínas vegetais tem ganhado cada vez mais destaque, impulsionado pela crescente demanda por alternativas alimentares mais sustentáveis. A busca por reduzir o impacto ambiental da produção de proteínas animais tem favorecido a aceitação das fontes vegetais, que são vistas como opções éticas e ambientalmente responsáveis (BATISTA et al., 2019; YULIARTI; KIAT KOVIS; YI, 2021). No entanto, as proteínas vegetais frequentemente são debatidas por questões relacionados à sua digestibilidade, biodisponibilidade, conteúdo de aminoácidos (AA) e sua propriedade anabólica, devido suas propriedades funcionais e presença de fatores antinutricionais (FAN) que podem interferir na absorção de nutrientes essenciais (ASCHEMANN-WITZEL et al., 2021).

Embora haja controvérsias sobre os valores de digestibilidade das diversas fontes proteicas vegetais em humanos, com variações consideráveis entre os estudos para uma mesma fonte, pesquisas indicam que a digestibilidade das proteínas vegetais é semelhante à das fontes animais (TOMÉ; 2013; HUANG et al., 2018; ADHIKARI et al., 2022). Além disso, estudos que analisaram a cinética pós-prandial das proteínas vegetais em humanos indicam que elas apresentam bioequivalência em relação às proteínas de origem animal (BOS et al., 2005; GUILLIN et al., 2022; ROELOFS et al., 2024). Embora possa haver diferenças na elevação de AA plasmáticos após a ingestão, as taxas de síntese proteica muscular (SPM) não variam significativamente entre as fontes proteicas analisadas, indicando que as proteínas vegetais podem ser eficazes para estimular a síntese proteica, mesmo que seus efeitos não sejam totalmente compreendidos (PINCKAERS et al., 2022, 2024; SALLES et al., 2024).

A substituição de proteínas animais por vegetais tem sido associada à redução do risco de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 (DM2) e mortalidade geral (MARIOTTI, 2019; SHANG et al., 2016; THARREY et al., 2018; NEUENSCHWANDER et al., 2023). Esse efeito pode estar relacionado ao perfil nutricional dos alimentos vegetais ricos em proteína (GU et al., 2023; HALL; HILLEN; GARDEN ROBINSON, 2017). Estudos populacionais também mostraram melhora nos fatores de risco cardiometabólicos e menor mortalidade ao substituir proteínas de carne vermelha ou processada por vegetais (LEE et al., 2023; BUDHATHOKI et al., 2019). No entanto, os efeitos das proteínas vegetais sobre a síntese muscular e o metabolismo de AA ainda são pouco explorados (VAN VLIET; BURD; VAN LOON, 2015).

Além de fornecer AA essenciais (AAE), as proteínas vegetais têm sido associadas a efeitos benéficos adicionais à saúde. No entanto, a maioria das evidências disponíveis em

estudos com humanos concentra-se na proteína de soja. Esses estudos demonstraram efeitos benéficos no metabolismo da glicose, na redução do colesterol plasmático e na melhora de marcadores inflamatórios em pacientes com diabetes tipo 2, especialmente quando comparada à ingestão de proteínas de origem animal ou à ausência de suplementação proteica (HOIE et al., 2007; AZADBAKHT; ATABAK; ESMAILLZADEH, 2008; MATTHAN et al., 2008; KWAK et al., 2010; KASHIMA et al., 2016).

Todas as fontes de proteína possuem potencial alergênico. No entanto, a proteína de ervilha destaca-se como uma alternativa promissora devido ao seu baixo potencial alergênico, especialmente em comparação com outras proteínas vegetais, como as da soja e do trigo, que apresentam respostas alergênicas bem documentadas. Por essa razão, a proteína de ervilha tem ganhado espaço na indústria alimentícia como um ingrediente proteico para substituir proteínas de origem animal (HERTZLER et al., 2020; MOLL et al., 2023). Nesse contexto, a proteína isolada de ervilha parece ser uma boa opção para substituir o isolado proteico do soro do leite, por ser uma fonte alternativa de proteína acessível com alto valor nutricional, alto teor de proteína e AAE e versátil como fonte alimentar sustentável, nutritiva e com baixo teor de alérgenos (LAM et al., 2018; LU et al., 2020; AN et al., 2024).

A proteína da ervilha é caracterizada pela sua elevada digestibilidade, sendo sua digestibilidade *in vitro* altamente influenciada pelo processamento e pelo pH (MA; BOYE; XINZHONG, 2017; LAGUNA et al., 2017; JIMÉNEZ-MUNOZ et al., 2023). As condições de processamento, afetam significativamente não apenas a sua digestibilidade, mas também suas propriedades físicas e químicas, como hidratação e características reológicas (LU et al., 2020; MA et al., 2022).

As ervilhas possuem quantidades elevadas de proteína bruta na matéria seca, variando de 20 a 40 % (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010; SHEVKANI et al., 2015; LU et al., 2020). Elas podem ser utilizadas tanto na forma de grãos, como em farinhas moídas, ou como ingredientes proteicos enriquecidos, tais como concentrados proteicos (50% a 55% de proteína) e isolados proteicos (80% a 90% de proteína) (BARAC et al., 2015). Contudo, para que as proteínas vegetais comercialmente disponíveis atinjam concentrações elevadas no produto final, elas passam por uma série de etapas de processamento, que incluem purificação ou isolamento a partir de tecidos vegetais (MOLL et al., 2023). Conforme alguns autores, o isolado de proteína de ervilha pode apresentar teores de proteína variando de 67 a 89,6 % (TÖMÖSKÖZI et al., 2001; POWNALL; UDENIGWE; ALUKO, 2010; BARAC et al., 2015; GORISSEN et al., 2018; GAO et al., 2020; MOLL et al., 2023; GOLOVKO et al., 2023).

Estudos *in vitro* indicam que a proteína de ervilha, nas formas concentrada, isolada ou hidrolisada, apresenta diversas propriedades benéficas, incluindo atividades antioxidantes, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, redutoras de colesterol e moduladoras da microbiota intestinal (SUN; XIONG, 2015; LIAO et al., 2019; GE et al., 2020). Além disso, pode contribuir para o controle do diabetes tipo 2, por sua capacidade de reduzir a absorção e concentração de glicose, além de estimular a liberação de hormônios relacionados à saciedade (TULBEK et al., 2017). Embora esses achados derivem de modelos laboratoriais, sugerem um potencial promissor da proteína de ervilha na promoção da saúde humana.

Complementando essas evidências preliminares, uma revisão sistemática conduzida por Lonnie et al. (2020) reuniu 26 estudos clínicos sobre o consumo de proteínas vegetais e seus efeitos sobre a saúde, dos quais 16 envolveram a proteína de ervilha. A maioria desses estudos demonstrou efeitos positivos sobre o controle glicêmico, a pressão arterial, a saúde cardiovascular, a composição corporal e a função muscular, especialmente quando comparada à ausência de suplementação proteica ou ao controle basal. Esses dados reforçam o papel da proteína de ervilha como uma aliada na prevenção de doenças crônicas e na promoção de um estado metabólico mais saudável (DAHL; FOSTER; TYLER, 2012; LI et al., 2011).

No contexto da saúde muscular, estudos de intervenção indicam que a suplementação com proteína de ervilha pode ter efeitos comparáveis à proteína do soro de leite, especialmente em indivíduos iniciantes em programas de treinamento. Em um estudo com homens jovens, a ingestão de 25 g de proteína de ervilha duas vezes ao dia, durante 12 semanas de treinamento resistido, levou a um aumento significativo na espessura muscular, com resultados semelhantes aos obtidos com o soro de leite (BABAULT et al., 2015). De forma semelhante, Banaszek et al. (2019) mostraram que, em um programa de treinamento funcional, a proteína de ervilha foi tão eficaz quanto o soro na manutenção da composição corporal e do desempenho físico.

Ainda que o soro de leite resulte em maiores concentrações plasmáticas de aminoácidos após a ingestão, estudos clínicos recentes não observaram diferenças na ativação da via anabólica mTORC1 ou na taxa de síntese proteica entre as fontes proteicas. Isso foi evidenciado por Lanng et al. (2023), em um estudo com homens jovens que comparou soro, ervilha e grilo, e por Lefranc-Millot et al. (2024), que avaliou homens jovens e idosos após a ingestão das proteínas como parte de uma refeição padronizada. Esses achados são corroborados por Loureiro et al. (2023), que investigaram o efeito da suplementação com proteína de ervilha ou soro de leite em atletas de futebol, e não encontraram diferenças significativas em parâmetros bioquímicos e metabólicos até 72 horas após o esforço. Da mesma forma, McKendry et al. (2024) mostraram que, em homens idosos, a suplementação com

proteína de ervilha e soro de leite durante 7 dias promoveu aumento na síntese proteica muscular, melhora da sinalização anabólica (mTORC1 e rpS6) e maior aminoacidemia pós-prandial, ao passo que o colágeno não apresentou os mesmos efeitos.

Dados atuais indicam que a proteína de ervilha, além de apresentar efeitos metabólicos benéficos, é uma alternativa viável ao soro de leite na promoção da saúde muscular. Embora os efeitos anabólicos dessa proteína ainda não sejam completamente compreendidos, ela tem se mostrado eficaz na manutenção da massa e função muscular (HERTZLER et al., 2020). Esse potencial faz com que as proteínas vegetais, especialmente a proteína de ervilha, se tornem cada vez mais populares, impulsionadas por mudanças no estilo de vida, questões éticas e religiosas, preocupações com a sustentabilidade ambiental e o aumento de alergias e intolerâncias alimentares (ATALAR et al., 2021; LÓPEZ-MARTÍNEZ; MORENO-FERNÁNDEZ; MIGUEL, 2021; MOSS et al., 2023).

Apesar de a proteína de soja já ter sido amplamente estudada, ainda há uma lacuna significativa no entendimento sobre os efeitos da proteína isolada de ervilha na saúde. Uma das abordagens para investigar esses efeitos é a análise da resposta metabólica pós-prandial, já que os níveis de glicose e lipídios plasmáticos após as refeições são fatores de risco independentes para doenças cardiovasculares (WELBORN; WEARNE, 1979; CERIELLO, 2005; NORDESTGAARD et al., 2007; NORDESTGAARD; LANGSTED; FREIBERG, 2009; NELSON, 2012). Portanto, estudos que avaliem o impacto de diferentes fontes proteicas na modulação do perfil metabólico pós-prandial são fundamentais para compreender melhor seus efeitos na saúde.

Sendo assim, com o objetivo de aprofundar a compreensão dos efeitos pós-prandiais da proteína isolada de ervilha, pretende-se conduzir um ensaio clínico randomizado com indivíduos saudáveis, comparando os efeitos do consumo agudo de proteína isolada de ervilha com a do soro de leite, com o objetivo de avaliar o efeito do consumo agudo da proteína isolada de ervilha sobre o perfil de AA plasmáticos em indivíduos saudáveis antes e após a ingestão, além de respostas pós-prandiais de outros metabólitos e marcadores de risco cardiovascular. Os resultados obtidos ajudarão a avaliar a adequação da proteína isolada de ervilha como ingrediente nutricional. Embora os efeitos anabólicos da proteína isolada de ervilha ainda careçam de mais estudos, seu potencial como alternativa nutricional eficaz e promissora reforça a importância de mais investigações sobre seus impactos na saúde humana.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do consumo agudo, a partir de uma intervenção alimentar única, da proteína isolada de ervilha sobre o perfil de aminoácidos plasmáticos em indivíduos saudáveis, antes e após a ingestão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a caracterização química em relação ao teor de AAs e digestibilidade *in vitro* da proteína isolada de ervilha;
- Caracterizar os indivíduos no M0;
- Avaliar o efeito do consumo agudo da proteína isolada de ervilha:
 - No perfil de AA plasmáticos, insulina e glicose séricos;
 - No perfil de Lipídios Pós-prandiais e Marcadores Inflamatórios
 - Área incremental sob a curva (iAUC) para cada sujeito e tratamento
 - Verificar associação entre estado nutricional e perfil de AA plasmáticos

3 JUSTIFICATIVA

Este estudo se justifica pela crescente busca por alternativas alimentares sustentáveis e pela demanda por fontes de proteína vegetal com benefícios nutricionais comparáveis às proteínas de origem animal. A proteína isolada de ervilha se destaca como uma opção promissora devido ao seu baixo potencial alergênico, alto valor nutricional e versatilidade na indústria alimentícia. Embora existam evidências sobre seus efeitos no controle glicêmico e na saúde cardiovascular, ainda são poucos os estudos que investigam seus impactos na síntese muscular e no metabolismo de aminoácidos.

A realização deste estudo é necessária para avaliar os efeitos pós-prandiais da proteína isolada de ervilha, comparando-a com o soro de leite. A análise do perfil de aminoácidos plasmáticos e outros marcadores metabólicos contribuirá para uma compreensão mais profunda dos efeitos dessa proteína na saúde humana, além de apoiar sua avaliação como uma alternativa sustentável e eficaz às proteínas de origem animal.

Espera-se que os resultados do estudo demonstrem a qualidade proteica da proteína isolada de ervilha e sua adequada utilização pelo organismo, consolidando-a como uma opção relevante para suplementação nutricional. Além disso, os achados poderão servir como base para futuras investigações sobre os efeitos do consumo prolongado dessa proteína, ampliando o conhecimento sobre seu potencial nutricional e terapêutico a longo prazo.

4 MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Ensaio clínico randomizado controlado, aleatorizado, cruzado, duplo-cego (HOCHMAN et al., 2005; HULLEY et al., 2015). Após o atendimento aos requisitos éticos (detalhados posteriormente), os ECRs propostos serão registrados na plataforma de Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (REBEC). A descrição dos materiais e métodos desses ensaios clínicos seguem as orientações preconizadas pelo checklist *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) (SCHULZ et al., 2010).

4.2 PARTICIPANTES

O estudo será conduzido com indivíduos adultos e idosos, de ambos os sexos, saudáveis, que serão recrutados de forma aleatória, selecionados em centros de saúde, centros comunitários ou por meio de divulgação pessoal e digital e os participantes serão pareados em sexo, idade e IMC. Os participantes da pesquisa serão adultos e idosos, de ambos os sexos, saudáveis, recrutados entre os interessados que atenderem aos critérios de inclusão. A divulgação do estudo ocorrerá em centros de saúde, centros comunitários e por meios digitais (como redes sociais, aplicativos de mensagens e e-mails), além de divulgação presencial por meio de cartazes e folders informativos nos locais mencionados.

Os indivíduos que demonstrarem interesse serão inicialmente contatados para uma etapa de triagem, com o objetivo de verificar o cumprimento dos critérios de inclusão e exclusão definidos no protocolo. Aqueles que forem considerados elegíveis serão convidados a participar formalmente da pesquisa.

Entre os elegíveis, será realizada uma randomização para alocação nos grupos do estudo, conforme a necessidade amostral, garantindo a aleatoriedade da distribuição e minimizando possíveis vieses de seleção. Os participantes randomizados serão posteriormente pareados por sexo, faixa etária e índice de massa corporal (IMC), a fim de manter a homogeneidade entre os grupos e favorecer a comparabilidade dos resultados.

4.3 GRUPOS DE ESTUDO, ALOCAÇÃO E RANDOMIZAÇÃO

Os participantes foram randomizados de modo a receber duas intervenções alimentares: intervenção com proteína isolada de ervilha (GPE) e intervenção com proteína isolada do soro do leite (GSL). Serão incluídos indivíduos adultos e idosos (idade ≥ 19 anos) saudáveis. Serão excluídos os portadores de qualquer processo inflamatório, doenças pulmonares, cardiovasculares, degenerativas, neurológicas, reumáticas, câncer, DM, fumantes, etilistas, gestantes, em uso de medicamentos ou algum tipo de suplemento alimentar nas últimas 4 semanas antes da coleta de dados ou presença de alergia ou intolerância à intervenção. Apenas serão incluídos os indivíduos que aceitarem participar do estudo através da anuência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APENDICE A).

Os participantes do estudo serão alocados por amostragem aleatória simples, por meio do software online *Research Randomizer* (<http://www.randomizer.org/>). A randomização será conduzida por um pesquisador que não participará da análise dos dados. A alocação será oculta e os participantes permanecerão cegos quanto ao tipo de intervenção consumida.

4.4 TAMANHO AMOSTRAL

O cálculo do tamanho amostral foi realizado com base na fórmula proposta por Browner, Newman e Hulley (2008) para comparação de médias em estudos com medidas pareadas. Considerou-se um poder estatístico de 80%, nível de significância bilateral de 5% e acréscimo de 20% para possíveis perdas amostrais. Foram utilizados como referência dados de estudos prévios com delineamento semelhante (HEIJDEN et al., 2024; SALLES et al., 2024), nos quais uma diferença de 100 $\mu\text{g/mL}$ no valor de pico foi considerada clinicamente relevante para o desfecho de disponibilidade pós-prandial de aminoácidos livres totais no soro, após a ingestão de produtos proteicos. Com base nesses parâmetros, o cálculo indicou a necessidade de 23 participantes. Após o ajuste para perdas, estimou-se uma amostra final de 28 indivíduos.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DA INTERVENÇÃO NUTRICIONAL

Os participantes serão orientados a consumir uma intervenção única de 30 g de proteína isolada de ervilha ou de proteína isolada do soro do leite. Após um período de *washout* de sete dias, será realizada a troca das intervenções, de modo que cada participante receba ambas as

suplementações em momentos distintos do estudo. Ambas as intervenções serão fornecidas na forma de pó, sem adição de sabores, e diluídas em água à temperatura ambiente.

Essas matérias-primas alimentares são consideradas um suplemento alimentar conforme Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 243 de 2018 (ANVISA, 2018). As características nutricionais da proteína isolada de ervilha e proteína isolada do soro do leite utilizadas para a intervenção, ambas da marca *Growth Supplements*[®], encontram-se apresentadas na Tabela 1.

De acordo com os rótulos dos produtos, para alcançar 30 g de proteína serão necessários 39g de produto da proteína de ervilha e 33g de produto da proteína do soro do leite.

A escolha da dose de 30 g foi definida após considerar estudos que demonstraram que cerca de 20 a 35 g de proteína por refeição são necessários para promover uma elevação nas concentrações plasmáticas máximas pós-prandiais de AAT e AAE em indivíduos saudáveis (PINCKAERS et al., 2021; PINCKAERS et al., 2022; VAN DER HEIJDEN et al., 2024).

Tabela 1. Composição nutricional das proteínas isolada de ervilha e do soro do leite (*Growth Supplements*®) (30g).

<i>Nutrientes</i>	<i>Proteína isolada de ervilha</i>	<i>Proteína isolada do soro do leite</i>
Valor energético (kcal)	101	112
Carboidratos (g)	0	1
Proteínas (g)	23	27
Ácido aspártico (mg)	2630	2580
Ácido Glutâmico (mg)	3894	4050
Alanina (mg)	1110	1260
Arginina (mg)	1780	520
Cisteína (mg)	450	650
Fenilalanina (mg)	1260	820
Glicina (mg)	920	450
Histidina (mg)	640	380
Isoleucina (mg)	900	1620
Leucina (mg)	1930	2840
Valina (mg)	1090	1530
Lisina (mg)	1720	2550
Metionina (mg)	370	630
Prolina (mg)	1290	1680
Serina (mg)	1190	1290
Tirosina (mg)	900	810
Treonina (mg)	1020	2280
Triptofano (mg)	240	480
Gorduras totais (g)	1	0
Gordura saturada (g)	0,3	0
Fibra alimentar (g)	1,1	0

Fonte: Rótulos dos produtos.

4.6 PROTOCOLOS DA PESQUISA

O convite para participação no estudo será realizado de forma presencial, virtual ou por telefone, com a verificação prévia dos critérios de elegibilidade. Caso os critérios de inclusão sejam atendidos, o convite será formalizado, acompanhado de uma explicação detalhada sobre os objetivos, procedimentos e implicações do estudo. Mediante a concordância do voluntário, será agendado um dia e horário para a realização da coleta, com todas as orientações necessárias para o comparecimento.

Após o aceite, os participantes serão submetidos a uma entrevista presencial para confirmação dos critérios de elegibilidade. Em seguida, preencherão um questionário contendo informações sobre histórico médico, hábitos de vida (como tabagismo e prática de atividade física), alergias, peso corporal e altura, conforme previamente estabelecido (APÊNDICE B).

No dia pré-agendado, os voluntários serão encaminhados ao Laboratório de Pesquisa em Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose do Departamento de Análises Clínicas da UFSC, após um jejum noturno de pelo menos 8 horas, para a coleta de amostras de sangue da linha de base (M0). Após a coleta inicial, os participantes serão orientados a consumir, em até 5 minutos, a intervenção com proteína isolada de ervilha ou do soro do leite, conforme previamente descrito. Em seguida, serão obtidos dados de caracterização da amostra, como avaliação nutricional e do consumo alimentar.

Novas coletas de sangue ocorrerão em 60 (M1), 120 (M2), 180 (M3), 240 (M4) e 300 (M5) minutos após a ingestão da proteína isolada de ervilha ou do soro do leite, enquanto os indivíduos permanecerão em repouso durante todo o período. As amostras biológicas serão coletadas por profissionais especializados em todos os momentos do estudo (M0, M1, M2, M3, M4 e M5).

Os dias de teste serão separados por pelo menos 7 dias para permitir a digestão, absorção e metabolismo completos das proteínas de teste e o retorno aos hábitos alimentares habituais.

4.7 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

4.7.1 Avaliação antropométrica e estado nutricional

As medidas antropométricas serão mensuradas pela doutoranda responsável utilizando aparelhos portáteis específicos calibrados para minimização de erros emprestados do

Laboratório de Antropometria do Centro de Ciências da Saúde da UFSC para caracterização da amostra.

Serão mensurados peso e altura para a determinação do IMC. Para aferição da altura será utilizado um estadiômetro portátil com escala de precisão de 0,1 cm e campo de uso de 0,35 a 2,13 m (Alturaexata®, Belo Horizonte, MG, Brasil). O participante estará descalço com o peso distribuído entre os pés, braços pendentes ao lado do corpo, com olhar para frente, encostando a superfície posterior da cabeça, costas, nádegas e calcanhares no estadiômetro e será orientado a inspirar profundamente e manter-se nessa posição, até a coleta da medida. O peso será aferido com auxílio de balança eletrônica portátil com capacidade máxima de 199,95 quilogramas e sensibilidade de 50 gramas (Marte® Balanças e Aparelhos de Precisão Ltda., Santa Rita do Sapucaí, MG, Brasil, modelo LC200-PP) e o participante ficará posicionado de pé descalço, com o mínimo de roupa e acessórios na posição ereta com o peso dividido em ambos os pés no centro da balança, mantendo a cabeça e o olhar para frente. Ambas as variáveis serão aferidas por técnica padrão (WHO, 1995). A partir das medidas de peso e altura, será calculado o IMC ($\text{Peso em kg/Altura em m}^2$) e classificado segundo os pontos de corte da *World Health Organization* (WHO, 2006).

4.7.2 Avaliação do consumo alimentar

Um recordatório alimentar de 24 horas (R24h) será aplicado a todos os participantes para avaliar qualitativamente o consumo alimentar do dia anterior (APÊNDICE B) em cada intervenção. Para reduzir possíveis vieses de coleta de dados de consumo alimentar, será utilizado o Método de Múltiplas Passagens (*Multiple Pass Method*), que consiste em estimular o entrevistado a recordar detalhadamente o consumo alimentar das últimas 24 horas em cinco passos: listagem rápida dos alimentos, listagem de alimentos comumente esquecidos, definição do horário e refeição, ciclo de detalhamento e revisão e revisão final (CONWAY et al., 2003).

Todos os indivíduos serão orientados a manter seus hábitos alimentares habituais nos dias anteriores ao consumo da intervenção ou controle. Além disso, será confirmado no dia da coleta de dados de que os participantes não estejam utilizando laxantes, antiácidos, anticonvulsivantes, procinéticos ou qualquer medicamento que afete a produção de ácido gástrico (THURBER; OTTO; STRICKER, 2023). Também será confirmado que não estejam fazendo uso de suplementos nutricionais, exceto suplementos multivitamínicos e/ou minerais. Os participantes não deverão ter consumido álcool e nem ter realizado qualquer atividade física intensa nas 24 horas anteriores às coletas sanguíneas (VAN DER HEIJDEN et al., 2024).

4.7.3 Avaliação da qualidade proteica

4.7.3.1 Determinação do escore químico de AA

A determinação dos aminoácidos totais da proteína isolada de ervilha e do soro do leite será realizada por cromatografia em coluna de fase reversa (C18 da Phenomenex) em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC, SHIMADZU)[®] de acordo com o método descrito em Hagen et al. (1989) no Laboratório de Análises de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (LABCAL) da UFSC. A liberação de aminoácidos individuais ocorre na hidrólise ácida a 110 °C por 22 h, utilizando 6 M de ácido clorídrico e soluções de fenol. Após a hidrólise, o ácido α -aminobutírico (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA) é adicionado como padrão interno. A identificação dos aminoácidos será realizada por comparação com um padrão externo (Pierce, PN 20088). O padrão interno α -ácido aminobutírico será utilizado para a quantificação de aminoácidos totais, de acordo com o método de White et al. (1986). Os valores serão determinados em g/100 g da proteína.

4.7.3.2 Digestibilidade proteica *in vitro* (DPIV)

Será realizada no LABCAL da UFSC utilizando o método de Hsu et al. (1977) com pequenas modificações (TINUS et al., 2012) para determinar a DPIV da proteína isolada da ervilha e do soro do leite. A suspensão proteica (6,25 mg/mL de água destilada) será ajustada para pH 8,0 com NaOH 0,1 N ou HCl 0,1 M enquanto agitada a 37°C. Uma mistura enzimática contendo 1,6 mg de tripsina (tripsina pancreática suína tipo IX-S, 13.000-20.000 unidades BAEE/mg de proteína, produto no. T0303, Sigma, Chemical, St. Louis, MO, EUA), 1,3 mg de peptidase (pepsina da mucosa gástrica suína, 3.200–4.500 unidades/mg de proteína, número do produto. P6887, Sigma, Chemical, St. Louis, MO, EUA) e 3,1 mg de α -quimotripsina (quimotripsina pancreática bovina tipo II, ≥ 40 unidades/mg de proteína, número do produto. C4129, Sigma, Chemical, St. Louis, MO, EUA) por mL será mantida em banho de gelo e ajustado para pH 8,0. A solução enzimática será adicionada à solução proteica na proporção de 1:10 v/v e aquecida em banho-maria a 37 °C. A mistura de pH será medida após 10 min utilizando um medidor de pH portátil (modelo testo 205, Testo Instrument Co.). A DPIV em porcentagem de proteína digestível será estimada de acordo com a variação do pH após 10 min ($\Delta\text{pH}_{10\text{min}}$), conforme a seguinte equação:

$$\text{DPIV (\%)} = 65,66 + 18,10 \times (\Delta\text{pH}_{10\text{min}}).$$

A determinação do escore químico de AA e a avaliação da DPIV dos isolados proteicos, tanto de ervilha como do soro do leite, serão realizadas para caracterização e avaliação da qualidade proteica da matéria prima utilizada no estudo.

4.7.4 Procedimentos bioquímicos

Conforme mencionado anteriormente, a coleta sanguínea dos participantes será realizada por profissional capacitado no Laboratório de Pesquisa em Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose do Departamento de Análises Clínicas da UFSC, no período da manhã com jejum mínimo de 8 horas, em todos os momentos do estudo (M0, M1, M2, M3, M4 e M5). Aproximadamente 8 mL de sangue (em cada momento do estudo) serão coletados em tubos contendo ou não anticoagulante (EDTA) e então será realizada centrifugação por 10 min a 2500 rpm, em até 30 min após a coleta, para obtenção do plasma ou soro. Após a centrifugação, as amostras serão alocadas, em duplicata, nos microtubos nomeados para cada análise que será realizada e, imediatamente armazenados em freezer a -80°C. As amostras para a determinação dos AA plasmáticos serão mantidas armazenadas em freezer a -80°C e posteriormente transportadas em nitrogênio líquido ao Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba/MG para realização das análises.

4.7.4.1 Aminoácidos plasmáticos

A análise de AA (totais, essenciais e não essenciais) será realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) isocrático com detecção fluorimétrica conforme Tcherkas e Denisenko (2001). Para a redução das ligações dissulfeto no plasma, serão adicionados 20 µl de 2-mercaptoetanol (2-ME) a 100 µl de amostra de plasma. A mistura será homogenizada e incubada por 30 segundos à temperatura ambiente. Em seguida, as proteínas plasmáticas serão removidas por precipitação, utilizando 380 µl de metanol. Após esse processo, a amostra será centrifugada a 6000 g por 5 minutos, obtendo-se o sobrenadante, que conterá os aminoácidos livres e derivados. Ao sobrenadante, ou a uma mistura padrão de aminoácidos, serão adicionados 40 µl de uma solução de ácido iodoacético (0,8 M em tampão de borato de sódio 0,1 M, pH 10,5) e 120 µl de tampão de borato de sódio 0,1 M (pH 11,5). A mistura será novamente incubada à temperatura ambiente por 30 segundos. Posteriormente, 20 µl do reagente OPA-2-ME serão adicionados para derivatização dos aminoácidos, sendo a reação mantida por 3 minutos. Finalmente, 10 µl

da mistura derivatizada serão injetados no sistema de HPLC para análise. Esse processo permitirá a separação e a quantificação precisa dos aminoácidos presentes na amostra. Os resultados serão expressos em nmol/ml.

4.7.4.2 Glicose e Insulina

A glicemia de jejum será determinada no soro pelo método GLUC utilizado no sistema de química clínica Dimension®, Siemens ADVIA Centaur XPT. O método da glicose (GLUC) é uma adaptação do método da hexoquinase-glicose-6-fosfato desidrogenase, cujo princípio baseia-se no fato de a hexoquinase (HK) catalisa a fosforilação da glicose na presença de adenosina-5'-trifosfato (ATP) e magnésio, formando glicose-6-fosfato (G-6-P) e adenosinadifosfato (ADP). A G-6-P é então oxidada pela glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH) na presença de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) para produzir 6-fosfogliconato e NADH. Uma mole de NAD é reduzida para uma mole de NADH para cada mole de glicose presente. A absorvância devida ao NADH (e, deste modo, a concentração de glicose) é determinada utilizando uma técnica bicromática de ponto final (340 e 383 nm). As concentrações serão expressas em mg/dL

A insulina de jejum será determinada no soro, pelo ensaio imunométrico por quimiluminescência, por meio do sistema de química clínica Dimension®, Siemens ADVIA Centaur XPT. As concentrações serão expressas em μ U/L.

4.7.4.3 HOMA-IR

O HOMA-IR será calculado utilizando-se o *HOMA2 calculator* (disponível em: <https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>) sendo aplicada a fórmula: $\text{HOMA-IR} = \text{insulina de jejum } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicemia de jejum } (\text{mg/dL}) / 22,5$ (WALLACE; LEVY; MATTHEWS, 2004).

4.7.4.4 Marcadores inflamatórios

As concentrações de IL-1 β , IL-6, TNF- α plasmáticas serão analisadas através de kits BioLegend® (San Diego, CA 92121) utilizando o método *Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), do português: ensaio de imunoabsorção enzimática. Para estas análises será utilizado o plasma e serão seguidas todas as recomendações do fabricante. As concentrações serão expressas em (pg/mL). Os limites de detecção para citocinas são: TNF- α é

2 pg/mL, IL-6 é 4 pg/mL e IL-1 β é 0,5 pg/mL. Os valores de PCR serão mensurados pelo método de nefelometria, utilizando o reagente *CardioPhase*[®] hsCRP e o equipamento BN[®] II, ambos fabricados pela Siemens Healthcare *Diagnostics* (Tarrytown, NI, USA). Serão seguidas as recomendações do fabricante em relação ao preparo do reagente e o protocolo do ensaio contido no manual de utilização do equipamento. Os resultados serão expressos em mg/L.

4.7.4.5 Perfil lipídico

O perfil lipídico será analisado por meio das concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol e suas concentrações séricas serão determinadas pelo método enzimático colorimétrico automatizado, no Equipamento Dimension RXL[®] (Siemens Healthcare S.A., Newark, EUA). Os valores serão expressos em mg/dL.

4.7.5 Tratamento e Análise dos dados

Os dados coletados serão registrados em um banco de dados utilizando o Microsoft Office Excel 365, versão 2301[®], e analisados no software STATA[®], versão 14.0. Para verificar a distribuição dos dados e homogeneidade das variâncias, será aplicado o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*.

As variáveis quantitativas serão descritas como média e desvio padrão, ou como mediana e intervalo interquartil (25^o a 75^o), dependendo da simetria dos dados. Já as variáveis nominais serão apresentadas em categorias de frequência, baseadas na ocorrência nos grupos descritos. Transformações logarítmicas serão realizadas se necessário a fim de atender às premissas das análises paramétricas.

As respostas plasmáticas de aminoácidos, glicose, insulina, marcadores inflamatórios e perfil lipídico serão calculadas pela área sob a curva incremental em relação aos valores basais (iAUC). As possíveis diferenças entre os dois tratamentos (proteína isolada de ervilha e proteína isolada do soro do leite) e os momentos de avaliação (antes e após 5 horas) serão avaliadas por meio de ANOVA para medidas repetidas, considerando os efeitos principais do tipo de tratamento, do tempo e da interação entre ambos. Em seguida, as comparações intragrupo entre os valores iniciais e finais dos desfechos serão realizadas pelo teste t pareado ou pelo teste de Wilcoxon, conforme a distribuição dos dados. Para a análise intergrupo, a variação percentual relativa será calculada a partir dos valores médios ou medianos, conforme

apropriado, utilizando a fórmula: $\% \Delta = ((\text{valor final} - \text{valor inicial}) / \text{valor inicial}) \times 100$. A comparação entre grupos será realizada pelo teste t de Student ou pelo teste de Mann-Whitney.

Para a significância estatística dos resultados será considerado valor de $p < 0,05$ e, também, para quantificar a força da relação entre os grupos será utilizado o delta de Cliff para calcular o tamanho do efeito (ROMANO et al., 2006).

4.8 CRITÉRIOS ÉTICOS DE PESQUISA

O projeto do estudo está sendo submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da UFSC, atendendo aos preceitos bioéticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (BRASIL, 2012, 2016).

Todos os participantes serão esclarecidos sobre o estudo, que seus dados serão confidenciais e a sua não participação não trará qualquer prejuízo. Todos os sujeitos que aceitarem participar do estudo, precisarão consentir por meio da assinatura do TCLE e a participação de qualquer voluntário será concretizada somente após a explicação sobre os riscos e benefícios inerentes à pesquisa, além de outras explanações pertinentes.

Os princípios que devem ser respeitados abrangem autonomia, não maleficência, beneficência, justiça e equidade.

Autonomia: princípio que diz respeito ao direito de os indivíduos tomarem suas próprias decisões. Representam uma declaração da vontade do voluntário em participar ou não do protocolo de pesquisa.

Não-maleficência e beneficência: são conceitos que se complementam e que indicam que toda pesquisa clínica deve visar o bem e não promover o mal da participante, seja ele físico, psíquico ou emocional. Os possíveis riscos aos participantes serão claramente explicados antes do início da pesquisa: cansaço e constrangimento ao responder questionários e desconforto durante a intervenção e coletas de sangue. Toda e qualquer medida que possa impedir ou minimizar esses riscos serão adotadas para garantir o bem-estar máximo dos participantes. Quanto aos benefícios, o projeto visa trazer um retorno importante aos voluntários a fim de se obter evidências científicas sobre a utilização de uma fonte proteica vegetal promissora, mas cujos efeitos relacionados ao seu metabolismo ainda se encontram inexplorados na população de interesse. Caso a pesquisa traga efeitos positivos com o uso desta intervenção, estes resultados serão compartilhados para que mais indivíduos possam se beneficiar deste estudo.

Justiça e equidade: princípio que sintetiza uma das propostas do Sistema Único de Saúde (SUS), garantir que todos tenham acesso ao tratamento em igualdade de condições. O desenho do estudo visa assegurar que todos os participantes recebam orientações nutricionais para o seguimento no tratamento da doença. Não haverá discriminação de qualquer espécie e os grupos serão definidos aleatoriamente para garantir a igualdade de condições.

5 CRONOGRAMA

O cronograma para a realização do ensaio clínico está descrito no quadro 1 e será executado somente após a aprovação pelo sistema CEP-CONEP.

Quadro 1. Cronograma do ensaio clínico.

Atividades	2025					
	Jan-Fev	Mar-Abr	Mai-Jun	Jul-Ago	Set-Out	Nov-Dez
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	
Submissão e análise pelo CEP SH		X	X			
Condução do ensaio clínico (coleta dos dados)				X	X	X
Tabulação dos dados				X	X	X
Análise e discussão dos dados						X
Redação dos artigos científicos				X	X	X
Submissão dos artigos científicos						X
Defesa da tese						X

6 ORÇAMENTO

Todos os recursos financeiros necessários para o desenvolvimento da pesquisa estão descritos na no quadro 2 abaixo e serão obtidos através de recursos do Programa de Pós-Graduação em Nutrição ou recursos próprios. As análises bioquímicas serão realizadas em parceria com o Laboratório de Pesquisa em Lipídios, Antioxidantes e Aterosclerose e as

dosagens de AA serão realizadas em parceria com o Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, que dispõem de todos os equipamentos e reagentes necessários. Além disso, as análises para determinação do escore químico de AA e DPIV serão realizadas em parceria com o Laboratório de Análises de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ambos pertencentes à UFSC.

Os demais equipamentos como balança para determinação do peso corporal e estadiômetro serão cedidos para o uso pelo Laboratório de Composição Corporal da UFSC.

Quadro 2. Orçamento para a realização do ensaio clínico.

Descrição	Justificativa	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Despesa Corrente				
Tubos contendo EDTA para coleta de sangue (100 unidades)	Coleta de sangue dos participantes da pesquisa	3	68,02	204,06
Microtubos tipo eppendorf de 2 mL (pacote com 1000 unidades)	Utilização no preparo de amostras e no auxílio das análises	2	72,20	144,56
Ponteiras 20 a 200 µL (pacote com 1000 unidades)	Utilização na micropipeta	2	68,12	138,24
Ponteiras de 100 a 1000 µL (pacote com 1000 unidades)	Utilização na micropipeta	2	50,89	101,78
LAA21-1KT L-Amino acids	Quantificação de AA no plasma		4.638,00	4.638,00
Proteína isolada de ervilha (pacote de 1 kg)	Intervenção do ECR	1	75,60	75,60
Proteína isolada do soro do leite (pacote de 1 kg)	Controle do ECR	1	188,91	188,91
Outros materiais e serviços				
Impressão de questionários e TCLE (por página)	Para aplicação durante a condução do ECR	500	0,50	250,00
Total				5.741,15

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADHIKARI, S. et al. Protein Quality in Perspective: A Review of Protein Quality Metrics and Their Applications. *Nutrients*, v. 14, n. 5, p. 947, 23 fev. 2022.
- AN, N. et al. A comprehensive review on composition to application of pea protein and its componentes. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 282, n. 5, 2024.
- ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 243, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Saúde, 2018.
- ASCHEMANN-WITZEL, J. et al. Plant-based food and protein trend from a business perspective: markets, consumers, and the challenges and opportunities in the future. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 61, n. 18, p. 3119–3128, 11 out. 2021.
- ATALAR, I. et al. Improved physicochemical, rheological and bioactive properties of ice cream: Enrichment with high pressure homogenized hazelnut milk. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v. 24, p. 100358, 1 jul. 2021.
- AZADBAKHT, L.; ATABAK, S.; ESMAILLADEH, A. Soy protein intake, cardiorenal indices, and C-reactive protein in type 2 diabetes with nephropathy: A longitudinal randomized clinical trial. *Diabetes Care*, v. 31, p. 648–654, 2008. doi: 10.2337/dc07-2065.
- BABAULT, N. et al. Pea proteins oral supplementation promotes muscle thickness gains during resistance training: A double-blind, randomized, Placebo-controlled clinical trial vs. whey protein. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 12, n. 1, p. 3, 2015
- BANASZEK, A. The Effects of Whey vs. Pea Protein on Physical Adaptations Following 8-Weeks of High-Intensity Functional Training (HIFT): A Pilot Study. *Sports (Basel)*, v. 7, n.1, p. 12, 2019.
- BARAC, M. B. et al. Techno-functional properties of pea (*Pisum sativum*) protein isolates: a review. *Acta Periodica Technologica*, v. 46, n. 46, p.1 – 18, 2015.
- BATISTA, N. N. et al. Information as a determinant criterion in the acceptance of fermented yam-based ice cream. *Food Science and Technology*, v. 40, p. 296–301, 20 dez. 2019.
- BOS, C. et al. Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 81, n. 1, p. 87–94, jan. 2005.
- BOYE, J.; ZARE, F.; PLETCH, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Reviews International*, v. 43, p. 414–431, 2010.

BRASIL. RESOLUÇÃO No 466, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012. , 2012. Disponível em: <<https://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>>

BRASIL. RESOLUÇÃO No 510, DE 7 DE ABRIL DE 2016. , 2016. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2016/res0510_07_04_2016.html>

BROWNER, W.S.; NEWMAN, T.B.; HULLEY, S.B. Estimando o tamanho de amostra e o poder estatístico: aplicações e exemplos. In: *Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica*; Hulley, S.B (Coord.). Porto Alegre: Artmed, 2008, p. 83-112.

BUDHATHOKI, S. et al. Association of Animal and Plant Protein Intake With All-Cause and Cause-Specific Mortality in a Japanese Cohort. *JAMA internal medicine*, v. 179, n. 11, p. 1509–1518, 1 nov. 2019.

CERIELLO, A. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? *Diabetes*, v. 54, p. 1–7, 2005. DOI: 10.2337/diabetes.54.1.1.

CONWAY, J. M. et al. Effectiveness of the US Department of Agriculture 5-step multiple-pass method in assessing food intake in obese and nonobese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 77, n. 5, p. 1171–1178, 2003.

DAHL, W. J.; FOSTER, L. M.; TYLER, R. T. Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *The British Journal of Nutrition*, v. 108 Suppl 1, p. S3-10, ago. 2012.

GAO, Z. et al. Effect of Alkaline Extraction pH on Structure Properties, Solubility, and Beany Flavor of Yellow Pea Protein Isolate. *Food Research International*, v. 131, 2020.

GE, J. et al. The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum* L.) protein: Current status, challenges, and perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 19, n. 4, p. 1835–1876, jul. 2020.

GOLOVKO, T. et al. Technology of protein isolate from peas (*Pisum sativum* var. arvense). *Technology Audit and Production Reserves*, n. 2/3, v. 70, p. 37- 40, 2023.

GORISSEN, S. H. M. et al. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. *Amino Acids*, v. 50, n. 12, p. 1685–1695, 2018.

GU, J. et al. Impact of processing and storage on protein digestibility and bioavailability of legumes. *Food Reviews International*, v. 39, n. 7, p. 4697–4724, 25 ago. 2023.

GUILLIN, F. M. et al. Real ileal amino acid digestibility of pea protein compared to casein in healthy humans: a randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 115, n. 2, p. 353–363, 1 fev. 2022.

- HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, v. 72, n. 6, p. 912–916, 1989.
- HALL, C.; HILLEN, C.; GARDEN ROBINSON, J. Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. *Cereal Chemistry*, v. 94, n. 1, p. 11–31, 2017.
- HERTZLER, S. R. et al. Plant Proteins: Assessing Their Nutritional Quality and Effects on Health and Physical Function. *Nutrients*, v. 12, n. 12, p. 3704, 30 nov. 2020.
- HOCHMAN, B. et al. Desenhos de pesquisa. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 20, p. 2–9, 2005.
- HOIE, L.H. et al. Cholesterol-lowering effects of a new isolated soy protein with high levels of nondenatured protein in hypercholesterolemic patients. *Advances in Therapy*, v. 24, p. 439–447, 2007. doi: 10.1007/BF02849913
- HSU, H. W. et al. A Multienzyme Technique for Estimating Protein Digestibility. *Journal of Food Science*, v. 42, n. 5, p. 1269–1273, 1977.
- HUANG, S. et al. Review: Amino acid concentration of high protein food products and an overview of the current methods used to determine protein quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 58, n. 15, p. 2673–2678, 2018.
- HULLEY, S. B. et al. *Delineando a pesquisa clínica*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.
- JIMÉNEZ-MUNOZ, L. et al. Variation of in vitro digestibility of pea protein powder dispersions from commercially available sources. *Food Chemistry*, v. 401, p. 134178, 1 fev. 2023.
- KASHIMA, H. et al. Effect of soy protein isolate preload on postprandial glycemic control in healthy humans. *Nutrition*, v. 32, p. 965–969, 2016. doi: 10.1016/j.nut.2016.02.014.
- KWAK, J.H. et al. Black soy peptide supplementation improves glucose control in subjects with prediabetes and newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food*, v. 13, p. 1307–1312, 2010. doi: 10.1089/jmf.2010.1075.
- LAGUNA, L. et al. In vitro gastrointestinal digestion of pea protein isolate as a function of pH, food matrices, autoclaving, high-pressure and re-heat treatments. *LWT*, v. 84, p. 511–519, 1 out. 2017.
- LAM, A. C. Y. et al. Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Reviews International*, v. 34, n. 2, p. 126–147, 17 fev. 2018.
- LANNG, S. K. Influence of protein source (cricket, pea, whey) on amino acid bioavailability and activation of the mTORC1 signaling pathway after resistance exercise in healthy young males. *European journal of nutrition*, v. 62, n. 3, p. 1295 – 1308, 2023.

- LEE, Y. Q. et al. Isocaloric Substitution of Plant-Based Protein for Animal-Based Protein and Cardiometabolic Risk Factors in a Multiethnic Asian Population. *The Journal of Nutrition*, v. 153, n. 5, p. 1555–1566, maio 2023.
- LEFRANC-MILLOT, C. et al. Plasma amino acid concentrations in humans after nutralys® S85 PLUS PEA protein versus whey protein intake: Effect on protein anabolism in C2C12 myotubes. *Clinical Nutrition ESPEN*, v. 63, p. 1010, 2024.
- LI, H. et al. Blood pressure lowering effect of a pea protein hydrolysate in hypertensive rats and humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, n. 18, p. 9854 – 9860, 2011.
- LIAO, W. et al. Identification of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) up-regulating peptides from pea protein hydrolysate. *Journal of Functional Foods*, v. 60, p. 103395, 1 set. 2019.
- LONNIE, M. et al. Exploring Health-Promoting Attributes of Plant Proteins as a Functional Ingredient for the Food Sector: A Systematic Review of Human Interventional Studies. *Nutrients*, v. 12, n. 8, p. 229, 2020.
- LOUREIRO, L. L. et al. Comparison of the effects of pea protein and whey protein on the metabolic profile of soccer athletes: a randomized, double-blind, crossover trial. *Frontiers in Nutrition*, v. 10, 2023.
- LÓPEZ-MARTÍNEZ, M. I.; MORENO-FERNÁNDEZ, S.; MIGUEL, M. Development of functional ice cream with egg white hydrolysates. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v. 25, p. 100334, 1 out. 2021.
- LU, Z. X. et al. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 60, n. 15, p. 2593–2605, 21 ago. 2020.
- MA, K. K. et al. Functional Performance of Plant Proteins. *Foods*, v. 11, n. 4, p. 594, 18 fev. 2022.
- MA, Z.; BOYE, J. I.; XINZHONG, H. In vitro digestibility, protein composition and techno-functional properties of Saskatchewan grown yellow field peas (*Pisum sativum* L.) as affected by processing. *Food Research International*, v. 92, p. 64 – 78, 2017.
- MARIOTTI, F. Animal and Plant Protein Sources and Cardiometabolic Health. *Advances in Nutrition*, v. 10, n. Suppl 4, p. S351–S366, nov. 2019.
- MATTHAN, N.R. et al. Effect of soy protein from differently processed products on cardiovascular disease risk factors and vascular endothelial function in hypercholesterolemic subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 85, p. 960–966, 2007. doi: 10.1093/ajcn/85.4.960.
- MCKENDRY, J. et al. The effects of whey, pea, and collagen protein supplementation beyond the recommended dietary allowance on integrated myofibrillar protein synthetic

rates in older males: a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 120, n. 1, p. 34-36, 2024.

MOLL, P. et al. Characterization of soluble and insoluble fractions obtained from a commercial pea protein isolate. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 44, n. 13, p. 2417–2428, 1 nov. 2023.

MOSS, R. et al. A Prospective Review of the Sensory Properties of Plant-Based Dairy and Meat Alternatives with a Focus on Texture. *Foods*, v. 12, n. 8, p. 1709, jan. 2023.

NELSON, R. H. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, v. 40, p. 195–211, 2012. DOI: 10.1016/j.pop.2012.11.003.

NORDESTGAARD, B. G. et al. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA*, v. 298, p. 299–308, 2007. DOI: 10.1001/jama.298.3.299.

NORDESTGAARD, B. G.; LANGSTED, A.; FREIBERG, J. J. Nonfasting hyperlipidemia and cardiovascular disease. *Current Drug Targets*, v. 10, p. 328–335, 2009. DOI: 10.2174/138945009787846434.

PINCKAERS, P. J. M. et al. No differences in muscle protein synthesis rates following ingestion of wheat protein, milk protein, and their protein blend in healthy, young males. *The British Journal of Nutrition*, v. 126, n. 12, p. 1832–1842, 28 dez. 2021.

PINCKAERS, P. J. M. et al. Post-prandial muscle protein synthesis rates following the ingestion of pea-derived protein do not differ from ingesting an equivalent amount of milk-derived protein in healthy, young males. *European Journal of Nutrition*, v. 63, n. 3, p. 893-904, 2024.

PINCKAERS, P. J. M. et al. The Muscle Protein Synthetic Response to the Ingestion of a Plant-Derived Protein Blend Does Not Differ from an Equivalent Amount of Milk Protein in Healthy Young Males. *The Journal of Nutrition*, v. 152, n. 12, p. 2734–2743, 14 jan. 2022

POWNALL, T. L.; UDENIGWE, C. C.; ALUKO, R. E. Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum* L.) enzymatic protein hydrolysate fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 58, n. 8, p. 4712–4718, 2010.

ROELOFS, J. J. M. et al. Gastric emptying and nutrient absorption of pea protein products differing in heat treatment and texture: A randomized in vivo crossover trial and in vitro digestion study. *Food Hydrocolloids*, v. 149, p. 109596, 1 abr. 2024.

ROMANO, J. et al. Exploring methods for evaluating groups differences on the NSSE and other surveys: Are the t-test and Cohen's d indices the most appropriate choices? In: Annual meeting of the Southern Association for Institutional Research. Virginia: Arlington, 2006.

SALLES, J. et al. Circulating Amino Acid Concentration after the Consumption of Pea or Whey Proteins in Young and Older Adults Affects Protein Synthesis in C2C12 Myotubes. *Nutrients*, v. 16, n. 17, p. 2870, 2024

SHANG, X. et al. Dietary protein intake and risk of type 2 diabetes: results from the Melbourne Collaborative Cohort Study and a meta-analysis of prospective studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 104, n. 5, p. 1352–1365, nov. 2016.

SHEVKANI, K. et al. Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, v. 43, p. 679 – 689, 2015.

SUN, W; XIONG, Y. L., Stabilization of cooked cured beef color by radical-scavenging pea protein and its hydrolysate. *Food Science and Technology*, v. 61, n. 2, p. 352 – 358, 2015.

THARREY, M. et al. Patterns of plant and animal protein intake are strongly associated with cardiovascular mortality: the Adventist Health Study-2 cohort. *International Journal of Epidemiology*, v. 47, n. 5, p. 1603–1612, 1 out. 2018.

THURBER, K. M.; OTTO, A. O.; STRICKER, S. L. Proton pump inhibitors: Understanding the associated risks and benefits of long-term use. *American Journal of Health-System Pharmacy*, v. 80, n. 8, p. 487–494, 2023

TINUS, T. et al. Particle size-starch–protein digestibility relationships in cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Engineering*, v. 113, n. 2, p. 254–264, 1 nov. 2012.

TOMÉ, D. Digestibility issues of vegetable versus animal proteins: protein and amino acid requirements--functional aspects. *Food and Nutrition Bulletin*, v. 34, n. 2, p. 272–274, jun. 2013.

TÖMÖSKÖZI, S. et al. Isolation and Study of the Functional Properties of Pea Proteins. *Nahrung/Food*, n. 6, p. 399 – 401, 2001.

TULBEK, M. C. et al. Pea: A sustainable vegetable protein crop. In: *Sustainable Protein Sources*. Academic Press: Cambridge, 2017, p. 145–164.

VAN VLIET, S.; BURD, N. A.; VAN LOON, L. J. A resposta anabólica do músculo esquelético ao consumo de proteínas vegetais versus animais 1. *The Journal of Nutrition*, v. 145, n. 9, p. 1981–1991, 1 set. 2015.

VAN DER HEIJDEN, I. et al. Ingestion of a variety of non-animal-derived dietary protein sources results in diverse postprandial plasma amino acid responses which differ between young and older adults. *The British Journal of Nutrition*, v. 131, n. 9, p. 1540–1553, 2024.

WALLACE, T. M.; LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*, v. 27, n. 6, p. 1487–1495, 2004

WELBORN, T. A.; WEARNE, K. Coronary heart disease incidence and cardiovascular mortality in Busselton with reference to glucose and insulin concentrations. *Diabetes Care*, v. 2, p. 154–160, 1979. DOI: 10.2337/diacare.2.2.154.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *The Journal of Automatic Chemistry*, v. 8, n. 4, p. 170–177, 1986.

WHO. Expert Committee on Physical Status : the use of and interpretation of anthropometry , report of a WHO expert committee. , 1995. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37003/WHO_TRS_854.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 fev. 2023

WHO. BMI classification. , 2006. Disponível em: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp?intro_3html>. Acesso em: 10 fev. 2023

YULIARTI, O.; KIAT KOVIS, T. J.; YI, N. J. Structuring the meat analogue by using plant-based derived composites. *Journal of Food Engineering*, v. 288, p. 110138, 1 jan. 2021.

APÊNDICES

APENDICE A: Termo de consentimento livre e Esclarecido (TCLE)



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Nº do projeto CAAE _____

Título do Projeto: é “EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE PROTEÍNA ISOLADA DE ERVILHA NO PERFIL DE AMINOÁCIDOS PLASMÁTICOS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO”

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é entender como a ingestão de uma dose única de proteína de isolada de ervilha afeta o nível de aminoácidos no sangue e outros marcadores de saúde em pessoas saudáveis. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), está vinculada à tese de Doutorado de Suellen Guesser Homem Siebeneichler e é coordenada pela pesquisadora Francilene Gracieli Kunradi Vieira, que se compromete a seguir a Resolução 466, de 12 de dezembro de 2012 e suas complementares.

Esta pesquisa será realizada em dois dias diferentes, com uma semana de intervalo entre eles, onde em um dia você receberá a intervenção com a proteína isolada de ervilha e no outro você receberá a intervenção com a proteína isolada do soro do leite. Em cada dia, sua participação terá duração de 6 horas e será dividida em 6 momentos, o inicial (M0) que se refere ao momento basal e coleta dos seus dados em jejum, antes do consumo da intervenção, e os momentos subsequentes que acontecerão a cada hora após o consumo da intervenção até o minuto 300. No início do estudo, haverá um sorteio para verificar qual a ordem que você receberá as intervenções, porém nem você nem os pesquisadores saberão qual será essa ordem. Após 1 semana de intervalo do primeiro dia, será realizado um novo encontro com a mesma duração,

momentos e coleta de dados do primeiro dia, aonde você receberá a segunda intervenção conforme sorteio realizado.

Se você aceitar participar, as etapas serão as seguintes: a) medição do seu peso e altura por um profissional treinado, em local apropriado, usando roupas leves, no Laboratório de Composição Corporal do Centro de Ciências da Saúde da UFSC; b) coleta de sangue em jejum e em mais cinco momentos ao longo do dia, para análise de marcadores no sangue, realizada no Laboratório de Pesquisa em Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose do Departamento de Análises Clínicas da UFSC; c) preenchimento de um recordatório alimentar, no qual você informará o que comeu no dia anterior, para avaliarmos sua alimentação recente.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da sua participação na pesquisa são desconforto durante o consumo da intervenção (náuseas ou qualquer outro sintoma gastrointestinal), além de cansaço ou aborrecimento ao responder os questionários. A coleta de sangue pode causar dor ou desconforto no local da punção, e, embora raro, existe o risco de complicações relacionadas a esse procedimento. Também pode haver constrangimento ou incômodo durante a medição das medidas corporais. Por fim, embora todas as medidas de sigilo sejam adotadas, existe um risco mínimo de quebra de sigilo, mesmo que não intencional, o que é uma possibilidade inerente a qualquer pesquisa científica. Apesar de ser uma situação rara, caso ocorra, pode causar desconforto emocional ou impacto na autoestima.

Para evitar ou minimizar esses riscos, alguns cuidados serão tomados. Você poderá interromper sua participação na pesquisa a qualquer momento, se desejar. Os questionários serão aplicados apenas uma vez e por pesquisadores devidamente treinados. As medições corporais e as coletas de sangue serão realizadas por profissionais capacitados, com todo o suporte necessário para garantir sua segurança e conforto. Todas as medidas para garantir o sigilo dos seus dados serão rigorosamente seguidas, e apenas os pesquisadores responsáveis terão acesso a essas informações. Caso tenha interesse, seus próprios dados também poderão ser disponibilizados a você. Os resultados da pesquisa poderão ser publicados em revistas científicas e apresentados em congressos ou eventos nacionais e internacionais, mas sua identidade não será revelada em nenhum momento. Se ocorrer qualquer prejuízo relacionado à sua participação — seja material ou não —, você poderá solicitar indenização conforme prevê a legislação vigente.

A quebra de sigilo, ainda que involuntária e não intencional deve ser considerada. Contudo, pretendemos garantir a manutenção do sigilo e da privacidade da sua participação durante todas as fases desta pesquisa, por meio da anonimização dos dados.

Ao participar desta pesquisa, não há garantia de benefícios diretos, mas esperamos que os resultados do estudo possam demonstrar a qualidade proteica da proteína isolada de ervilha e sua adequada utilização pelo organismo, consolidando-a como uma opção relevante para suplementação nutricional. Além disso, os achados poderão servir como base para futuras investigações sobre os efeitos do consumo prolongado dessa proteína, ampliando o conhecimento sobre seu potencial nutricional e terapêutico a longo prazo.

Por se tratar de uma intervenção única, que compara dois tipos de proteínas — sendo uma delas considerada padrão ouro —, não será necessário um acompanhamento posterior. No entanto, você terá à disposição o contato da nutricionista responsável pela pesquisa, que poderá esclarecer qualquer dúvida relacionada ao estudo

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não haverá nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa, mas também não haverá qualquer custo para você em relação aos procedimentos realizados. Caso haja despesas decorrentes da sua participação — como transporte, estacionamento, alimentação ou outros custos —, elas poderão ser reembolsadas, conforme previsto no orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal. Além disso, você tem garantido o direito a solicitar indenização.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso tenha dúvidas, você pode entrar em contato com as pesquisadoras responsáveis: Suellen Guesser Homem Siebeneichler pelo telefone (48) 99994-5438 ou pelo e-mail suellenguesser@gmail.com, ou Francilene Gracieli Kunradi Vieira pelo telefone (48) 99991-4473 ou pelo e-mail frankunradi@gmail.com. Além disso, você

pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH-UFSC) pelo telefone (48) 3721-6094 ou presencialmente no 7º andar do Prédio Reitoria II, sala 701, de segunda a sexta-feira, das 8h às 12h e das 14h às 18h.

Esse Termo deve ser rubricado em todas as suas páginas e assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura do participante da pesquisa

Nome do pesquisador

Assinatura do pesquisador

Nome do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador responsável

Local e Data: _____

APENDICE B: Protocolo de coleta de dados clínicos**1. IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE**

Número do participante na pesquisa: _____

Nome completo:	
Idade:	
Data de Nascimento:	Telefones:
Sexo:	E-mail:
Endereço:	

Histórico de saúde: _____

Tabagismo/Etilismo: _____

Prática de atividade física: _____

Fármacos utilizados: _____

2. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Peso atual (kg):	Estatura (cm):	IMC (kg/m ²):
Classificação do IMC:		

3. AVALIAÇÃO BOQUIMICA

Marcadores	M0	M1	M2	M3	M4	M5
PCR						
IL-6						
IL-1 β						
TNF- α						
Triglicerídeos						
Colesterol						
Glicose						
Insulina						
AAs						

APÊNDICE C: Formulário para coleta dos dados de consumo alimentar (Recordatório de 24 horas).

[illegible]