BÁRBARA NERY ENES

EFEITO DO CONSUMO DE UMA MISTURA DE CEREAIS, SEMENTES E GRÃOS ("RAÇÃO HUMANA") NO ESTADO NUTRICIONAL DE FERRO E ZINCO, NA COMPOSIÇÃO CORPORAL E NA SAÚDE ÓSSEA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae.*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

E56e
2012

Enes, Bárbara Nery, 1987-

Efeito do consumo de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") no estado nutricional de ferro e zinco, na composição corporal e na saúde óssea / Bárbara Nery Enes. – Viçosa, MG, 2012.

153f. : il. ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Hércia Stampini Duarte Martino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1.Dieta. 2. Ferro. 3. Fibra alimentar. 4. Obesidade - Tratamento. 5. Peso corporal - Regulação. 6. Composição corporal. 7. Ossos - Metabolismo. 8. Taninos. 9. Zinco. 10. Nutrição. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 613.2

BÁRBARA NERY ENES

EFEITO DO CONSUMO DE UMA MISTURA DE CEREAIS, SEMENTES E GRÃOS ("RAÇÃO HUMANA") NO ESTADO NUTRICIONAL DE FERRO E ZINCO, NA COMPOSIÇÃO CORPORAL E NA SAÚDE ÓSSEA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae.*

APROVADA: 15 de fevereiro de 2012.

Neuza Maria Brunoro Costa
(Coorientador)

Késia Diego Quintaes

Rita de Cássia Gonçalves Alfenas

Hércia Stampini Duarte Martino
(Orientador)

"Se não existe possibilidade de fracasso, então a vitória é insignificante"

Robert H. Schuller

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Gilberto e Eliene, ao meu irmão Leonardo e ao pequeno Caio que chegou para alegrar nossos corações.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela vida.

Aos meus pais, Gilberto e Eliene, pelo amor, apoio incondicional às minhas escolhas e pelo exemplo de vida a mim transmitido.

Ao meu irmão Leonardo pela presença ao meu lado.

À toda a minha família e amigos pelas orações e pela compreensão da minha ausência em tantos momentos.

À minha amiga Renata que compartilhou comigo desde a aprovação na seleção de mestrado, as angústias e felicidades vivenciadas durante essa jornada.

À Natália que sonhou comigo a consagração deste trabalho em todas as suas etapas. Obrigada pela ajuda nos momentos difíceis e pela alegria da convivência.

À Profª Hércia Stampini, querida orientadora, agradeço pela acolhida e por acreditar no meu trabalho. Obrigada pelos inúmeros ensinamentos e mesmo quando distante por se tentar fazer presente.

À Profª Sônia Machado, minha co-orientadora, pela ajuda durante cada etapa desse trabalho e pelos preciosos ensinamentos.

À Profª Neuza agradeço os ensinamentos e às contribuições durante a redação desse trabalho.

Ao Profº Antônio Policarpo pelo auxílio nas análises estatísticas.

Às Profªs Giana Zarbato e Julicristie Oliveira pela ajuda com as análises estatísticas e na redação desse trabalho.

À Érica agradeço a amizade construída, à sua generosidade em compartilhar seus conhecimentos e à companhia tão preciosa e agradável.

Agradeço ainda à Natália pelo auxílio na coleta sanguínea e nas análises bioquímicas.

Aos amigos do mestrado e doutorado, Solange, Patrícia, Damiana, Samanta, Graça, Júlia, Fernanda, Daniela, Cristiana, Flávia e Catarina pela ajuda e convivência.

Obrigada à Dorina por toda a ajuda prestada.

Às estagiárias Marynizia, Olívia, Kellen, Vivian, Vanessa e Isabela pela ajuda na condução desse trabalho.

À Joana e sua família agradeço a acolhida carinhosa e os deliciosos almoços.

Às voluntárias que participaram dessa pesquisa, agradeço a confiança.

À Estratégia de Saúde da Família - Silvestre e a todos os funcionários.

À Paróquia de Silvestre agradeço o espaço da Casa Paroquial cedido.

Aos funcionários da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa, em especial Alexandre, Gleide, Cláudia, Cida e Wanderson.

Aos funcionários Departamento de Nutrição e Saúde, em especial à Fabiana Carvalho e Rita Stampini.

Aos membros da banca pela disponibilidade em avaliar este trabalho e contribuições científicas.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

À FAPEMIG pelo financiamento do projeto de pesquisa.

SUMÁRIO

RELAÇÃO DE TABELAS E FIGURAS x

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS xii

RESUMO xiv

ABSTRACT xvi

1 INTRODUÇÃO 1

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA – ARTIGO I: Fibra Alimentar: Uma Revisão dos Efeitos de seu Consumo no Controle do Peso Corporal, na Biodisponibilidade de Minerais e na Saúde Óssea em Mulheres com Excesso de Peso. 3

Resumo 4

Abstract 5

2.1 Introdução 6

2.2 Epidemiologia da Obesidade no Gênero Feminino 7

2.3 Mulheres e Saúde Óssea 8

2.4 Alterações do Peso Corpóreo e Saúde Óssea 10

2.5 Fibra Alimentar e Peso Corporal 12
2.5.1 Estudos clínicos 14

2.6 Efeito da ingestão de fibra alimentar na biodisponibilidade de minerais 17

2.7 Considerações finais 19

2.8 Agradecimentos 19

REFERÊNCIAS 19

3 HIPÓTESE 26

4 OBJETIVOS 27

4.1 Objetivo geral 27

4.2 Objetivos específicos 27

5 METODOLOGIA GERAL 28

5.1 Apresentação 28

5.2 Mistura de Cereais, sementes e grãos 29
5.2.1 Aquisição e elaboração 29

5.3 Caracterização da Composição química das versões de misturas de cereais, sementes e grãos e *shakes* 30
5.3.1 Umidade 30
5.3.2 Proteína 30
5.3.3 Lipídios 30
5.3.4 Cinzas 30
5.3.5 Fibra alimentar 31
5.3.5.1 Preparo de cadinhos 31
5.3.5.2 Obtenção do hidrolisado 32
5.3.5.3 Fibra Insolúvel 32
5.3.5.4 Fibra Solúvel 33
5.3.5.5 Fibra total 33
5.3.6 Carboidratos 33
5.3.7 Valor energético 34
5.3.8 Taninos condensados 34
5.3.9 Fitato 35
5.3.10 Minerais 35
5.5.1 Preparo das dietas experimentais 38
5.5.2 Consumo alimentar e ganho de peso 39
5.5.3 Ganho de hemoglobina 40
5.5.4 Concentração de ferro da hemoglobina 40
5.5.5 Ferro consumido 40
5.5.6 Eficiência de regeneração de hemoglobina e valor biológico relativo 41
5.5.7 Biodisponibilidade de ferro 41
5.5.8 Contagem de reticulócitos 41
5.5.9 Análise do pH cecal e de ácidos graxos de cadeia curta 42
5.5.10 Análises Estatísticas 43
5.5.11 Aspectos Éticos 43

5.6 Estudo do efeito do consumo de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") no peso, na composição corporal, na saúde óssea, no controle da saciedade e no estado nutricional dos minerais ferro e zinco de mulheres com excesso de peso 44
5.6.1 Seleção amostral 44
5.6.2 Desenho experimental 45
5.6.3 Restrição energética 47
5.6.4 Oferta da mistura de cereais, sementes e grãos 47
5.6.4.1 Preparo dos *shakes* 47
5.6.5 Avaliação antropométrica, pressão arterial e nível de atividade física 48
5.6.6 Composição corporal e densitometria óssea 49
5.6.7 Avaliação dos parâmetros bioquímicos 50
5.6.8 Escala de Analogia Visual 53
5.6.9 Análise dos dados de consumo alimentar 53
5.6.9.1 Cálculo do Índice de Qualidade da Dieta 54

5.6.10 Análises Estatísticas 56
5.6.11 Aspectos Éticos 57

REFERÊNCIAS 58

6 ARTIGO II: Iron Bioavailability of the Mixture of Cereals, Seeds and Grains ("Human Ration") is Comparable to Ferrous Sulfate 64

Abstract 65

Practical Application: 65

6.1 Introduction 66

6.2 Materials and Methods 67
6.2.1 Iron deficiency protocol 67
6.2.2 Hemoglobin regeneration assay 68
6.2.3 Formulation of experimental diets and chemical composition 69
6.2.4 Iron bioavailability and hematological parameters 71
6.2.5 Determination of SCFA in the caecal contents 71
6.2.6 Statistical analysis 72

6.3 Results and Discussion 73
6.3.1 Chemical composition of the mixtures of cereals, seeds and grains 73
6.3.2 Body weight gain and food consumption 74
6.3.3 Hematological and iron bioavailability parameters 76

6.4 Conclusion 80

Acknowledgments 80

REFERENCES 80

7 ARTIGO III: Efeito do Consumo de uma Mistura de Cereais, Sementes e Grãos ("Ração Humana") no Peso, na Composição Corporal, na Pressão Arterial, na Saúde Óssea, no Controle da Saciedade e no Estado Nutricional dos Minerais Ferro e Zinco em Mulheres com Excesso de Peso 84

Resumo 84

Abstract 86

7.1 Introdução 87

7.2 Material e Métodos 88
7.2.1 Delineamento Experimental 88
7.2.2 Seleção amostral 89
7.2.3 Mistura de cereais sementes e grãos 90
7.2.4 Análise da composição química da mistura de cereais, sementes e grãos e dos shakes 91

7.2.5 Avaliação do consumo alimentar 91
7.2.5.1 Índice de Qualidade da Dieta 92
7.2.6 Avaliação do perfil de atividade física 92
7.2.7 Avaliação antropométrica e de pressão arterial 92
7.2.8 Composição corporal e densitometria óssea 93
7.2.9 Avaliação dos parâmetros bioquímicos 94
7.2.10 Escala de Analogia Visual 95
7.2.11 Análises Estatísticas 95

7.3 Resultados 96
7.3.1 Voluntárias 96
7.3.2 Composição da mistura de cereais, sementes e grãos 97
7.3.3 Consumo alimentar 99
7.3.3.1 Índice de Qualidade da Dieta 100
7.3.5 Atividade física, antropometria e composição corporal 101
7.3.6 Saúde óssea 101
7.3.7 Estado nutricional referente aos minerais ferro e zinco 101
7.3.8 Escala de Analogia Visual 104

7.4 Discussão 105

7.5 Conclusão 110

Agradecimentos 110

REFERÊNCIAS 111

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS 120

9 ANEXOS 121

9.1 Anexo A 121

9.2 Anexo B 122

9.3 Anexo C 123

9.4 Anexo D 124

9.5 Anexo E 125

9.6 Anexo F 127

9.7 Anexo G 131

9.8 Anexo H 132

RELAÇÃO DE TABELAS E FIGURAS

5 METODOLOGIA GERAL 28

5.5 Estudo da Biodisponibilidade de Ferro na Mistura de Cereais, Sementes e Grãos 36

Figura 1 - Desenho experimental do estudo de biodisponibilidade de ferro das três versões da mistura de cereais, sementes e grãos. 37

Tabela 1 - Ingredientes ($g \cdot kg^{-1}$), teor de ferro e tanino ($mg \cdot kg^{-1}$) das dietas experimentais 39

5.6 Estudo do efeito do consumo de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") no peso, na composição corporal, na saúde óssea, no controle da saciedade e no estado nutricional dos minerais ferro e zinco de mulheres com excesso de peso 44

Figura 2- Desenho experimental do estudo. Grupo 1: ordem de tratamento Placebo - Teste; Grupo 2: ordem de tratamento Teste - Placebo..... 46

Tabela 2 - Distribuição da pontuação e das porções do Índice de Qualidade da Dieta Revisado. 56

6 ARTIGO II 64

Table 1 - Ingredients ($g \cdot kg^{-1}$), iron and tannin content ($mg \cdot kg^{-1}$) of experimental diets..... 70

Table 2 - Chemical composition ($g.100\ g^{-1}$), iron, phytate and tannin contents ($mg.\ g^{-1}$) from Homemade (HMC), Regular (RMC) and Light (LMC) mixtures of cereals, seeds and grains on dry basis. 74

Table 4 - Body weight, food efficiency ratio and hematological parameters of experimental groups during the repletion period. 75

Table 5 - Consumption of total fiber (g), insoluble fiber (g), soluble fiber (g), tannin (mg) and phytate (mg). 77

Table 6 - Intestinal concentration of SCFA and caecal pH 79

7 ARTIGO III 84

Figura 1- Desenho experimental do estudo.. 89

Figura 2 - Perfil de triagem do estudo..... 97

Tabela 1 - Composição química em base seca dos *shakes* utilizados no estudo. 99

Tabela 2 - Distribuição do consumo de macronutrientes durante o estudo 100

Tabela 3 - Mudança nas variáveis antropométricas, metabólicas e bioquímicas após cinco semanas de tratamento..... 103

Tabela 4 - Resumo da análise de variância considerando medidas repetidas para o incremento da AUC para a variável "Saciedade" em função dos tratamentos e dos tempos de avaliação..... 104

Tabela 5 - Resumo da análise de variância considerando medidas repetidas para o incremento da AUC para a variável "Comer Mais" em função dos tratamentos e dos tempos de avaliação 104

Tabela 6 - Resumo da análise de variância considerando medidas repetidas para o incremento da AUC para a variável “Sensação de Fome” em função dos tratamentos e dos tempos de avaliação..... 105

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGCC ..... Ácido Graxo de Cadeia Curta
ANVISA ..... Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC ……..…..…. *Association of Official Analytical Chemists*
BIO ..... Biodisponibilidade
CAPES .....Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEA ..... Coeficiente de Eficiência Alimentar
CTx ..... Interligadores C-terminais do colágeno Tipo I
DCNT ..... Doenças Crônicas não Transmissíveis
DSA ……..……..……..…….. Divisão de Saúde
DNS …….....……Departamento de Nutrição e Saúde
DRI …….. ……...*Dietary Reference Intakes*
DXA ..... Absormetria Radiológica de Dupla Energia
ENDEF ..... Estudo Nacional de Despesas Familiares
ESF …….....……. Estratégia de Saúde da Família
FAEO ..... Fosfatase Alcalina Específica Óssea
FAI …….....……Fibra Alimentar Insolúvel
FAPEMIG .....Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
FAS …….....……. Fibra Alimentar Solúvel
FAT …….....……. Fibra Alimentar Total
FeHbI ..... Ferro Ligado à Hemoglobina Inicial
FeHbF ..... Ferro Ligado à Hemoglobina Final
FIT ..... Fitato
FOS ..... Frutooligossacarídeos
GHb …….....……..…… Ganho de Hemoglobina
HbF ..... Hemoglobina Final
HbI ..... Hemoglobina Inicial
HEI ..... *Healthy Eating Index*
HRE ..... Eficiência de Regeneração de Hemoglobina
IBGE ..... Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LD ..... Limite de detecção
IL-1 ..... Interleucina-1
IL-6 .....Interleucina-6
IMC ..... Índice de Massa Corporal
IOM ..... Instituto de Medicina
IPAQ ..... Questionário Internacional de Nível de Atividade Física
IQD ..... Índice de Qualidade da Dieta
IQD-R ..……..…….....……. Índice de Qualidade da Dieta Revisado
LAC …….....……. Laboratório de Análises Clínicas
MC .....Mistura de Cereais, sementes e grãos
NTX ..... Pro-peptídeo N terminal do colágeno tipo I
POF ..... Pesquisa de Orçamentos Familiares
PTH ..... Paratormônio
RBVHRE …..... Valor Biológico Relativo da Eficiência de Regeneração de Hemoglobina
RET ..... Reticulócitos

RHC ……..……. Ração Humana Caseira
RHI …….……. Ração Humana Integral
RHL …….…… Ração Humana *Light*
RCQ ..... Relação Cintura Quadril
SUS ..... Sistema Único de Saúde
TNF-α ..... Fator de necrose tumoral α
UFV ……..……. Universidade Federal de Viçosa
USDA ..... *United States Department of Agriculture*
UV ..... Ultra-violeta
VAS ..... Escala de Analogia Visual
VIGITEL.. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico
WHO ..... *World Health Organization*

RESUMO

ENES, Bárbara Nery, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2012. **Efeito de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") no estado nutricional de ferro e zinco, na composição corporal e na saúde óssea.** Orientadora: Hércia Stampini Duarte Martino. Coorientadores: Sônia Machado Rocha Ribeiro e Neuza Maria Brunoro Costa.

A epidemia de obesidade tem atingido todo o mundo e as prevalências têm crescido principalmente em áreas urbanas de países com renda média ou baixa. No Brasil, a prevalência é maior para o sexo feminino, atingindo cerca de 16,5% das mulheres. Ainda existem muitas dúvidas quanto aos efeitos do excesso de peso na saúde óssea. Entretanto, acredita-se que durante a redução ponderal, possíveis perdas ósseas sejam ocasionadas. Dentre os tratamentos para o excesso de peso, o uso de alimentos ricos em fibras tem sido muito orientado e utilizado. Dentro desse contexto, a indústria de alimentos tem lançado no mercado diversos produtos que visam colaborar com a perda de peso, dentre os quais está a "Ração Humana". Trata-se de uma mistura de cereais, sementes e grãos (MC), ingredientes esses de origem vegetal, e que, isoladamente apresentam benefícios à saúde. Tais ingredientes veiculam fibra alimentar à alimentação, entretanto, a presença de fatores antinutricionais/fitoquímicos como fitatos e taninos, podem prejudicar a biodisponibilidade de minerais, como ferro e zinco. Devido à escassez de estudos na literatura sobre os reais efeitos da "Ração Humana" na saúde, este trabalho objetivou avaliar a biodisponibilidade de ferro de três versões de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") em ratos *Wistar*, além de seu efeito no peso, na composição corporal, na saúde óssea, no controle da saciedade e no estado nutricional referente aos minerais ferro e zinco em mulheres com excesso de peso. O primeiro experimento teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade de ferro em três versões de uma mistura de cereais sementes e grãos ("Ração Humana"), *light* (MCL), regular (MCR) e caseira (MCC) por meio do método de depleção/repleção, utilizando um nível de ferro 12mg·kg^{-1}. Os grupos MCL e grupo controle (GC) não diferiram quanto ao ganho de hemoglobina, eficiência de regeneração de hemoglobina e valor biológico relativo. Consequentemente apresentaram biodisponibilidade de ferro similar, 80,02 ± 36,63 e 99,99 ± 27,62, respectivamente. Os demais grupos apresentaram valores inferiores. O grupo MCR apresentou maior teor de ferro (23,2 mg·100^{-1}), contudo, o elevado teor de tanino (12,45 ± 1,2

$mg \cdot 100^{-1}$) pode explicar sua menor biodisponibilidade. O grupo MCL apresentou maior consumo de fibra solúvel (21,15 ±0.92 g), além de maior teor de propionato no conteúdo fecal (65,49 ± 11,08 µmol/g), e ambas as variáveis se correlacionaram positivamente (r= 0,5712; *P*= 0,0018). O grupo MCL apresentou menor consumo de tanino e maior consumo de fibra solúvel, o que possivelmente favoreceu a maior solubilidade e biodisponibilidade de ferro sendo fonte comparável ao sulfato ferroso. O segundo estudo teve como objetivo avaliar o efeito de consumo de MC no peso, na composição corporal, na pressão arterial, na saúde óssea, no controle da saciedade e no estado nutricional de ferro e zinco em mulheres com excesso de peso. Foi realizado um ensaio clínico em delineamento *crossover*, onde foram realizados dois tratamento, restrição energética de 15% associada ao consumo de MC (teste) ou consumo de um placebo (controle). Cada um deles apresentou duração de cinco semanas e houve uma semana de *washout* entre os tratamentos. Não houve diferença significativa em relação ao peso, composição corporal, pressão arterial e na saúde óssea. Da mesma forma, não foi possível observar diferenças entre os tratamentos quanto ao controle da saciedade. A redução ponderal foi maior no primeiro período para o tratamento controle (*P*= 0,0434) e para o tratamento teste no segundo período do estudo (*P*= 0,0086). Houve associação positiva entre densidade mineral óssea e índice de massa corporal (r=0,3956, *P*=0,0127). Quanto ao estado nutricional dos minerais, houve aumento significativo da hemoglobina durante o consumo de MC (*P*= 0,0001) e não houve prejuízos quanto à absorção de zinco. Esse trabalho permitiu a confirmação dos dados de biodisponibilidade de ferro em animais e em humanos, o que nos permite concluir que, apesar da origem vegetal dos componentes da MC, ela pode ser considerada uma boa fonte de ferro, e seu consumo diário não foi capaz de prejudicar o estado nutricional de zinco. O consumo diário de MC, entretanto, não alterou o peso, a composição corporal, a pressão arterial e o controle de saciedade de mulheres com excesso de peso.

ABSTRACT

ENES, Bárbara Nery, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2012. **Effect of the Consumption of a mixture of cereals, seeds and grains ("Human Ration") in the nutritional status of iron and zinc, body composition and bone health.** Advisor: Hércia Stampini Duarte Martino. Co-advisors: Sônia Rocha Machado Ribeiro and Neuza Maria Brunoro Costa.

The obesity epidemic has been a worldwide issue and the prevalence has increased mainly in urban areas of countries with medium or low income. In Brazil, the prevalence is higher for females, reaching about 16.5% of women. There are still many doubts about the effects of overweight on bone health. However, it is believed that during the weight reduction, potential bone loss may be caused. Among the treatments for overweight, the use of food rich in dietary fiber has been widely suggested and used. In this context, the food industry has launched several products on the market designed to help in weight loss, such as "Human Ration". This is a mixture of cereals, seeds and grains (MC), composed by vegetable ingredients which present health benefits. These ingredients convey dietary fiber to the diet, however, the presence of antinutritional factors/phytochemicals such as phytate and tannins may impair the mineral bioavailability such as iron and zinc. Given the scarcity of studies addressing the actual effect of "Human Ration", this study aimed to evaluate the iron bioavailability of a mixture of grain, seeds and grains ("Human Ration") in Wistar rats, as well as its effect on body weight, body composition, bone health, the control of satiety and nutritional status related to iron and zinc minerals in overweight women. The first experiment aimed to evaluate the iron bioavailability in three types of a mixture of cereals, seeds and grains ("Human Ration"), light (LMC), regular (RMC) and homemade (HMC) through the depletion/repletion method, using a 12 $mg \cdot kg^{-1}$ iron level. The LMC and control group (CG) did not differ from hemoglobin gain, hemoglobin regeneration efficiency and relative biological value. Consequently it showed similar iron bioavailability, and 80.02 ± 36.63 99.99 ± 27.62, respectively. The other groups showed lower values. The RMC group showed a higher content of iron (23.2 $mg \cdot 100^{-1}$), however, the high tannin content (12.45 ± 1.2 $mg \cdot 100^{-1}$) may explain its lower bioavailability. The LMC group had a higher intake of soluble fiber (21.15 ± 0.92 g), and higher levels of propionate in fecal content (65.49 ± 11.08 µmol/g), and both variables were positively correlated (r= 0.5712, P = 0.0018). The LMC group had lower

tannin intake and higher intake of soluble fiber, which probably favored the higher solubility and bioavailability of iron – a source similar to ferrous sulfate. The second study aimed to evaluate the effect of consumption of MC in body weight, body composition, blood pressure, bone health, control of satiety and nutritional status of iron and zinc in overweight women. It was conducted a randomized crossover clinical trial and two treatments were performed: a 15% energy restriction associated with the consumption of MC (test) or consumption of a placebo (control). Each treatment had a five-week period with a washout week between both. There were no significant difference in body weight, body composition, blood pressure and bone health. Likewise, we could not observe differences between treatments for the control of satiety. The weight loss was higher in the first period for control treatment (P = 0.0434) and for the test treatment in the second study period (P= 0.0086). There was a positive association between bone mineral density and body mass index (r= 0.3956, P= 0.0127). There was a significant increase in hemoglobin during the consumption of MC (P= 0.0001) and no losses on the absorption of zinc regarding the nutritional status of minerals. This work allowed the confirmation of data for iron bioavailability in animals and humans, which allows us to conclude that despite the vegetable components of the MC, it can be considered a good source of iron, and their daily consumption was not able to affect the nutritional status of zinc. The daily intake of MC, however, did not affect body weight, body composition, blood pressure and the control of satiety in overweight women.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo excesso de adiposidade corporal. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a obesidade como um problema de saúde pública e estima-se que em 2015, 2,3 bilhões de adultos terão excesso de peso e 700 milhões serão obesos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005). No Brasil foi observada tendência do aumento de sobrepeso e obesidade na população durante as últimas décadas (MONTEIRO, CONDE e POPKIN, 2007; ANDRADE, 2008). Dados populacionais mais recentes evidenciaram que a obesidade atinge 12,5% dos homens e 16,9% das mulheres (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

O tratamento do excesso de peso apresenta relação positiva com a perda de massa óssea. A perda de 10% do peso corporal é capaz de produzir uma perda óssea de aproximadamente 1 a 2% em vários ossos (SHAPSES e RIEDT, 2006), e aumento dos marcadores urinários de ressorção óssea, Pro-peptídeo-N terminal do colágeno tipo I (NTx) e osteocalcina (FLEISCHER *et al.*, 2008).

Com a crescente prevalência de excesso de peso no mundo, a indústria alimentícias vem desenvolvendo inúmeros produtos com forte apelo pelos ditos "alimentos funcionas e naturais". A grande maioria desses produtos é composta por uma mistura de grãos integrais, farelos e sementes, ricos em fibras que podem desempenhar efeito positivo no controle de peso corporal, regulação dos parâmetros hematológicos (lipídios, glicemia), regularização do funcionamento intestinal, além de apresentarem atividade antioxidante, função esta desempenhada pelos compostos bioativos que figuram dentre os ingredientes desses produtos.

Seguindo essa mesma linha, foi desenvolvida a "Ração Humana" (RH), uma mistura de cereais, sementes e grãos (MC), muito consumida no Brasil, principalmente por mulheres preocupadas com a forma física. A "Ração Humana" recebeu essa denominação devido à alusão às rações animais, que são produzidas por meio de misturas de diversos ingredientes ricos em nutrientes (BRAGA e MENDONÇA, 2010). Entretanto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio do Informe

Técnico nº 46, de 20 de maio de 2011 (BRASIL, 2011) proibiu a veiculação de produtos que utilizem a denominação "Ração Humana", uma vez que essa não indica a verdadeira natureza e as características do alimento, além de proibir alegações relacionadas ao emagrecimento, uma vez que não existem estudos que comprovem esse efeito.

A importância da presente pesquisa justifica-se, portanto, perante a escassez de dados na literatura científica até o momento sobre os efeitos da "Ração Humana" na saúde, salientando-se a relevância de realizar investigação sobre o efeito desse produto no peso, composição corporal e na saúde óssea em mulheres com excesso de peso.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Fibra alimentar: uma revisão dos efeitos de seu consumo no controle do peso corporal, na biodisponibilidade de minerais e na saúde óssea em mulheres com excesso de peso.

Dietary and physiological factors of weight loss: a review of the effects on minerals bioavailability and bone health in overweight women.

Bárbara Nery Enes[a]
Natália Elizabeth Galdino Alves[b]
Sônia Machado Rocha Ribeiro[c]
Hércia Stampini Duarte Martino[d*]

[a] Nutricionista, Mestre em Ciência da Nutrição. Universidade Federal de Viçosa. Email: nery.barbara@yahoo.com.br.
[b] Nutricionista, Mestre em Ciência da Nutrição. Universidade Federal de Viçosa. E-mail: nat.galdino@yahoo.com.br.
[c] Nutricionista, Doutora em Bioquímica Agrícola. Professora Adjunta do Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. E-mail: sribeiro@ufv.br.
[d] Nutricionista, Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Professora Adjunta do Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa. Universidade Federal de Viçosa, E-mail: hercia@ufv.br.
* Autor correspondente. Departamento de Nutrição e Saúde. Departamento de Nutrição e Saúde. Campus da Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Resumo

O objetivo desta revisão foi analisar a relação da ingestão de fibra alimentar e sua associação ao controle do peso corporal, assim como os efeitos do seu consumo na biodisponibilidade de minerais, na perda de peso e na saúde óssea, em mulheres com excesso de peso. O aumento da obesidade tem sido observado em maior proporção em países em desenvolvimento e no gênero feminino, apresentando associação com questões educacionais e socioeconômicas. Dentre os fatores dietéticos aliados ao tratamento do excesso de peso, o aumento do consumo de fibra alimentar é uma estratégia importante, capaz de auxiliar na redução do peso corporal, por meio da regulação do apetite e da ingestão de energia. O aumento do consumo de alimentos ricos em fibras na homeostase de minerais não deve ser vista como um fator prejudicial, visto que a quantidade de fibra alimentar consumida pela população dificilmente seria capaz de causar prejuízos a homeostase orgânica dos minerais. Quanto às questões que permeiam o peso corporal e a saúde óssea, ainda podem envolver estados inflamatórios e hormonais, contudo a partir de uma redução ponderal adequada, lenta e gradual, os danos ósseos podem ser prevenidos. Nesse contexto, o consumo de fibra alimentar pode ser um aliado ao tratamento gradual da perda de peso, de modo a prevenir alterações ósseas.

Palavras-chaves: Obesidade. Alterações do peso corporal. Fibras na dieta. Densidade óssea. Minerais na dieta.

Abstract

The aim of this review was to analyze the relationship between dietary fiber intake and its association with body weight control, as well as the effects of their consumption on the bioavailability of minerals, weight loss and bone health in overweight women. The increase in obesity has been observed more often in developing countries and in females, showing an association with socioeconomic and educational issues. Among the dietary factors associated with the overweight treatment, the increased on dietary fiber intake is an important strategy that can help on body weight loss through appetite regulation and energy intake. The increased on consumption of foods rich in dietary fiber should not be seen as a factor damaging for homeostasis of minerals, since the amount of dietary fiber consumed by the population would hardly be able of causing damage to the organic mineral homeostasis. The questions that permeate the relationship between body weight and bone health also may involve hormonal and inflammatory states, but from an adequate weight loss, slow and gradual, bone damage can be prevented. In this context, the consumption of dietary fiber can be coupled to a stepwise treatment of weight loss, to prevent bone health damages.

Key-words: Body weight changes. Dietary fiber. Weight loss. Bone density. Dietary minerals.

2.1 Introdução

A obesidade é definida como uma doença, caracterizada pelo acúmulo de gordura corporal resultante de um balanço energético positivo que acarreta riscos à saúde. Sua etiologia é associada à ingestão alimentar excessiva, baixa qualidade nutricional da dieta e fatores genéticos, metabólicos, socioculturais e psicossociais (2005). A obesidade pode ser considerada a mais grave epidemia global, atingido países industrializados como os Estados Unidos, onde aproximadamente 70% da população apresenta excesso de peso (FLEGAL *et al.*, 2010) e países em desenvolvimento como o Brasil, onde 46,6% da população encontra-se acima do peso corporal desejável (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

Embora a obesidade esteja associada a inúmeras comorbidades, sua relação com a saúde óssea ainda não é completamente compreendida. ZHAO *et al*. (2007) afirma que a obesidade pode proteger a mulher contra a osteoporose. Contudo, sugere-se também que a obesidade extrema pode estar associada com a densidade mineral óssea reduzida (NUNEZ *et al.*, 2007). O tratamento visando à redução do excesso de peso apresenta relação positiva com a perda de massa óssea, sendo a perda de 10% do peso corporal, indicada para redução de risco de comorbidades associadas, capaz de produzir uma perda óssea de aproximadamente 1 a 2% em vários ossos (SHAPSES e RIEDT, 2006).

Diante do crescimento da obesidade, diversos fatores dietéticos têm sido apontados como estratégias de combate ao excesso de peso, dentre os quais está a ingestão de alimentos ricos em fibra alimentar, como cereais, sementes e grãos integrais. Tais alimentos apresentam altas concentrações de fibra alimentar, fitoquímicos e compostos bioativos que podem auxiliar na regulação do apetite e redução ponderal (SLAVIN, 2005; BABIO, BULLO e SALAS-SALVADO, 2009; BABIO *et al.*, 2010). Fitoquímicos, como fitatos, taninos e oxalatos, entretanto, são capazes de se ligar aos minerais divalentes, reduzindo sua biodisponibilidade, dentre os quais figuram ferro, zinco e cálcio (SILVA e SILVA, 1999).

O presente estudo teve como objetivo discutir a partir de dados disponíveis na literatura, a relação da ingestão de fibra alimentar e sua associação ao controle do peso

corporal, assim como os efeitos do seu consumo na biodisponibilidade de minerais, na perda de peso e na saúde óssea, em mulheres com excesso de peso. A busca de informações para a composição desse trabalho foi realizada em diversas bases de dados científicos (Pubmed, Science Direct, Lilacs, Scielo, entre outras), sem limitação temporal, utilizando as seguintes palavras-chaves: fibra alimentar, perda de peso, obesidade, mulheres, saúde óssea, biodisponibilidade de minerais, ferro, zinco, bem como seus correspondentes em inglês.

2.2 Epidemiologia da Obesidade no Gênero Feminino

No Brasil, observa-se uma tendência na diferenciação entre os gêneros em relação à obesidade, com aumento da prevalência de excesso de peso desde os anos de 1970. Em comparação aos dados do Estudo Nacional da Despesa Familiar (ENDEF), 1974-1975 e a Pesquisa de Orçamentos Familiares (1989) houve aumento de 70% nos casos de obesidade entre as mulheres. No período de 2002-2003, os dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) mostraram que houve aumento de 50% da obesidade entre as mulheres. Estes mesmos dados evidenciaram que 40% dos adultos brasileiros apresentavam excesso de peso e 13% das mulheres apresentavam obesidade (ANDRADE, 2008). Os dados mais recentes da POF 2008-2009 evidenciaram excesso de peso em 50,1% dos homens e 48% das mulheres, tendo a prevalência da obesidade atingido 16,5% das mulheres e 12,5% dos homens (IBGE, 2010).

Inúmeros estudos no Brasil e no mundo apontam a existência de correlação negativa entre o nível de escolaridade e o desenvolvimento da obesidade feminina. Pesquisa realizada por Sichieri e Moura (2009), apontou que a escolaridade associou-se de forma negativa ao índice de massa corporal (IMC) de mulheres. Andrade (2008), avaliando a evolução da obesidade no município do Rio de Janeiro, encontrou que a escolaridade é o principal fator socioeconômico associado à obesidade. Estudo realizado por Kac, Velásquez-Meléndez e Coelho (2001), evidenciaram que ter maior número de anos de escolaridade resultou em menor relação cintura/quadril (RCQ). Molarius *et al*.

(2000) em pesquisa realizada em 26 países confirmaram que as mulheres com ensino superior eram mais magras do que aquelas com menor escolaridade.

Ao avaliar as condições socioeconômicas das famílias, é possível observar que a obesidade tem aumentado de forma mais acentuada entre as populações mais pobres. Estudos realizados na Suíça por Ljungvall e Gerdtham (2009) e na Espanha por Martín *et al.* (2008) verificaram que as mulheres com maior nível socioeconômico apresentaram menor risco de desenvolver sobrepeso/obesidade. Estudo realizado no Brasil, avaliando a associação da renda e a evolução da obesidade entre os anos de 1975 a 2003 evidenciou que para as mulheres, houve aumento da obesidade para todos os níveis de renda entre os anos de 1975 e 1989. Porém, em um período mais recente, 1989 a 2003, houve uma mudança com aumento da obesidade apenas entre os menores níveis de renda, havendo ainda diminuição da prevalência nos níveis socioeconômicos mais elevados (MONTEIRO, CONDE e POPKIN, 2007). Gigante *et al*. (2008) relataram maior prevalência de sobrepeso e obesidade entre as mulheres com menor nível socioeconômico, ao contrário do observado para os homens, com maiores prevalências entre os de maior nível econômico. Os dados mais recentes da POF 2008-2009 também confirmaram que a obesidade é mais frequente entre as mulheres pertencentes à classes intermediárias de renda (IBGE, 2010).

O excesso de peso tem sido, portanto, associado a um menor nível socioeconômico e educacional, onde se observa uma tendência de maiores cuidados relacionados ao peso corporal em indivíduos com níveis crescentes de educação formal (PINHO *et al.*, 2011).

2.3 Mulheres e Saúde Óssea

O tecido ósseo é dinâmico e apresenta-se a todo o momento em processo de *turnover* (remodelação) ósseo. Esse processo é realizado coordenadamente pela ação de células de formação (osteoblastos) e de ressorção (osteoclastos). Os prejuízos à microarquitetura óssea acontecem quando os osteoclastos criam uma cavidade excessivamente profunda, que não consegue ser preenchida suficientemente ou quando

os osteoblastos não conseguem preencher uma cavidade de ressorção normal (GARNERO, 2000).

As mulheres são expostas durante a vida, a situações, como a gestação e lactação, que as tornam mais propícias ao desenvolvimento de alterações ósseas. Durante essas fases, as secreções de estrogênio e prolactina encontram-se alteradas e há uma transferência substancial de cálcio da mãe para o bebê, sendo acumulado em um recém-nascido a termo cerca de 30 g do mineral. Caso o tecido ósseo fosse a única fonte de cálcio para a criança, a mãe perderia aproximadamente 3% do conteúdo mineral ósseo ao final de cada gestação.

Os efeitos desses dois períodos transitórios no tecido ósseo materno ainda não são bem compreendidos e a possibilidade de estarem envolvidos na patogênese da osteoporose permanece desconhecida. Na gestação, entretanto, há aumento na absorção materna de cálcio, além de alterações nos hormônios reguladores da homeostase do mineral e, portanto, recomenda-se uma ingestão de cálcio semelhante à de mulheres não grávidas (OLAUSSON *et al.*, 2008). Uma alimentação inadequada durante o período da gestação pode causar danos para a saúde óssea em longo prazo, principalmente no caso de sucessivas gestações (SOWERS, 2008).

O desenvolvimento de novas tecnologias tem auxiliado no entendimento da perda de massa óssea durante a gestação. Estudos de Sowers *et al.* (2000) e Tranquilli, Giannubilo e Corradetti (2004) encontraram modesta diminuição da massa óssea com a gestação. Outros estudos verificaram o aumento do *turnover* ósseo durante a gestação, com aumentos expressivos dos marcadores de ressorção óssea, principalmente nos dois últimos trimestres de gestação (ZENI *et al.*, 2003) e aumento da remodelação e desmineralização óssea materna (DELLA MARTINA *et al.*, 2010).

A lactação atua de forma ainda mais forte na mobilização de cálcio do tecido ósseo, de modo que o nível de retirada de cálcio dos ossos dependerá da quantidade de leite produzido e da duração do período de amamentação. A concentração de cálcio no leite materno é constante e independe da ingestão materna do mineral, porém há algumas discussões sobre a possibilidade de haver baixo teor de cálcio no leite de mulheres com ingestão muito baixa de cálcio (SOWERS, 2008). Mulheres com ingestão adequada de cálcio apresentam "recuperação" do cálcio perdido ao final da lactação ou quando esta é interrompida. No entanto, aquelas que apresentam ingestão de cálcio

muito baixam podem apresentar comprometimento de sua saúde óssea ou até mesmo de seu filho. A suplementação com o mineral durante a gestação não tem demonstrado efeitos positivos e possivelmente pode prejudicar adaptações metabólicas durante esse período (JARJOU *et al.*, 2010).

O sexo feminino apresenta maior predisposição para a ocorrência de prejuízos ósseos. Portanto, uma ingestão alimentar com suprimento adequado de cálcio e demais minerais como zinco e magnésio, importantes na formação e manutenção da matriz óssea, são essenciais para prevenir as possíveis perdas associadas aos períodos fisiológicos da gestação e lactação.

2.4 Alterações do Peso Corpóreo e Saúde Óssea

Até recentemente, acreditava-se que a obesidade se relacionava com a saúde óssea de forma positiva, de modo que indivíduos obesos apresentariam maior densidade mineral óssea e reduzida taxa de *turnover* ósseo (PAPAKITSOU *et al.*, 2004). Entretanto, estudo realizado a partir da relação das medidas de massa magra, gordurosa e massa óssea utilizando o a técnica do *Dual-Energy X-ray Absorptiometry* (DEXA), mostrou que o teor de tecido adiposo não se mostrou benéfico para a estrutura óssea em todas as situações (JANICKA *et al.*, 2007).

Existem alguns possíveis mecanismos que objetivam esclarecer a influência da obesidade e a perda de peso na saúde óssea. Na obesidade, uma série de fatores pode justificar o aumento da massa óssea, como o esforço para elevar o excesso de peso sobre o esqueleto, a associação entre massa gordurosa e a secreção de hormônios ativadores do tecido ósseo como leptina, adiponectina, grelina, além da insulina (SHAPSES e RIEDT, 2006). Pesquisa realizada com mulheres revelou que, para aquelas na pré-menopausa, não houve relação significativa entre gordura corporal e saúde óssea. Contudo para aquelas na pós-menopausa, houve correlação positiva (MACINNIS *et al.*, 2003), sugerindo que o papel protetor da obesidade é mais eficaz em casos onde há baixa atividade dos hormônios sexuais (PAPAKITSOU *et al.*, 2004).

A relação entre excesso de peso e maior densidade mineral óssea se baseia na proposição de que o peso corporal interage com os hormônios sexuais na manutenção da massa óssea, protegendo contra os efeitos adversos da deficiência estrogênica sobre o conteúdo ósseo (FRAZÃO e NAVEIRA, 2007).

Por outro lado, evidências recentes têm revelado a obesidade como um possível fator de risco para a homeostase óssea, devido aos níveis aumentados de PCR, IL-1, IL-6 e TNF-α, induzidos pelo estado de inflamação sub-clínica, que estimulam a ativação de precursores da atividade osteoclástica (GALLAGHER e SAI, 2010; GRECO *et al.*, 2010).

Inúmeros estudos relataram a relação entre perda de peso severa e perda de massa óssea (FLEISCHER *et al.*, 2008; PAULA e ROSEN, 2010). A perda de peso rápida pode ocorrer devido ao consumo de dietas restritivas ou intervenção cirúrgica, em que se podem esperar prejuízos ósseos mais pronunciados.

Estudos mostraram que a perda de 10% do peso corporal, indicada para redução dos riscos de comorbidades associadas ao excesso de peso é capaz de produzir uma perda óssea de aproximadamente 1 a 2% em vários ossos, além de aumentar os níveis dos marcadores de ressorção óssea (RIEDT *et al.*, 2005; UUSI-RASI. *et al.*, 2009). Estudo com mulheres que realizaram restrição energética e apresentaram perda de peso severa demonstrou que houve aumento dos marcadores de ressorção óssea (RIEDT *et al.*, 2008). Fleischer *et al*. (2008) avaliando a saúde óssea durante um ano após a cirurgia bariátrica mostraram que nesse período foram perdidos 45 kg em média. Além disso, houve diminuição da densidade mineral óssea de 9,2% no colo do fêmur e 8% no quadril, assim como um aumento de 106% do marcador bioquímico de ressorção óssea, NTX, após um ano da intervenção cirúrgica. Ao contrário, quando há perda ponderal gradativa, há menor perda da massa óssea ou até mesmo não há modificações nos compartimentos do tecido (SHAPSES e RIEDT, 2006).

Os hormônios leptina e adiponectina, secretados pelos adipócitos, podem desempenhar papel no metabolismo ósseo durante a perda de peso. O efeito anorético da leptina não ocorre em indivíduos obesos, devido ao desenvolvimento de resistência ao hormônio. O efeito central da leptina na inibição da formação óssea está relacionado ao efeito direto do hormônio sobre a atividade dos osteoblastos e indireto sobre os osteoclastos, possivelmente por meio de sinalização simpática.

A adiponectina desempenha papel contrário no metabolismo ósseo durante a perda de peso. Esse hormônio encontra-se geralmente diminuído na obesidade, porém durante a perda de peso moderada, seus níveis podem ser aumentados. A adiponectina poderia atuar em benefício da manutenção da massa óssea, uma vez que suprime a atividade dos osteoclastos e ativa a osteoblastogênese (SHAPSES e RIEDT, 2006).

Os conhecimentos entre a existência de uma relação, positiva ou negativa, entre o excesso de peso e prejuízos ósseos ainda apresentam lacunas que devem ser preenchidas à medida que os estudos avancem. Contudo, afirmação pela literatura quanto aos prejuízos ósseos causados pela perda severa de peso corporal podem ser prevenidos e atenuados por meio de redução ponderal lenta, gradual e acompanhada por profissionais habilitados. Nesse caso, as ações inerentes ao controle clínico, principalmente a atuação de hormônios secretados pelo tecido adiposo, podem ser atenuadas, causando menores prejuízos ósseos.

2.5 Fibra Alimentar e Peso Corporal

O aumento de peso corporal verificado em todo o mundo é originado principalmente da modificação dos padrões alimentares ao longo dos anos. O consumo cada vez maior de alimentos refinados em substituição aos alimentos integrais e a diminuição no consumo de frutas e hortaliças são fatores primordiais no aumento ponderal.

Os guias alimentares atuais recomendam uma alimentação rica em fibras para promoção da saúde e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), dentre essas, a obesidade. A recomendação atual de ingestão diária de fibra alimentar é de 38 e 25 g para homens e mulheres jovens, respectivamente. Porém, muitas vezes, esse nível de ingestão não é alcançado (IOM, 2001).

No Brasil, o consumo de alimentos fontes de fibras, diminuiu aproximadamente 50% entre as mulheres passando de um consumo diário de 4,8 para 2,6 porções (ANDRADE, 2008). Ainda no País, estudo conduzido por Mattos e Martins (2000) mostrou que o consumo médio da população de uma cidade do interior de São Paulo foi

de 23,77 ± 12,98 g de fibras por dia. Os resultados encontrados relataram a existência de práticas alimentares que levam ao baixo consumo de fibras alimentares.

As proposições teóricas sobre o papel das fibras alimentares na manutenção do peso corporal se baseiam em um efeito fisiológico que as fibras desempenhariam, atuando como um obstáculo para a ingestão energética excessiva por meio de um deslocamento de energia e nutrientes disponíveis a partir da dieta. Haveria, portanto, exigência de um maior tempo de mastigação, o que limita o consumo, secreção de saliva e de suco gástrico, resultando em uma expansão do estômago e aumento da saciação e saciedade. Por fim, levando à diminuição da eficiência de absorção de nutrientes no intestino delgado causado pelas fibras (PEREIRA e LUDWIG, 2001; MELLO e LAAKSONEN, 2009).

Os estudos observacionais mostram que a frequência de obesidade é menor em países em desenvolvimento onde há maior consumo de fibra alimentar (BABIO *et al.*, 2010). Contudo, nas últimas décadas, tem sido observado aumento da prevalência de obesidade acompanhada de diminuição no consumo de carboidratos complexos e fibra alimentar (HOWARTH, SALTZMAN e ROBERTS, 2001).

Resultado do estudo epidemiológico PREDIMED mostrou que relação inversa significativa entre o consumo de fibra alimentar total e IMC e circunferência abdominal (ESTRUCH *et al.*, 2009). Estudos epidemiológicos prospectivos também afirmam a relação entre o alto consumo de fibra e menor ganho de peso corporal. O Estudo CARDIA, realizado em diversos países, onde a coorte foi acompanhada durante dez anos e foram examinados 2909 indivíduos jovens mostrou, após ajuste para IMC e variáveis dietéticas, associação inversa entre consumo de fibra alimentar e ganho de peso corporal, sugerindo papel das fibras na prevenção do desenvolvimento da obesidade (LUDWIG *et al.*, 1999). No Estudo *Nurses Health*, Liu (2003) mostrou que as mulheres com maior consumo de fibra alimentar apresentaram risco 49% menor de ganhar peso quando comparadas às mulheres com o menor consumo. Papathanasopoulos e Camilleri (2010) verificaram que os estudos epidemiológicos mostram uma relação inversa entre a ingestão de fibra alimentar e peso corporal. Os mesmos autores revisaram oito estudos clínicos quanto à ingestão de fibras e controle ponderal e verificaram que para todos eles foi observada associação entre consumo de fibras e redução na ingestão energética dos indivíduos, com exceção de um estudo que

não verificou correlação, e outros dois nos quais o efeito não foi observado para uma dieta *ad libitum*.

Dados epidemiológicos sustentam a proposição do controle do peso corporal por meio do consumo de fibra alimentar, contudo, ainda não foi estabelecido se essa modulação se faz por meio da ingestão de fibra ou são consequências de vieses de causalidade ou outros fatores não controlados. De qualquer forma, é importante enfatizar que esses resultados podem refletir um padrão dietético, ao contrário da ingestão de fibra alimentar isoladamente (BABIO *et al.*, 2010).

2.5.1 Estudos clínicos

Apesar de os estudos epidemiológicos indicarem a relação entre consumo de fibra alimentar e regulação ponderal, ainda há escassez de estudos clínicos randomizados e controlados a fim de desvendar como o peso corporal é afetado pela ingestão de fibras. A literatura apresenta diversos estudos que investigaram a relação entre o consumo de suplementos de fibra alimentar e a modulação do peso corporal. Contudo, poucos são randomizados e controlados, além disso, estudos de longa duração (≥ 4 meses) são raros, a maioria é conduzido em pequenas amostras de populações heterogêneas e diversos tipos de fibras são testadas (HOWARTH, SALTZMAN e ROBERTS, 2001; SLAVIN, 2005). A tabela 1 mostra um compilado de estudos que avaliaram o efeito do consumo de diversos tipos de fibra alimentar e sua associação com a regulação ponderal.

Os diversos tipos de fibra alimentar desempenham efeitos distintos no organismo humano. A *goma guar* é um dos tipos de fibra alimentar mais estudados, e meta-análise de estudos randomizados placebo controlados mostrou que esse tipo de fibra não é eficaz na redução do peso corporal e seu consumo é frequentemente associado à desconforto gastrointestinal (PITTLER e ERNST, 2001). Rodríguez-Morán *et al*. (1998) mostrou que a administração de 5 g de *Plantago pyssilium* durante seis semanas não reduziu o peso corporal em pacientes diabéticos. Contudo, alguns estudos demonstraram que a suplementação com *glucomann* apresentou efeito positivo na

redução do apetite e do peso corporal (VITA *et al.*, 1992; CAIRELLA e MARCHINI, 1995). Salas-Salvado *et al*. (2008) em estudo clínico paralelo, duplo-cego, placebo-controlado, testou uma mistura de fibra alimentar (*Plantago ovata* e *glucamann*), e percebeu que houve maior redução ponderal para o grupo alimentado com a mistura de fibra, contudo a diferença quanto ao grupo placebo não foi significativa.

Tabela 1 - Estudos Clínicos que avaliaram o efeito do consumo de fibra alimentar na regulação do peso corporal

Referência	Amostra	Tipo e duração do estudo	Tipo de fibra	Resultado
Rodríguez-Morán *et al*., 1988	125 homens e mulheres com DM 2	Duplo-cego placebo-controlado. Doze semanas.	*Plantago Psyllium*	Não houve mudanças significativas no peso corporal.
Birketvedt et al., 2005	176 homens e mulheres com sobrepeso	Randomizado placebo-controlado. Cinco semanas.	*Glucomanna, gomar guar, alginat*	Dieta hipocalórica suplementada com fibra alimentar reduziu significativamente o peso corporal.
Salas-Salvadó et al., 2008	200 pacientes com sobrepeso	Paralelo, duplo-cego controlado. Dezesseis semanas.	Plantago ovate husk, glucomannan	Não houve diferença significativa em relação ao grupo placebo. Houve aumento na saciedade dos grupos suplementados com fibra alimentar.
Estruch et al., 2009	772 pacientes com alto risco cardiovascular	Randomizado. Seis meses.	Fibra alimentar total de alimentos naturais	Peso corporal, perímetro da cintura e pressão arterial diastólica reduziram significativamente nos maiores quintis de ingestão de fibra alimentar.
Ibrügger *et al*., 2012	25 e 20 jovens saudáveis	Randomizado, simples-cego *crossover*. Um dia de teste com *washout* de dois dias.	Fibra de semente de linhaça em bebida ou barra	Bebida contendo fibra de semente de linhaça aumentou a sensação de saciação e saciedade e diminuiu a sensação de fome desejo de ingestão de alimentos em relação ao controle. Barra contendo fibra de linhaça não apresentou efeito quanto à sensação e fome e saciedade.

Adaptado de Babio *et al*., 2010. DM 2: Diabetes Mellitus tipo 2.

A principal proposição para o efeito da fibra alimentar na redução do peso corporal, se dá pelo aumento das sensações de saciação e saciedade, efeito esse causado pelas propriedades intrínsecas da fibra, que influenciam fortemente a palatabilidade dos alimentos e requerem maior tempo de mastigação, influenciando o comportamento alimentar (LYON e KACINIK, 2012). Hamedani *et al*. (2009) demonstram que o consumo de uma refeição com alto teor de fibra aumentou a saciedade, além de que o consumo adicional de 14 g de fibra alimentar por dia é capaz de diminuir em 10% a ingestão energética. Da mesma forma, Ibrügger *et al*. (2012) demonstraram que a suplementação com fibra de linhaça aumentou a sensação de saciedade quando comparado ao controle, e poderia atuar na manutenção ou redução do peso corporal.

Os dados de pesquisas citadas apontam para o fato de que o controle ponderal por meio da ingestão de fibras é dependente de fatores principalmente relacionados ao tipo de fibra alimentar e a quantidade ingerida (WILLIS *et al.*, 2009), além de outras questões secundárias como a distribuição de macronutrientes das refeições e até mesmo seu valor energético (HAMEDANI *et al.*, 2009; LYLY *et al.*, 2009; LYLY *et al.*, 2010). Além disso, os dados mostram que a ingestão de fibra alimentar pode auxiliar no controle ponderal no contexto de uma dieta rica em frutas, vegetais, leguminosas, oleaginosas e cereais integrais. A recomendação do uso de suplementos de fibra alimentar para o controle ponderal não pode ser realizada, uma vez que ainda existem controvérsias quanto aos seus efeitos no peso corporal (BABIO *et al.*, 2010).

2.6 Efeito da ingestão de fibra alimentar na biodisponibilidade de minerais

Os estudos realizados ao longo dos anos têm demonstrado que a adição de alimentos, principalmente cereais ricos em fibra alimentar, pode apresentar influência negativa na biodisponibilidade de minerais, particularmente os metais bivalentes. Entretanto, esse efeito negativo não é propriamente da fibra alimentar e sim de outras substâncias presentes na matriz alimentar (GREGER, 1999; CALLEGARO *et al.*, 2010). A relação fibra-fitato-minerais é complexa e numerosos estudos atribuem aos fitatos um efeito depressor da absorção de minerais, dentre os quais o ferro e o zinco foram considerados os elementos essenciais mais afetados.

Contudo, o processamento dos alimentos, por meio da utilização de tratamentos térmicos, fermentação, germinação, dentre outros, são capazes de reduzir o efeito negativo sobre a biodisponibilidade de minerais (SCHLEMMER *et al.*, 2009; VERMA e BANERJEE, 2010). Luo *et al.* (2009) verificaram redução de até 84% de ácido fítico em feijões após fermentação e até 51% após maceração associada à pré-aquecimento. Além disso, a presença de fitato reduz a biodisponibilidade de minerais quando presente em proporções maiores que 1:1 no caso do ferro ou quando a razão molar é acima de 200 mMol no caso de fitato:CaxZn (FERGUSON *et al.*, 1989; GIBSON *et al.*, 2010).

A fibra solúvel por sua vez, pode desempenhar efeito positivo na biodisponibilidade de minerais, devido à sua atuação como substrato para a microbiota intestinal, que se multiplica e reduz o pH intestinal, aumentando a absorção de minerais (CHAWLA e PATIL, 2010). Estudos em modelos animais anêmicos mostraram que a fibra solúvel foi eficaz na recuperação dos níveis de hemoglobina (DE CÁSSIA FREITAS *et al.*, 2006; FELTRIN *et al.*, 2009), assim como evidências têm demonstrado que a administração de inulina auxilia na absorção de cálcio, ferro e zinco (SCHOLZ-AHRENS e SCHREZENMEIR, 2002; BOSSCHER *et al.*, 2003).

Muitos estudos demonstram resultados controversos, contudo a própria matriz de cada tipo de alimento (TURGEON e RIOUX, 2011) e suas variáveis diretas, como clima, solo, e região onde são cultivados interferem diretamente na composição química dos alimentos e consequentemente nos resultados dos estudos sobre biodisponibilidade (HALLBERG, BRUNE e ROSSANDER, 1986; LOBO *et al.*, 2011).

O conteúdo de fitoquímicos presentes nos alimentos de origem vegetal, consequentemente ricos em fibra alimentar, pode chamar a atenção quanto aos efeitos na biodisponibilidade de minerais. No entanto, seria necessário o consumo de elevadas proporções desses alimentos para que tais prejuízos fossem considerados de ocorrência preocupante. Além disso, demais fatores, como a estrutura molecular presente nos átomos contidos no alimento e a própria matriz alimentar, atuam na biodisponibilidade de minerais (COZZOLINO, 1997), além dos atenuadores de absorção e bioconversão dos nutrientes, fitatos, taninos, dentre outros (COZZOLINO, 1997; SILVA e SILVA, 1999).

Ainda assim, o consumo de fibra alimentar pela população geral, considerado aquém das recomendações de ingestão, bem como o padrão de alimentação encontrado na atualidade, não justifica preocupação excessiva quanto aos danos à biodisponibilidade de minerais por meio da ingestão de alimentos ricos em fibra alimentar.

2.7 Considerações finais

Dentre os fatores dietéticos aliados ao tratamento do excesso de peso, o aumento do consumo de fibra alimentar é uma estratégia importante, capaz de auxiliar na redução do peso corporal, além de fornecer um padrão alimentar saudável e de qualidade nutricional. A implicação do aumento do consumo de alimentos ricos em fibras na homeostase de minerais não deve ser vista como um fator prejudicial, visto que a quantidade de fibra comumente consumida pela população dificilmente seria capaz de causar prejuízos a homeostase orgânica dos minerais. Quanto às questões que permeiam o peso corporal e a saúde óssea, ainda podem envolver estados inflamatórios e hormonais, contudo a partir de uma redução ponderal adequada, lenta e gradual, os danos ósseos podem ser prevenidos. Nesse contexto, o consumo de fibra alimentar pode ser um aliado ao tratamento gradual da perda de peso, de modo a prevenir alterações ósseas.

2.8 Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto de pesquisa (APQ-00421-11) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo à Bárbara Nery Enes.

Referências

ANDRADE, R. G. **Evolução da obesidade e do consumo alimentar de 1995 a 2005 em mulheres de 35 anos ou mais no município do Rio de Janeiro** Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

BABIO, N., BALANZA, R., BASULTO, J., BULLÓ, M. e SALAS-SALVADÓ, J. Dietary fibre: influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile. **Nutrición Hospitalaria**, v.25, p.327-340. 2010.

BABIO, N., BULLO, M. e SALAS-SALVADO, J. Mediterranean diet and metabolic syndrome: the evidence. **Public health nutrition**, v.12, n.9A, p.1607-17. 2009.

BOSSCHER, D., VAN CAILLIE-BERTRAND, M., VAN CAUWENBERGH, R. e DEELSTRA, H. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutrition**, v.19, n.7–8, p.641-645. 2003.

CAIRELLA, M. e MARCHINI, G. Evaluation of the action of glucomannan on metabolic parameters and on the sensation of satiation in overweight and obese patients. **La Clinica terapeutica**, v.146, n.4, p.269-74. 1995.

CALLEGARO, M. G. K., DIETTRICH, T., ALVES, E., MILBRADT, B. G., DENARDIN, C. C., SILVA, L. P. e EMANUELLI, T. Supplementation with fiber-rich multimixtures yields a higher dietary concentration and apparent absorption of minerals in rats. **Nutrition Research**, v.30, n.9, p.615-625. 2010.

CHAWLA, R. e PATIL, G. R. Soluble Dietary Fiber. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, n.2, p.178-196. 2010.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v.10, p.87-98. 1997.

DE CÁSSIA FREITAS, K., AMANCIO, O. M. S., FERREIRA NOVO, N., FAGUNDES-NETO, U. e DE MORAIS, M. B. Partially hydrolyzed guar gum increases intestinal absorption of iron in growing rats with iron deficiency anemia. **Clinical Nutrition**, v.25, n.5, p.851-858. 2006.

DELLA MARTINA, M., BIASIOLI, A., VASCOTTO, L., RINUNCINI, D., ADORATI MENEGATO, A., LIVA, S., LONDERO, A., DRIUL, L. e MARCHESONI, D. Bone ultrasonometry measurements during pregnancy. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v.281, n.3, p.401-407. 2010.

ESTRUCH, R., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A., CORELLA, D., BASORA-GALLISÁ, J., RUIZ-GUTIÉRREZ, V., COVAS, M. I., FIOL, M., GÓMEZ-GRACIA, E., LÓPEZ-SABATER, M. C., ESCODA, R., PENA, M. A., DIEZ-ESPINO, J., LAHOZ, C., LAPETRA, J., SÁEZ, G. e ROS, E. Effects of dietary fibre intake on risk factors for cardiovascular disease in subjects at high risk. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v.63, n.7, July 1, 2009, p.582-588. 2009.

FELTRIN, C., BATISTA DE MORAIS, M., DE CÁSSIA FREITAS, K., BENINGA DE MORAIS, T., FAGUNDES NETO, U. e SILVÉRIO AMANCIO, O. Effect of Soluble Fiber Pectin on Growth and Intestinal Iron Absorption in Rats During Recovery from Iron Deficiency Anemia. **Biological Trace Element Research**, v.129, n.1, p.221-228. 2009.

FERGUSON, E., GIBSON, R., THOMPSON, L. e OUNPUU, S. Dietary calcium, phytate, and zinc intakes and the calcium, phytate, and zinc molar ratios of the diets of a selected group of East African children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.50, n.6, December 1, 1989, p.1450-1456. 1989.

FLEGAL, K. M., CARROLL, M. D., OGDEN, C. L. e CURTIN, L. R. Prevalence and Trends in Obesity Among US Adults, 1999-2008. **JAMA**, v.303, n.3, January 20, 2010, p.235-241. 2010.

FLEISCHER, J., STEIN, E. M., BESSLER, M., BADIA, M. D., RESTUCCIA, N., OLIVERO-RIVERA, L., MCMAHON, D. J. e SILVERBERG, S. J. The Decline in Hip Bone Density after Gastric Bypass Surgery Is Associated with Extent of Weight Loss. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.93, n.10, October 1, 2008, p.3735-3740. 2008.

FRAZÃO, P. e NAVEIRA, M. Fatores associados à baixa densidade mineral óssea em mulheres brancas. **Revista de Saúde Pública**, v.41, p.740-748. 2007.

GALLAGHER, J. C. e SAI, A. J. Molecular biology of bone remodeling: Implications for new therapeutic targets for osteoporosis. **Maturitas**, v.65, n.4, p.301-307. 2010.

GARNERO, P. Markers of Bone Turnover for the Prediction of Fracture Risk. **Osteoporosis International**, v.11, n.18, p.S55-S65. 2000.

GIBSON, R. S., BAILEY, K. B., GIBBS, M. e FERGUSON, E. L. A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. **Food & Nutrition Bulletin**, v.31, n.Supplement 2, p.134-146. 2010.

GIGANTE, D. P., MINTEN, G. C., HORTA, B. L., BARROS, F. C. e VICTORA, C. G. Avaliação nutricional de adultos da coorte de nascimentos de 1982, Pelotas, RS. **Revista de Saúde Pública**, v.42, p.60-69. 2008.

GRECO, E. A., FORNARI, R., ROSSI, F., SANTIEMMA, V., PROSSOMARITI, G., ANNOSCIA, C., AVERSA, A., BRAMA, M., MARINI, M., DONINI, L. M., SPERA, G., LENZI, A., LUBRANO, C. e MIGLIACCIO, S. Is obesity protective for osteoporosis? Evaluation of bone mineral density in individuals with high body mass index. **International Journal of Clinical Practice**, v.64, n.6, p.817-820. 2010.

GREGER, J. L. Nondigestible Carbohydrates and Mineral Bioavailability. **The Journal of Nutrition**, v.129, n.7, July 1, 1999, p.1434. 1999.

HALLBERG, L., BRUNE, M. e ROSSANDER, L. Low bioavailability of carbonyl iron in man: studies on iron fortification of wheat flour. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.43, n.1, January 1, 1986, p.59-67. 1986.

HAMEDANI, A., AKHAVAN, T., SAMRA, R. A. e ANDERSON, G. H. Reduced energy intake at breakfast is not compensated for at lunch if a high-insoluble-fiber cereal replaces a low-fiber cereal. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.89, n.5, May 1, 2009, p.1343-1349. 2009.

HOWARTH, N. C., SALTZMAN, E. e ROBERTS, S. B. Dietary Fiber and Weight Regulation. **Nutrition Reviews**, v.59, n.5, p.129-139. 2001.

IBRÜGGER, S., KRISTENSEN, M., MIKKELSEN, M. S. e ASTRUP, A. Flaxseed dietary fiber supplements for suppression of appetite and food intake. **Appetite**, v.58, n.2, p.490-495. 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. POF 2008 2009 - Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. . **Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1699** 2010.

IOM. **Dietary reference intakes. Proposed definition of dietary fiber.** National Academies Press. Washington, DC. 2001

JANICKA, A., WREN, T. A. L., SANCHEZ, M. M., DOREY, F., KIM, P. S., MITTELMAN, S. D. e GILSANZ, V. Fat Mass Is Not Beneficial to Bone in Adolescents and Young Adults. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.92, n.1, January 1, 2007, p.143-147. 2007.

JARJOU, L. M. A., LASKEY, M. A., SAWO, Y., GOLDBERG, G. R., COLE, T. J. e PRENTICE, A. Effect of calcium supplementation in pregnancy on maternal bone outcomes in women with a low calcium intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.92, n.2, August 1, 2010, p.450-457. 2010.

KAC, G., VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. e COELHO, M. A. S. C. Fatores associados à obesidade abdominal em mulheres em idade reprodutiva. **Revista de Saúde Pública**, v.35, p.46-51. 2001.

LIU, S. Whole-grain foods, dietary fiber, and type 2 diabetes: searching for a kernel of truth. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, n.3, March 1, 2003, p.527-529. 2003.

LJUNGVALL, Å. e GERDTHAM, U.-G. More equal but heavier: A longitudinal analysis of income-related obesity inequalities in an adult Swedish cohort. **Social Science & Medicine**, v.70, n.2, p.221-231. 2009.

LOBO, A. R., COCATO, M. L., BORELLI, P., GAIEVSKI, E. H. S., CRISMA, A. R., NAKAJIMA, K., NAKANO, E. Y. e COLLI, C. Iron bioavailability from ferric pyrophosphate in rats fed with fructan-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour. **Food Chemistry**, v.126, n.3, p.885-891. 2011.

LUDWIG, D. S., PEREIRA, M. A., KROENKE, C. H., HILNER, J. E., VAN HORN, L., SLATTERY, M. L. e JACOBS, D. R. Dietary Fiber, Weight Gain, and Cardiovascular Disease Risk Factors in Young Adults. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v.282, n.16, October 27, 1999, p.1539-1546. 1999.

LUO, Y., GU, Z., HAN, Y. e CHEN, Z. The impact of processing on phytic acid, in vitro soluble iron and Phy/Fe molar ratio of faba bean (*Vicia faba* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, n.5, p.861-866. 2009.

LYLY, M., LIUKKONEN, K.-H., SALMENKALLIO-MARTTILA, M., KARHUNEN, L., POUTANEN, K. e LÄHTEENMÄKI, L. Fibre in beverages can enhance perceived satiety. **European Journal of Nutrition**, v.48, n.4, p.251-258. 2009.

LYLY, M., OHLS, N., LÄHTEENMÄKI, L., SALMENKALLIO-MARTTILA, M., LIUKKONEN, K.-H., KARHUNEN, L. e POUTANEN, K. The effect of fibre amount, energy level and viscosity of beverages containing oat fibre supplement on perceived satiety. **Food and Nutrition Research**, v.54. 2010.

LYON, M. e KACINIK, V. Is There a Place for Dietary Fiber Supplements in Weight Management? **Current Obesity Reports**, p.1-9. 2012.

MACINNIS, R., CASSAR, C., NOWSON, C., PATON, L., FLICKER, L., HOPPER, J., LARKINS, R. e WARK, J. Determinants of Bone Density in 30- to 65-Year-Old Women: A Co-Twin Study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.18, n.9, p.1650-1656. 2003.

MARTÍN, A. R., NIETO, J. M. M., RUIZ, J. P. N. e JIMÉNEZ, L. E. Overweight and obesity: The role of education, employment and income in Spanish adults. **Appetite**, v.51, n.2, p.266-272. 2008.

MATTOS, L. L. D. e MARTINS, I. S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Revista de Saúde Pública**, v.34, p.50-55. 2000.

MELLO, V. D. D. e LAAKSONEN, D. E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.53, p.509-518. 2009.

MOLARIUS, A., SEIDELL, J. C., SANS, S., TUOMILEHTO, J. e KUULASMAA, K. Educational level, relative body weight, and changes in their association over 10 years: an international perspective from the WHO MONICA Project. **American Journal of Public Health**, v.90, n.8, August 1, 2000, p.1260-1268. 2000.

MONTEIRO, C. A., CONDE, W. L. e POPKIN, B. M. Income-Specific Trends in Obesity in Brazil: 1975 2003. **American Journal of Public Health**, v.97, n.10, October 1, 2007, p.1808-1812. 2007.

NUNEZ, N. P., CARPENTER, C. L., PERKINS, S. N., BERRIGAN, D., JAQUE, S. V., INGLES, S. A., BERNSTEIN, L., FORMAN, M. R., BARRETT, J. C. e HURSTING, S. D. Extreme Obesity Reduces Bone Mineral Density: Complementary Evidence from Mice and Women[ast]. **Obesity**, v.15, n.8, p.1980-1987. 2007.

OLAUSSON, H., LASKEY, M. A., GOLDBERG, G. R. e PRENTICE, A. Changes in bone mineral status and bone size during pregnancy and the influences of body weight and calcium intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.88, n.4, October 1, 2008, p.1032-1039. 2008.

PAPAKITSOU, E. F., MARGIORIS, A. N., DRETAKIS, K. E., TROVAS, G., ZORAS, U., LYRITIS, G., DRETAKIS, E. K. e STERGIOPOULOS, K. Body mass index (BMI) and parameters of bone formation and resorption in postmenopausal women. **Maturitas**, v.47, n.3, p.185-193. 2004.

PAPATHANASOPOULOS, A. e CAMILLERI, M. Dietary Fiber Supplements: Effects in Obesity and Metabolic Syndrome and Relationship to Gastrointestinal Functions. **Gastroenterology**, v.138, n.1, p.65-72.e2. 2010.

PAULA, F. J. A. D. e ROSEN, C. J. Obesity, diabetes mellitus and last but not least, osteoporosis. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.54, p.150-157. 2010.

PEREIRA, M. A. e LUDWIG, D. S. DIETARY FIBER AND BODY-WEIGHT REGULATION: Observations and Mechanisms. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.4, p.969-980. 2001.

PINHO, C. P. S., DINIZ, A. D. S., ARRUDA, I. K. G., LIRA, P. I. C. D., SEQUEIRA, L. A. D. S., GONÇALVES, F. C. L. D. S. P. e BATISTA FILHO, M. Excesso de peso em adultos do Estado de Pernambuco, Brasil: magnitude e fatores associados. **Cadernos de Saúde Pública**, v.27, p.2340-2350. 2011.

PITTLER, M. H. e ERNST, E. Guar gum for body weight reduction: meta-analysis of randomized trials. **The American Journal of Medicine**, v.110, n.9, p.724-730. 2001.

RIEDT, C. S., BUCKLEY, B. T., BROLIN, R. E., AMBIA-SOBHAN, H., RHOADS, G. G. e SHAPSES, S. A. Blood lead levels and bone turnover with weight reduction in women. **Jounal of Exposure Science & Environmental Epidemiology**, v.19, n.1, p.90-96. 2008.

RIEDT, C. S., CIFUENTES, M., STAHL, T., CHOWDHURY, H. A., SCHLUSSEL, Y. e SHAPSES, S. A. Overweight Postmenopausal Women Lose Bone With Moderate Weight Reduction and 1 g/day Calcium Intake. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.20, n.3, p.455-463. 2005.

-MORÁN, M., GUERRERO-ROMERO, F. e LAZCANO-BURCIAGA, G. Lipid- and Glucose-Lowering Efficacy of Plantago Psyllium in Type II Diabetes. **Journal of Diabetes and its Complications**, v.12, n.5, p.273-278. 1998.

SALAS-SALVADO, J., FARRES, X., LUQUE, X., NAREJOS, S., BORRELL, M., BASORA, J., ANGUERA, A., TORRES, F., BULLO, M., BALANZA, R. e FIBER IN OBESITY-STUDY, G. Effect of two doses of a mixture of soluble fibres on body weight and metabolic variables in overweight or obese patients: a randomised trial. **The British journal of nutrition**, v.99, n.6, p.1380-7. 2008.

SCHLEMMER, U., FRØLICH, W., PRIETO, R. M. e GRASES, F. Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.53, n.S2, p.S330-S375. 2009.

SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism — experimental data and mechanism. **British Journal of Nutrition**, v.87, n.2, p.179 - 186. 2002.

SHAPSES, S. A. e RIEDT, C. S. Bone, Body Weight, and Weight Reduction: What Are the Concerns? **Journal of Nutrition**, v.136, n.6, June 1, 2006, p.1453-1456. 2006.

SICHIERI, R. e MOURA, E. C. D. Análise multinível das variações no índice de massa corporal entre adultos, Brasil, 2006. **Revista de Saúde Pública**, v.43, p.90-97. 2009.

SILVA, M. R. e SILVA, M. A. A. P. D. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v.12, p.21-32. 1999.

SLAVIN, J. L. Dietary fiber and body weight. **Nutrition**, v.21, n.3, p.411-418. 2005.
SOWERS, M. F., SCHOLL, T., HARRIS, L. e JANNAUSCH, M. Bone Loss in Adolescent and Adult Pregnant Women. **Obstetrics & Gynecology**, v.96, n.2, p.189-193. 2000.

SOWERS, M. Premenopausal Reproductive and Hormonal Characteristics and the Risk for Osteoporosis. In: ROBERT, M., DAVID, F., DOROTHY, A. N., CLIFFORD J. ROSENA2 - ROBERT MARCUS, D. F. D. A. N. e CLIFFORD, J. R. (Ed.). **Osteoporosis (Third Edition)**. San Diego: Academic Press, 2008. p.861-885

TRANQUILLI, A. L., GIANNUBILO, S. R. e CORRADETTI, A. Ultrasound measurement of pregnancy-induced changes in maternal bone mass: a longitudinal, cross-sectional and biochemical study. **Gynecological Endocrinology**, v.18, n.5, p.258 - 262. 2004.

TURGEON, S. L. e RIOUX, L.-E. Food matrix impact on macronutrients nutritional properties. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.8, p.1915-1924. 2011.

UUSI-RASI., K., SIEVÄNEN., H., KANNUS., P., PASANEN., M., KUKKONEN-HARJULA., K. e ., M. F. Influence of weight reduction on muscle performance and bone mass, structure and metabolism in obese premenopausal women. **Jounal Musculoskelet Neuronal Interact**, v.9, p.72-80. 2009.

VERMA, A. K. e BANERJEE, R. Dietary fibre as functional ingredient in meat products: a novel approach for healthy living — a review **Journal of Food Science and Technology**, v.47, p.247-257. 2010.

VITA, P. M., RESTELLI, A., CASPANI, P. e KLINGER, R. Chronic use of glucomannan in the dietary treatment of severe obesity. **Minerva medica**, v.83, n.3, p.135-9. 1992.

WILLIS, H. J., ELDRIDGE, A. L., BEISEIGEL, J., THOMAS, W. e SLAVIN, J. L. Greater satiety response with resistant starch and corn bran in human subjects. **Nutrition Research**, v.29, n.2, p.100-105. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic.**, p.1–253. 2005

ZENI, S. N., ORTELA SOLER, C. R., LAZZARI, A., LÓPEZ, L., SUAREZ, M., GREGORIO, S. D., SOMOZA, J. I. e DE PORTELA, M. L. Interrelationship between bone turnover markers and dietary calcium intake in pregnant women: a longitudinal study. **Bone**, v.33, n.4, p.606-613. 2003.

3 HIPÓTESE

O produto rico em fibra alimentar pode auxiliar na perda de peso e alteração da composição corporal, por meio da regulação da sensação de fome e saciedade, contudo, a perda de peso pode causar prejuízos ósseos, assim como a presença de fatores antinutricionais / fitoquímicos pode reduzir a biodisponibilidade dos minerais ferro e zinco.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de uma mistura de cereais, sementes e grãos, conhecida popularmente como "Ração Humana" no estado nutricional de ferro e zinco, na composição corporal e na saúde óssea.

4.2 Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar a composição química da "Ração Humana";
- ✓ Avaliar a biodisponibilidade de ferro em três versões (caseira, *light* e regular) de "Ração Humana" em ratos *Wistar*;
- ✓ Avaliar o efeito da "Ração Humana" no peso e na composição corporal em mulheres com excesso de peso;
- ✓ Avaliar o efeito da "Ração Humana" na saúde óssea e na pressão arterial em mulheres com excesso de peso;
- ✓ Avaliar o consumo alimentar e de nutrientes das mulheres participantes antes e durante o estudo;
- ✓ Avaliar o efeito da "Ração Humana" na sensação de fome e saciedade das mulheres participantes do estudo;
- ✓ Avaliar o efeito da "Ração Humana" no estado nutricional referente aos minerais ferro e zinco nas mulheres participantes do estudo.

5 METODOLOGIA GERAL

5.1 Apresentação

A presente dissertação foi desenvolvida a partir do projeto em que se avaliou o efeito das propriedades funcionais da mistura de cereais, sementes e grãos, conhecida como "Ração Humana" na gordura corporal, saúde óssea, biodisponibilidade de minerais e no risco para desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis em mulheres com excesso de peso. Esse projeto envolveu duas discentes de Mestrado em Ciência da Nutrição, suas respectivas orientadoras, e equipe de apoio. No presente trabalho foram utilizados os dados de biodisponibilidade de minerais, saúde óssea, peso e composição corporal.

Além destes dados, foi realizado um estudo com animais para avaliar a biodisponibilidade de ferro de três versões de "Ração Humana". O ensaio biológico foi realizado nos laboratórios de Nutrição Experimental e Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) e Laboratório de Absorção Atômica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV). O estudo clínico por sua vez, foi desenvolvido nos laboratórios de Desenvolvimento de Novos Produtos e Análise Sensorial, Análise de Alimentos, Nutrição Experimental e Análises Clínicas do DNS e Laboratório de Absorção Atômica do Departamento de Solos da UFV. Foram realizadas etapas desse trabalho no Laboratório de Análises Clínicas e no setor de Raio X da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Foi utilizado, para atendimentos nutricionais e coleta de dados das voluntárias participantes do projeto, a sede da Estratégia de Saúde da Família do bairro Silvestre, gentilmente cedida pela Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura Municipal de Viçosa.

5.2 Mistura de Cereais, sementes e grãos

5.2.1 Aquisição e elaboração

Os trabalhos foram desenvolvidos com misturas de cereais, sementes e grãos, baseadas na formulação do produto conhecido como "Ração Humana". Para o ensaio biológico, realizado com ratos, foram utilizadas três diferentes versões de MC, *light*, regular e caseira. As primeiras são industrializadas, da mesma marca, com o nome comercial de "Ração Humana". A versão *light* foi doada pelo fabricante, em outubro de 2010, sem variação do lote dos produtos, e a regular, adquirida no comércio de Viçosa, MG, em janeiro de 2011. A terceira versão, caseira, foi desenvolvida a partir da formulação da "Ração Humana" regular, respeitando a diversidade dos ingredientes e as devidas proporções. Para o estudo clínico, apenas a MC caseira foi utilizado devido à maior aceitação do produto em testes preliminares.

Os ingredientes para o preparo da MC caseira foram adquiridos em loja de produtos naturais em Belo Horizonte, MG, em quantidade suficiente para atender todo o período da pesquisa para que não houvesse variação quanto ao lote dos produtos. A MC foi composta dos seguintes ingredientes: quinua (2%), agar-agar (4%), açúcar mascavo (8%), aveia em flocos (8%), cacau em pó (2%), fibra de trigo (20%), farinha de arroz integral (8%), fubá de milho branco (8%), farinha de soja desengordurada (10%), gergelim com casca (8%), gérmen de trigo (6%), guaraná em pó (2%), levedo de cerveja (2%) e semente de linhaça (10%).

Inicialmente todos os ingredientes foram pesados e misturados, de modo a obter uma mistura homogênea. Os ingredientes que não se apresentavam em forma de pó, semente de linhaça, gergelim e aveia em flocos, foram triturados em liquidificador, para somente após, serem pesados e homogeneizados aos demais. Após o preparo, a MC foi armazenada em sacos plásticos escuros e vedados, de modo a evitar contato com oxigênio e luz solar e conservado em geladeira (4 ºC) até o momento de sua utilização.

5.3 Caracterização da Composição química das versões de misturas de cereais, sementes e grãos e *shakes*

5.3.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado a 105 ^{o}C, em placas de petri previamente taradas e submetidas a aquecimento em estufa até peso constante, conforme o procedimento descrito pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (2002) (Método Ba 2a-38).

5.3.2 Proteína

A determinação de proteínas foi realizada segundo o método micro Kjeldahl, para a quantificação de nitrogênio total, descrito pela AOAC (2002) (Método Ba 4a-38), utilizando-se fator de conversão igual a 6,25.

5.3.3 Lipídios

A determinação do teor de lipídios na amostra foi realizada por extração em aparelho Soxhlet, utilizando éter de etílico como extrator, por 8 horas, sob refluxo, de acordo com a AOAC (2002) (Método Ba 3-38).

5.3.4 Cinzas

Para a determinação da concentração de cinzas, as amostras submetidas à calcinação em mufla (Quimis®, modelo 318, Diadema, Brasil) e o resultado foram expressos pela

diferença de massa antes e após a calcinação, segundo descrito pela AOAC (2002) (Método Ba 5a-49).

5.3.5 Fibra alimentar

A determinação dos teores de fibra alimentar total (FAT), solúvel (FAS) e insolúvel (FAI) da MC e dos *shakes* foi realizada por meio do método enzimático gravimétrico (Método Ba 6-84) (AOAC, 2002).

Para hidrólise enzimática foram utilizadas α-amilase termoresistente, protease e amiloglicosidase (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA, código TDF100A). Para a filtração utilizaram-se cadinhos de vidro com placa de vidro sintetizado com porosidade n^{o}2 (ASTM 40-60mesh) e celite como auxiliar de filtração. O teor de fibra alimentar total foi obtido por meio da soma entre as frações solúvel e insolúvel.

5.3.5.1 Preparo de cadinhos

Os cadinhos foram deixados de molho com detergente neutro (Chemco®) a 20% durante 24 horas. Foram enxaguados com água destilada e com vácuo e no sentido normal e oposto. Foram secos em estufa (Marconi®, modelo MA-035/5, Piracicaba, Brasil) a 105 °C por 1 hora e incinerados em mufla (Quimis®, modelo 318, Diadema, Brasil) a 525 °C por 5 horas. Logo após os cadinhos foram lavados 5 vezes com 20 mL de HCl 0,5N e, posteriormente, enxaguados três vezes com 20 mL de água destilada no sentido oposto. Os cadinhos foram secos em estufa a 105 °C por 12 horas, resfriados em dessecador contendo sílica e pesados. Foi pesado 1 g de celite, com precisão de 0,0001g e adicionado aos cadinhos. Em seguida os cadinhos foram novamente submetidos à secagem a 105 °C por 12 horas e, posteriormente, pesados.

5.3.5.2 Obtenção do hidrolisado

Foi pesado em béquer de 600 mL, 1 g de amostra previamente desengordurada, em duplicata, com precisão de 0,1mg. Foram adicionados, em cada béquer, 50 mL de tampão fotato pH 6,0. O pH foi ajustado para 6,0 ± 0,2, adicionando-se, quando necessário, NaOH 0,275 ou HCl 0,325 N. Adicionou-se 0,1 mL de α-amilase termoresistente à solução. O béquer foi tampado com folha de papel alumínio e aquecido em banho-maria (Marconi®, modelo MA 093, Piracicaba, Brasil) a 97 ºC durante 30 minutos, com agitação (100 rpm) a cada 5 minutos. As amostras foram resfriadas em temperatura ambiente. O pH foi ajustado para 7,5 ± 0,1. Para tal, foram adicionados em torno de 10 mL de NaOH 0,275N. Em seguida, acrescentou-se 0,1 mL de protease (5 mg/0,1 mL) a solução pré-digerida e o béquer novamente tampado com folha de alumínio e incubado à 60 °C por 30 minutos, com agitação horizontal contínua (100 rpm). Após o hidrolisado ser resfriado à temperatura ambiente, foram acrescidos, em torno de 10 mL de HCl 0,325 N, com a finalidade de ajustar o pH para 4,3 ± 0,3. Finalmente, adicionou-se 0,1 mL de amiloglicosidase à solução e o béquer foi novamente tampado com folha de alumínio e incubado a 60 °C por 30 minutos, com agitação horizontal contínua (100 rpm), para obtenção do hidrolisado final. O mesmo procedimento foi realizado em duplicata para obtenção do branco.

5.3.5.3 Fibra Insolúvel

Inicialmente, com auxílio da bomba de vácuo (Marconi®, modelo MA-058, Piracicaba, Brasil), filtrou-se o hidrolisado em cadinho. Em seguida lavou-se o resíduo do cadinho com 10 mL de água destilada, repetindo o procedimento três vezes, lavando primeiramente o béquer que continha a amostra para minimizar as perdas. O volume filtrado no kitasato foi transferido para um béquer de 600 mL, utilizando-se 320 mL de álcool 98% aquecido a 60 °C para lavar o kitasato, sendo esse material reservado para análise de fibra solúvel. Os cadinhos foram, em seguida, lavados duas vezes com o volume de 20 mL de etanol a 95%, e duas vezes com 20 mL acetona. Os cadinhos foram secos em estufa a 105 °C

durante 12 horas. Posteriormente, realizou-se análise de proteína e cinzas nos resíduos do cadinho (AOAC, 2002).

5.3.5.4 Fibra Solúvel

O volume reservado na etapa filtração da fibra insolúvel foi deixado em repouso em temperatura ambiente durante 1 hora para precipitação. O precipitado foi filtrado nos cadinhos e logo após estes foram lavados com auxílio da bomba de vácuo com 20 mL etanol a 78%. Em seguida, o conteúdo reservado foi filtrado no cadinho com auxilio de bomba de vácuo. Estes foram lavados consecutivamente três vezes com volume de 20 mL de etanol a 78%, duas vezes com 20 mL de etanol a 95% e duas vezes com 20 mL de acetona. Posteriormente, o resíduo dos cadinhos foi colocado para secar em estufa a 105 °C durante 12 horas, e procedeu-se à análise de proteínas e cinzas dos resíduos conforme descrito anteriormente.

5.3.5.5 Fibra total

A determinação da fibra alimentar total foi realizada pela soma da frações solúvel e insolúvel.

5.3.6 Carboidratos

O teor de carboidratos foi obtido pela diferença entre o total da amostra (100%) e os teores de proteínas, lipídios, fibra alimentar total, teor de água e cinzas (AOAC, 2002).

5.3.7 Valor energético

O valor energético foi determinado de acordo com a composição de alimento em termos de proteínas, carboidratos e lipídios, sendo utilizados fatores de conversão 4, 4, e 9 kcal/g de alimento, respectivamente (FRARY e JOHNSON, 2005).

5.3.8 Taninos condensados

A determinação do teor de taninos condensados foi realizada pelo método de reação vanilina, segundo Burns (1971) com modificações de Maxson e Rooney (1972) e Price, Van Scoyoc e Butler (1978). Foram suspensas 200 mg de amostras em 10 mL de solução a 1% de HCl em metanol. Os tubos foram colocados em agitador automático a 80 rpm, durante 20 minutos para a extração dos taninos mantendo temperatura a 30 ºC. Em seguida, foram centrifugados a 3.000 rpm, por 20 minutos. Alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram adicionadas a 2,5 mL de solução a 1% de vanilina em metanol e 2,5 mL de solução a 8% de HCl em metanol. Os tubos foram mantidos em repouso por 20 minutos e as absorbâncias foram medidas a 500 nm em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1601, Japan) contra o branco. Foi subtraída das leituras das amostras a absorbância do branco, na qual a solução de vanilina foi omitida.

Foi construída uma curva analítica de catequina em que 200 mg do composto foram diluídas em metanol, sendo o volume ajustado em balão volumétrico de 200 mL. Alíquotas de 5, 10, 20, 25 e 50 foram retiradas da solução concentrada e o volume foi ajustado para 100 mL em balão volumétrico com metanol. Em seguida, as absorbâncias foram medidas a 500 nm contra o branco reagente. Uma curva-padrão de catequina ($y = 0,0045x + 0,0013$; $R^2=0,997$) foi usada para expressar os resultados em miligrama equivalente de catequina por grama de amostra.

5.3.9 Fitato

O teor de fitato foi segundo método de Latta e Eskin (1980), com modificações por Ellis e Morris (1986). Para a extração dos fitatos foi pesado cerca de 0,1 g de farinha e foram adicionados 5 mL de HCl 2,4%, permanecendo sob agitação horizontal durante 12 horas a 250 rpm. O extrato contendo ácido fítico foi centrifugado a 3.000 rpm durante 15 minutos, sendo o sobrenadante filtrado a vácuo em funil de büchnner e purificado utilizando coluna de troca iônica, com fase estacionária constituída por resina Dowex- AGX-4 (Bio-Rad Laboratories, São Paulo, SP, Brasil). A coluna foi pré-condicionada com NaCl 2 M e o extrato obtido das etapas anteriores foi aplicado cuidadosamente à mesma. Os fósforos inorgânicos foram eluídos com NaCl 0,05 M, seguido da eluição dos fitatos retidos com NaCl 2 M. O fitato foi determinado colorimetricamente, com base na coloração rósea do reagente de Wade, formada a partir da reação entre o íon férrico e o ácido sulfossalicílico, que exibe absorbância máxima a 500 nm. Na presença de fitato, o ferro é sequestrado e indisponível para reagir com o ácido sulfossalicílico, resultando em uma redução da intensidade da cor. Uma curva analítica de ácido fítico (mio-inositol hexafosfato) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA, código P8810), nas concentrações de 10 a 100 $\mu g.mL^{-1}$ foi elaborada, por meio da equação de regressão linear ($y = -0,0038x + 0,4963$; $R^2=0,9938$) para expressar o teor de fitatos em miligrama de ácido fítico por grama de farinha.

5.3.10 Minerais

Para determinação do teor dos minerais ferro, cálcio, zinco, cobre, manganês, magnésio, sódio, potássio e fósforo, foi pesado 1 g de amostra em triplicada em tubo de digestão e foram adicionados 10 mL de ácido nítrico concentrado. Posteriormente, as amostras foram aquecidas em bloco digestor com exaustão, com temperatura inicial de 80 ºC e aumento progressivo até 160 ºC, temperatura à qual as amostras foram submetidas durante um período de 16 horas até a formação de solução límpida. Os tubos foram resfriados em temperatura ambiente. O conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 50 mL, o tubo lavado com água deionizada e agitado em *vórtex*, para evitar perdas, e seu conteúdo vertido

no balão volumétrico até que o volume fosse completado. Essa solução foi utilizada para leitura do conteúdo dos minerais em equipamento de espectrofotometria de emissão de plasma (Perkin Elmer – Optima 3300 DV, Norwalk, USA). Todas as vidrarias utilizadas foram previamente desmineralizadas em solução de ácido nítrico 10% durante 12 horas e secas em estufa de circulação de ar (GOMES JC, 1996).

5.5 Estudo da Biodisponibilidade de Ferro na Mistura de Cereais, Sementes e Grãos

O ensaio biológico foi realizado com 32 ratos machos (*Rattus novergicus*, variedade albinus, classe Rodentia), linhagem *Wistar*, recém desmamados, com 21 dias de idade, obtidos do biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. O delineamento aplicado foi inteiramente casualizado com 32 unidades experimentais. A avaliação da biodisponibilidade de ferro foi realizada baseada no método da AOAC (Método 974.31) de depleção/repleção utilizando 12 $mg \cdot kg^{-1}$ de ferro.

Os animais foram distribuídos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente com temperatura controlada a 22 ± 3 ºC, umidade relativa (55 ± 10%) e ciclo de claro e escuro de 12 horas (iluminação de 07:00 às 19:00) controlado automaticamente. No período de depleção todos os animais receberam dieta padrão para roedores, AIN-93 G, isenta de ferro além de água deionizada *ad libitum*, com o objetivo de induzir deficiência de ferro. Ao término do período de 21 dias de depleção, foram coletadas amostras de sangue por gotejamento, após incisão da porção terminal da cauda dos animais, para a determinação da concentração de hemoglobina ($g \cdot dL^{-1}$). Essa foi analisada por método colorimétrico a partir da formação de cianeto de metahemoglobina (DRABKIN e AUSTIN, 1935), utilizando-se kit para diagnóstico *in vitro* (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brasil). Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais de modo que a diferença média da concentração de hemoglobina (Hb) fosse o mais uniforme possível.

Na fase de repleção, os animais receberam suas respectivas dietas experimentais, (grupo controle, dieta contendo sulfato ferroso; grupos experimentais dietas contendo MC *Light*, Regular e Caseira) durante 14 dias, tempo durante o qual receberam água deionizada *ad libitum*, e ingestão de dieta controlada de 16 a 18 g por dia, aproximadamente.

Ao final da fase de repleção, os animais foram confinados em câmara de CO_2 a fim de induzir os animais à inconsciência e imediatamente submetidos à eutanásia por meio de punção cardíaca. Amostras de sangue foram coletadas para a determinação da concentração de hemoglobina ($g \cdot dL^{-1}$), cálculo do ganho de Hb, determinações da concentração de ferro na Hb, eficiência de regeneração da Hb, valor biológico relativo, biodisponbilidade de ferro e contagem de reticulócitos. Foi coletado ainda o ceco dos animais para análise de pH cecal e teor de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) do conteúdo fecal.

O desenho experimental encontra-se na Figura 1.

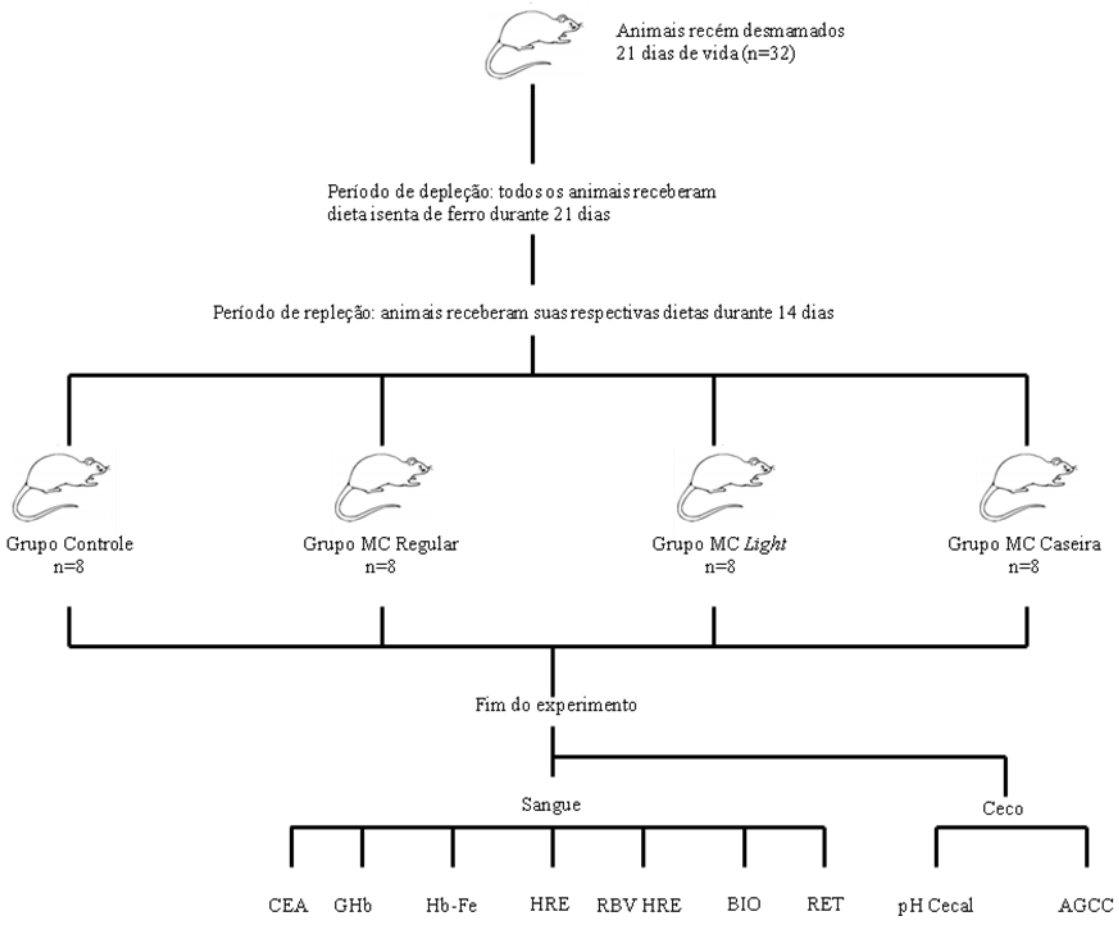


Figura 1 - Desenho experimental do estudo de biodisponibilidade de ferro das três versões da mistura de cereais, sementes e grãos. MC: Mistura de cereais, sementes e grãos; CEA: Coeficiente de Eficiência Alimentar; GHb: Ganho de Hemoglobina; Hb-Fe: Ferro Ligado à Hemoglobina; HRE: Eficiência de Regeneração da Hemoglobina; BIO: Biodisponibilidade; RET: Contagem de reticulócitos; AGCC: Concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta do Conteúdo Fecal.

5.5.1 Preparo das dietas experimentais

As dietas experimentais (Tabela 1) foram preparadas de acordo com a dieta padrão para roedores AIN-93G, segundo Reeves *et al.* (1993), manipulando as quantidades de ferro, mantendo-as isoproteicas e isocalóricas. Na fase de depleção, foi preparada dieta isenta de ferro. Já na fase de repleção, as dietas foram preparadas para fornecer 12 $mg \cdot kg^{-1}$ de ferro. Após o preparo, as dietas foram armazenadas sob refrigeração (-20 ºC) até o momento da oferta aos animais.

Tabela 1 - Ingredientes ($g \cdot kg^{-1}$), teor de ferro e tanino ($mg \cdot kg^{-1}$) das dietas experimentais

Ingredientes	Dieta depleção	Dietas repleção			
		Sulfato ferroso Controle	Dieta MCC	Dieta MCR	Dieta MCL
Albumina[a]	200,0	200,0	147,3	183,4	172,6
Maltodextrina[b]	132,0	132,0	132,0	132,0	132,0
Sacarose[c]	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Óleo de soja[d]	70,0	70,0	44,5	62,3	50,3
Celulose[e]	50,0	50,0	29,8	12,6	28,7
Mistura de Minerais[f]	35,0	35,0	35,0	35,0	35,0
Mistura de Vitaminas[g]	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
L-cistina[g]	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Bitartarato de Colina[g]	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Amido de milho[h]	397,5	397,5	315,4	362,9	352,1
Sulfato ferroso[i]	-	0,06	-	-	-
MCC	-	-	190,1	-	-
MCR	-	-	-	157,2	-
MCL	-	-	-	-	121,2
Ferro**	-	17,3 ± 0,4	19,3 ± 0,9	2,32 ± 0,1	25,4 ± 0,7
Tanino**	-	-	59.76 ± 7.28	202.81 ± 19.53	27.88 ± 2.94

Adaptada de Reeves *et al*. (1993).

MCC: Mistura de cereais, sementes e grãos caseira; MCR: Mistura de cereais, sementes e grãos regular; MCL: Mistura de cereais, sementes e grãos *light*.

a Maxnutry Albumina 100% pura/ Nutryclin Alimentos Viçosa Brasil.

b Açúcar União/ Comércio de Viçosa.

c SOYA/ Comércio de of Viçosa.

d Fibra alimentar da mistura de cereais, sementes e grãos usada para o preparo das dietas experimentais.

e Synth, LabSynth Produtos para Laboratório LTDA.

f Laboratório de Nutrição Experimental-UFV-MG-Brasil.

g Rhoster/ Rhoster-Indústria e Comércio Ltda.

h Maizena Amido de Milho.

i VETEC Química Fina LTDA.

** Teor quantificado.

5.5.2 Consumo alimentar e ganho de peso

O peso corporal dos animais e o consumo alimentar foram monitorados semanalmente, durante as duas fases experimentais. O coeficiente de eficiência alimentar foi determinado pela expressão:

$$\textbf{CEA=} \frac{\text{Ganho de peso do animal (g)}}{\text{Consumo de dieta (g)}}$$

5.5.3 Ganho de hemoglobina

O ganho de hemoglobina (GHb) dos animais foi calculado pela diferença entre os valores da concentração de Hb obtidos nas fases inicial e final do período de repleção. O valor biológico relativo ao ganho de hemoglobina (RBV GHb) foi obtido pela expressão descrita abaixo:

$$\text{RBV GHb} = \frac{\text{Ganho Hb de cada animal}}{\text{Média do GHb do grupo controle}}$$

$$\text{GHb} = \text{Hb (g dL}^{-1}\text{)}_{\text{final}} - \text{Hb (g dL}^{-1}\text{)}_{\text{inicial}}$$

5.5.4 Concentração de ferro da hemoglobina

A concentração de ferro na hemoglobina, inicial e final, foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Hb-Fe (mg)}_{\text{l}} = [\text{peso corporal (g)} \times \text{Hb (g/L)} \times 6{,}7 \times 0{,}335] / 10.000$$

Onde: Hb-Fe: ferro hemoglobínico, Hb: concentração de hemoglobina

5.5.5 Ferro consumido

O teor de ferro consumido foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Fe consumido (mg)} = \frac{\text{total dieta consumida x quantidade de Fe da dieta (mg)}}{100}$$

5.5.6 Eficiência de regeneração de hemoglobina e valor biológico relativo

A eficiência de regeneração de hemoglobina (HRE) e o valor biológico da eficiência de regeneração de hemoglobina (RBV HRE) foram calculados utilizando as fórmulas abaixo descritas, respectivamente:

$$\text{HRE} = \frac{\text{mg Hb-Fe}_{\text{final}} - \text{mg Hb-Fe}_{\text{inicial}}}{\text{mg Fe consumido}}$$

$$\text{RBV}_{\text{HRE}} = \frac{\text{HRE de cada animal}}{\text{Média de HRE do Controle}}$$

Onde: Hb-Fe: Ferro hemoglobínico

5.5.7 Biodisponibilidade de ferro

A biodisponibilidade aparente de ferro foi calculada considerando-se o RBV HRE do grupo controle como 100%.

5.5.8 Contagem de reticulócitos

Para contagem de reticulócitos foi utilizado o método preconizado por Zago, Falcão e Pasquini (2005).

Trata-se da contagem percentual ou absoluta (por mm^3) de eritrócito jovem, cujo estágio de maturação antecede à hemácia anucleada. Os reticulócitos, como são chamados,

contêm restos de RNA que estão presentes em grande quantidade no citoplasma dos precursores nucleados. Esse material possui a propriedade de reagir perante certos corantes, como o azul cresil brilhante ou o azul de metileno, formando um precipitado azulado granuloso ou filamentoso. Para a contagem de reticulócitos foram coletados 5 mL de sangue em frasco contendo EDTA. Em seguida foi adicionado 0,5 mL do conteúdo em tubo de hemólise com 0,5 mL de azul cresil brilhante. O tubo de hemólise foi submetido a temperatura de 37 ºC em banho-maria durante 15 minutos, seguido por homogeneização, esfregaço e focalização com objetiva de imersão ocular de 10X e objetiva de imersão de 100X. Foram contabilizadas no mínimo 1000 hemácias e registrado o número de reticulócitos encontrados nesses campos. O resultado foi expresso em porcentagem, considerando os valores normais variando entre 0,5 e 2,3 %.

5.5.9 Análise do pH cecal e de ácidos graxos de cadeia curta

O pH do conteúdo cecal foi avaliado *in situ* por inserção de um eletrodo (Schoott, Handylab 1, Germany) através da junção íleo-cecal segundo, Lobo *et al.* (2007).

Para a determinação do conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), ácido acético, propiônico e butírico, utilizou-se a metodologia descrita por Smiricky-Tjardes *et al.* (2003). A análise foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE) (Shimadzu Scientific Instruments Inc., Kyoto, Japan), bomba SPD-10A VP, coluna cromatográfica SHIMADZU C_{18}, 30 cm x 4,5 mm, acoplado ao detector ultravioleta (UV). As condições cromatográficas foram as seguintes: fase móvel constituída por água ultrapura (MILI-Q) em 1% de ácido ortofosfórico; Injeção de 20 µL ; Fluxo de 1,0 mL/minuto e pressão 138 kgf. Os cromatogramas foram obtidos a 210 nm.

Foi utilizada amostra do conteúdo cecal (500 mg) adicionado a 500 µL de ácido metafosfórico a 25% e mantida em repouso por 30 minutos em temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram centrifugadas em microcentrífuga refrigerada (Hitachi modelo CT15RE) a 16.000 *g*, por 30 minutos. O sobrenadante foi novamente centrifugado por 20 minutos, nas mesmas condições Depois foi coletado e utilizado para determinação da concentração dos AGCC. A identificação dos compostos foi feita por meio da comparação dos tempos de retenção obtidos para os padrões (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA, Free

Acid Mix, código 46975). As amostras foram analisadas sob as mesmas condições, e a quantificação por meio das curvas de padrão externo, construídas pela injeção, em duplicata, de concentrações crescentes das soluções padrão, variando respectivamente nos intervalos de 500 a 2500 ppm, 2000 a 8000 ppm e 50 a 300 ppm para os ácidos acético, butírico e propiônico. A correlação linear foi feita entre as áreas dos picos e as concentrações injetadas de cada ácido graxo.

A quantificação dos ácidos das amostras foi realizada por curvas analíticas e equações de regressão para ácido acético ($y = 577,01x + 10539$; $R^2 = 0,997$), propiônico ($y = 656,23x – 38691$; $R^2 = 0,9978$) e butírico ($y = 585,36x + 1651$; $R^2 = 0,9987$). A concentração real nas amostras foi calculada baseada nas diluições realizadas.

5.5.10 Análises Estatísticas

Os dados foram expressos em média ± desvio-padrão. No período de depleção os valores de concentração de hemoglobina e ferro ligado à hemoglobina entre os dias 0 e 14 foram comparados por meio do teste t pareado. Para comparação das médias entre os grupos foi realizada análise de variância (ANOVA) e, em caso de diferença significativa, foi realizado teste *pos hoc* de Dunnett apresentando como testemunha o grupo sulfato ferroso (Controle). O teste de Duncan foi realizado a fim de comparar os grupos experimentais entre si. As variáveis peso corporal inicial e final, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar foram ajustadas pelo consumo alimentar, enquanto concentração de hemoglobina inicial e final, ganho de hemoglobina e ferro ligado à hemoglobina inicial e final foram corrigidos pelo ferro ingerido. Foi utilizado o *software* Sistema para Análises Estatísticas (SAEG), versão 9.1, considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5.5.11 Aspectos Éticos

O ensaio biológico com animais foi realizado após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa com animais da Universidade Federal de Viçosa, sob o registro 45/2011 (ANEXO A).

5.6 Estudo do efeito do consumo de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") no peso, na composição corporal, na saúde óssea, no controle da saciedade e no estado nutricional dos minerais ferro e zinco de mulheres com excesso de peso

5.6.1 Seleção amostral

O estudo foi conduzido com mulheres cadastradas na Estratégia de Saúde da Família (ESF) do bairro Silvestre no município de Viçosa – MG. O trabalho foi realizado mediante um convênio entre o DNS e a ESF, onde existia um projeto de extensão por meio do qual, estudantes do curso de nutrição, sob orientação de professores do DNS, realizam atendimentos nutricionais à comunidade cadastrada na ESF a partir de encaminhamentos médicos e/ou livre demanda.

Viçosa é uma cidade está localizada na Zona da Mata mineira, apresenta área de 299,42 km^2 e população de 72.786 habitantes (INSTITITO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2011). A ESF trata de um projeto dinamizador do Sistema Único de Saúde (SUS), de caráter público aberto à população que necessite de utilizar o sistema de saúde, caracterizado pela assistência primária à comunidade. Suas ações são realizadas em âmbito individual e/ou coletivo, e abrangem a promoção e proteção à saúde.

O cálculo do tamanho amostral foi realizado segundo proposto por Mera, Thompson e Prasad *et al*. (1998), baseando-se em uma alteração do peso corporal de 6,4% e desvio padrão de 4,63 kg desejado para a amostra, considerando um poder estatístico de 95%, de acordo com o estudo de Alisson *et al*. (2003).

O *n* mínimo necessário foi calculado em 20 voluntárias. Contudo, o recrutamento foi feito baseado em um número aproximado de trinta voluntárias, de modo a prever as perdas durante o estudo.

A seleção da amostra foi realizada inicialmente com o auxílio dos agentes de saúde comunitária da ESF Silvestre e do banco de dados previamente existente dos atendimentos nutricionais realizados no local. Inicialmente foi realizada uma pré-seleção, onde foram selecionados os prontuários de pacientes que atendiam aos critérios de seleção iniciais, sexo feminino, IMC maior que 25 e menor que 34,9 kg/m^2 e idade entre 24 e 45 anos. Setenta e seis mulheres foram selecionadas.

A partir de então, foi realizado o contato telefônico com as possíveis participantes convidando-as a comparecer à sede da ESF para a realização de uma triagem. Nesta ocasião, foram aferidos os dados antropométricos a fim de possibilitar o cálculo do IMC e confirmar a presença de sobrepeso ou obesidade grau I. Foram investigadas ainda as condições de saúde e doença, uso de medicamentos, utilização de métodos para controle do peso corporal (dietas restritivas, uso de inibidores de apetite), de modo a excluir: gestantes, lactantes, mulheres na menopausa, que foram submetidas à retirada do útero, que usavam antiinflamatórios, que apresentavam alergia ou intolerância a algum ingrediente do produto, que eram etilistas e/ou tabagistas, que estavam fazendo uso de medicamento para inibição de apetite, antidepressivos ou que quaisquer que interferisse no metabolismo mineral ósseo (bifosfonatos, anabolizantes, calcitonina, flúor, terapia de reposição hormonal, androgênicos, cálcio, vitamina D, diuréticos tiazídicos e estatinas), mulheres com relato de condições ou doenças associadas à alteração da massa óssea, como doença renal (litíase, insuficiência renal crônica), doença gastrointestinal (doença celíaca, hepatopatia crônica, síndrome de má absorção, gastrectomia ou colectomia), histórico de doença endócrina (hiperparatireoidismo, hiper ou hipotireoidismo), fraturas nos últimos seis meses e que tinham apresentado imobilização por tempo superior a dois meses. Também foram não participaram do estudo aquelas mulheres que apresentaram oscilações de peso corporal maior que 5% nos últimos dois meses, de acordo com estudo de Maki *et al.*(2010).

Além da idade, sexo e IMC, os demais critérios de inclusão foram: hábito de realizar o desjejum utilizando produto lácteo e ausência da intenção em alterar o padrão de atividade física, durante o período do estudo.

5.6.2 Desenho experimental

Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado e em *crossover*. Foram formados dois grupos de voluntárias, de forma aleatória. As participantes foram submetidas a dois diferentes tratamentos, em ordens diferentes, de forma aleatória: 15% de restrição energética associada ao consumo de *shake* placebo (tratamento RC) seguida de 15% de restrição energética associada ao consumo de *shake teste* (tratamento MC) no desjejum, ou vice-versa. O estudo foi dividido em dois períodos, A e B com duração de 5 semanas cada. O grupo 1 foi

submetido ao tratamento RC no período A enquanto o grupo 2 iniciou o estudo com o tratamento MC. Após o período de 1 semana de *washout*, no período B, houve uma inversão na ordem dos tratamentos, ou seja, as voluntárias do grupo 1 passaram a receber o tratamento MC e o grupo 2, tratamento MC, como mostrado na Figura 2.

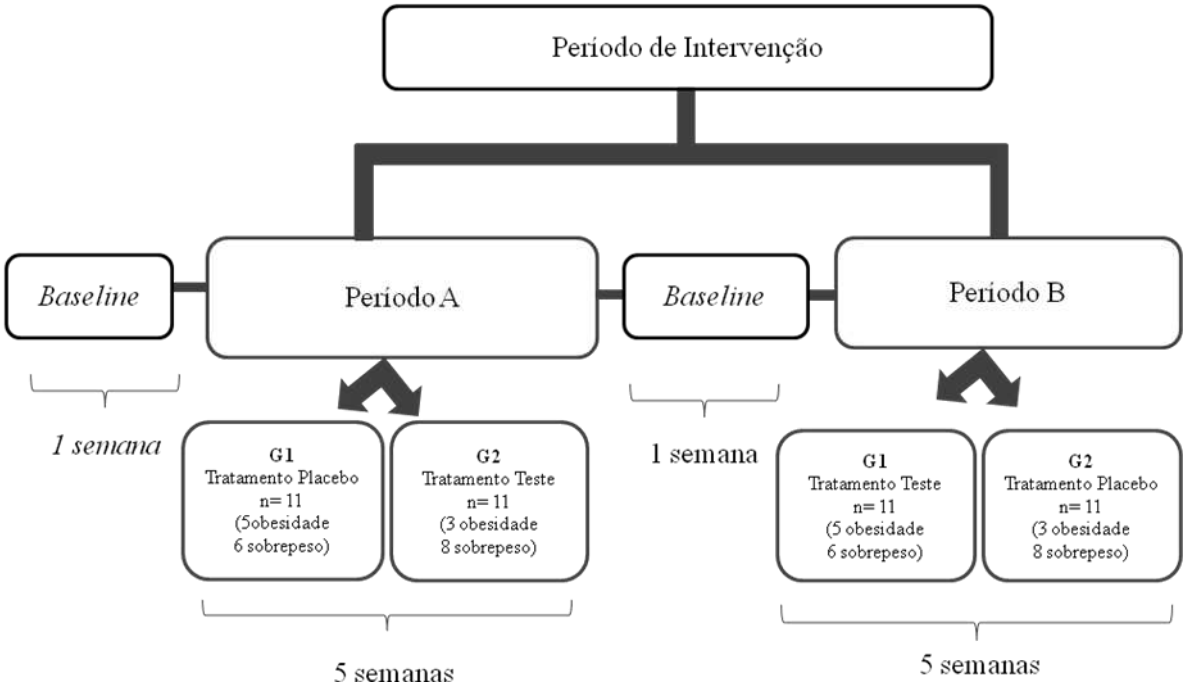


Figura 2- Desenho experimental do estudo. Grupo 1: ordem de tratamento Placebo - Teste; Grupo 2: ordem de tratamento Teste - Placebo.

Durante o período do *baseline* todas as características da amostra foram avaliadas, sendo as voluntárias submetidas à avaliação da antropometria, pressão arterial, nível de atividade física, composição corporal, ingestão alimentar habitual e dados bioquímicos. Todos esses parâmetros foram reavaliados ao final do período A, final do *washout* e final do período B. Durante os períodos A e B, foram realizadas avaliações antropométricas, do consumo alimentar, da pressão arterial e do nível de atividade física a cada 15 dias durante as 5 semanas.

5.6.3 Restrição energética

Durante o *baseline*, foram obtidas informações sobre a ingestão habitual de alimentos das voluntárias por meio da aplicação de um questionário de frequência alimentar quantitativo. Assim, foi possível obter informações sobre a qualidade e quantidade dos alimentos que faziam parte da dieta habitual das voluntárias. O consumo de macronutrientes, fibras e minerais foi avaliado utilizando o *software* DietPro® versão 5i. Foi feito o cálculo da Necessidade Estimada de Energia (EER) utilizando a fórmula para mulheres com sobre peso e obesidade. A partir de então, foi realizada restrição energética de 15%, aplicada em um plano alimentar desenvolvido para cada uma das voluntárias, respeitando os hábitos, preferências e restrições alimentares.

5.6.4 Oferta da mistura de cereais, sementes e grãos

A mistura de cereais sementes e grãos foi distribuída às voluntárias semanalmente em embalagens individuais para o consumo diário. Foi utilizado leite em pó na preparação do *shake*, e a quantidade de água utilizada para realizar a reconstituição (150 mL) foi medida em copo medidor padronizado, distribuído a cada voluntária no início do estudo. As voluntárias foram orientadas a consumir todo o conteúdo do *shake*, contudo, caso contrário, o volume não ingerido deveria ser registrado e informado às pesquisadoras. Da mesma forma, caso em algum dia da semana não houvesse o consumo do *shake*, o mesmo deveria ser devolvido.

5.6.4.1 Preparo dos *shakes*

Todos os ingredientes para preparo dos *shakes* foram adquiridos no comércio de Viçosa, MG, de um mesmo lote de produto e em quantidade para atender todo o período do estudo.

Foram preparadas quatro variedades dos *shakes*, 2 contendo o MC (*shake* teste) de sabor morango ou chocolate e 2 que não apresentavam MC na composição (*shake* placebo) e dos mesmos sabores. Cada porção do *shake* placebo foi composta de leite em pó desnatado (15 g), goma xantana (0,3 g), chocolate 50% cacau em pó (7 g) ou achocolatado sabor morango (10 g). A porção do *shake* teste, por sua vez, apresentou a mesma composição do placebo, contudo foi adicionado de 20 g de MC. No preparo dos *shakes* a pesagem dos ingredientes foi realizada por porção. Os ingredientes foram pesados individualmente e homogeneizados. Logo após foram acondicionados em embalagem plásticas, seladas e armazenados em geladeira (4 ºC) até o momento de transporte para serem entregues às voluntárias.

5.6.5 Avaliação antropométrica, pressão arterial e nível de atividade física

A avaliação antropométrica e da pressão arterial foi realizada a cada consulta, com intervalo de 15 dias.

O peso corporal foi aferido em balança digital (Líder Balanças®, P150-m, Araçatuba, SP, Brasil), com capacidade para 150 kg e precisão de 50 g. As voluntárias se apresentaram fazendo uso de roupas leves e no momento da aferição de peso e estatura se apresentavam descalças. Para aferição do peso, as voluntárias foram posicionadas no centro da plataforma da balança, em posição ereta, com os braços estendidos ao longo do corpo e olhar fixo no horizonte A estatura foi avaliada utilizando antropômetro vertical de plataforma (Alturexata®, Belo Horizonte, MG, Brasil) com escala de 0,1 cm e extensão de 2 metros. As participantes ficaram em posição ereta, braços estendidos ao longo do corpo, pés unidos e descalças (DE ONIS e HABICHT, 1996). O IMC foi calculado dividindo o peso (kg) pela altura (m) ao quadrado, sendo classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela OMS (2000).

O perímetro da cintura foi aferido na cicatriz umbilical, com a voluntária de pé, durante a expiração normal, utilizando-se fita métrica inelástica. Para a classificação foram utilizados os pontos de corte da OMS (1998) que categoriza a obesidade abdominal em mulheres de acordo com os níveis I (CCnI) com valores de 80 a 88 cm e II (CCnII) com

valores > 88 cm. Valores inferiores a 80 cm foram considerados como adiposidade abdominal adequada (ALBERTI *et al*., 2009).

A pressão arterial foi aferida com a voluntária sentada, após repouso de no mínimo cinco minutos. As participantes foram orientadas a não ingerir bebidas contendo cafeína nos 30 minutos que antecediam a avaliação. A pressão arterial foi aferida em aparelho de pressão digital automático (G. Tech, Linha Master, Brasil) reconhecido pela Sociedade Brasileira de Hipertensão. Foram realizadas três medidas e utilizada a média entre os valores. Quando encontrados valores maiores que 4 mmHg foram realizadas novas medidas até que fosse obtidas medidas com diferenças inferiores (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2010).

O nível de atividade física foi avaliado ao início e durante todo o estudo para verificar a ocorrência de fatores que poderiam interferir na intervenção nutricional. Dessa forma, o nível habitual de atividade física foi avaliado por meio da aplicação do Questionário Internacional de Nível de Atividade Física (IPAQ), versão 6, proposto pela OMS (1998), validado em português por Renato Pardini *et al*. (2001) (ANEXO F).

5.6.6 Composição corporal e densitometria óssea

A avaliação da composição corporal e da densitometria óssea foi realizada por meio do método de absormetria radiológica de dupla energia (DEXA) (GE Healthcare®, Lunar Prodigy Advance, United Kingdom). Para garantir a precisão e a exatidão das medidas realizadas pelo equipamento utilizado, foram realizadas a calibração e o controle de qualidade diário e semanal, por meio de *phantom* de água e padrão de hidroxiapatita, respectivamente, e nenhum erro significativo foi encontrado. O exame foi realizado por técnico habilitado e treinado, na Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Para permitir a reconstrução da imagem e dos tecidos subjacentes, foi utilizado *software* especializado (enCore, GE *Lunar´s software plataform*, versão 13.31), permitindo a quantificação do conteúdo mineral ósseo, da massa gordurosa total e da massa isenta de gordura.

O exame foi realizado com a voluntária deitada em decúbito dorsal sobre uma mesa em que a fonte e o detector foram passados ao longo do corpo com uma velocidade de 1 cm/s. Foi respeitado o ciclo menstrual das voluntárias de modo a evitar a realização do exame

durante este período, impedindo que uma maior retenção hídrica interferisse nos valores dos componentes corporais na avaliação. Para a realização do exame, foi solicitado que a voluntária se apresentasse descalça e utilizando apenas um avental, sem qualquer material metálico, como anéis, brincos, colares e prótese dentária. A voluntária ainda no momento do exame se apresentava em jejum e com a bexiga esvaziada.

Para a densitometria óssea foi calculado o escore Z em relação a indivíduos da mesma idade, sexo, peso e etnia. Foram considerados valores normais aqueles que se encontravam entre os limites: 2 DP < e > - 2DP de acordo com o Consenso Brasileiro de Osteoporose (PINTO NETO *et al.*, 2002). Quanto à composição corporal foi considerado risco quando a proporção de gordura corporal foi maior que 32% de acordo com Lohman (1992).

5.6.7 Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Os exames bioquímicos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde (LAC/DSA) da UFV, ou terceirizados ao Laboratório Álvaro (Cascavel/PR), para os parâmetros não realizados no LAC/DAS. Foram ainda feitas análises no Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Nutrição e Saúde LAC/DNS da UFV.

As voluntárias compareceram ao laboratório em jejum de doze horas e foram submetidas à coleta sanguínea à vácuo, respeitando os protocolos adotados pelo laboratório. Foram coletados 15 mL de sangue, fracionados em tubos de heparina, EDTA e soro gel, de acordo com a necessidade do parâmetro bioquímico a ser analisado.

Com exceção do tubo destinado à dosagem do hemograma, após a coleta do material, os tubos foram centrifugados por 20 minutos, a 3500 rpm, 4 ºC, por funcionário próprio e destinados às respectivas análises. Para o hemograma, o tubo foi automatizamente homogeneizado e destinado à análise no LAC/DSA. As análises de fosfatase alcalina específica óssea (FAEO), interligadores C-terminais do colágeno tipo I (CTx), paratormônio (PTH) e ferritina foram realizadas no Laboratório Álvaro (Cascavel/PR), mediante parceria com o LAC/DSA. Após a centrifugação e coleta do plasma ou soro, estes materiais foram imediatamente congelados e armazenados a temperatura de -20 ºC até o momento do transporte aéreo para o laboratório credenciado. Para a avaliação dos parâmetros analisados

no LAC/DNS (cálcio sérico, cálcio iônico, fósforo sérico, zinco plasmático e eritrocitário) o material foi centrifugado no próprio LAC/DAS. Contudo, após essa etapa, foram separadas alíquotas de plasma, soro ou papa de eritrócitos em *eppendorf* devidamente identificado com o código de cada voluntária e análise a ser realizada. A seguir, os *eppendorfs* foram imediatamente imergidos em gelo e logo após, armazenados em ultra-freezer (Thermo Scientific®, Forma 900 series,USA) à temperatura de -80 ºC até o momento das análises.

O marcador de formação óssea, FAEO, foi mensurado no soro por meio de método de quimioluminescência (Roche Diagnostics®, Modular, Germany). Foram usados os valores de referência de 3 a 19 µg/L, para mulheres na pré-menopausa. Para o marcador CTx, o método empregado foi eletroquimioluminométrico (Roche Diagnostics®, Modular, Germany), e os valores de referência adotados para sexo e faixa etária específicos da amostra estudada foram entre 0,025 a 0,573 ng/mL. Os valores de cálcio sérico, cálcio iônico e fósforo sérico foram mensurados por meio dos métodos colorimétrico de ponto final para cálcio e UV de ponto final para fósforo. Todos os parâmetros foram dosados por meio de kits comerciais (Bioclin®, Brasil) em analisador automático para química clínica (Mindray®, BS 200, China), calibrado com reagente para testes analíticos em metodologias automatizadas e padrões de nível normal e patológico. Para a avaliação do cálcio iônico, foi necessário dosagem do teor sérico de proteínas totais e albumina, analisadas a partir de kits comerciais (Bioclin®, Brasil), para encontrar a concentração de cálcio iônico por meio da seguinte expressão, onde Ca = cálcio sérico (mg/dL), P = proteínas totais (g/dl) e A= albumina (g/dL):

$$\text{Cálcio Ionizado (mg/dL)} = \{[(6 \times Ca) - (0{,}19x\ P)/3) + A)] / (0{,}19 \times P) + A + 6\}$$

Os valores de referência utilizados para cálcio sérico, cálcio iônico e fósforo sérico foram respectivamente, 8,8 a 11 mg/dL; 4,6 a 5,4 mg/dL; 2,5 a 5,6 mg/dL, de acordo com o kit utilizado para as análises (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brasil).

Para os parâmetros que contemplaram a avaliação do estado nutricional referente ao ferro, foram realizadas as seguintes análises: hemograma completo de série vermelha, em que foram analisados hemoglobina, hemácias, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), ferritina e ferro sérico. O ferro sérico foi analisado por meio de método de Goodwin por meio de kit comercial (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brasil) e apresenta como valor de referência 50 a 150 µg/dL. O hemograma foi analisado por método de impedância elétrica

(Beckman Couter®, Couter T890, USA) e seus componentes apresentam como valor de referência: hemáceas, 4 a 5,2 milhões/ mm3; hemoglobina, 12 a 16 g/dL; hematócrito, 36 a 46%; VCM, 80 a 100 fl; HCM, 26 a 34 pg; CHCM, 31 a 37%. Ferritina foi quantificada pelo método de quimioluminescência (Siemens®, Centaur, USA) e apresenta valor de referência entre 15 e 150 ng/mL.

Em relação à avaliação do estado nutricional referente ao zinco, foram realizadas análises de zinco eritrocitário e zinco plasmático por meio de espectrometria de absorção atômica, segundo o método proposto por Whitehouse *et al*. (1982). Foram coletados 4 mL de sangue em tubo contendo heparina, e após centrifugado, o plasma foi coletado e armazenado a -80 ºC até o momento das análises. À papa de eritrócitos foi adicionado 1 mL de solução salina, em seguida agitado cuidadosamente por inversão e centrifugado a 1000 g, a 4 ºC, durante 10 minutos. O sobrenadante foi separado e descartado utilizando pipeta de Pasteur. Esse procedimento foi repetido três vezes. Ao final as amostras foram armazenadas a temperatura de -80 ºC até o momento das análises.

Para a análise do zinco eritrocitário e plasmático, todas as vidrarias, ponteiras, pipetas e *eppendorfs* utilizados foram desmineralizados em solução de ácido nítrico 10% durante doze horas, lavados em água deionizada e secos em estufa com circulação de ar (Marconi®, modelo MA 035, Piracicaba, Brasil).

Para análise do zinco eritrocitário, as amostras foram descongeladas, foi pipetado 0,2 mL da papa de eritrócito, transferido para *eppendorf* e adicionado 0,8 mL de água deionizada (diluição 1:4), obtendo-se o lisado 1. Em seguida, foi pipetado do 0,4 mL do lisado 1, transferido para tubo de ensaio e acrescentados 4 mL de água deionizada (diluição 1:10) e agitado em *vórtex* durante 1 minuto. Foi feita leitura das amostras em equipamento de espectrometria de absorção atômica (GBC 908 AA spectrophotometer) no Departamento de Solos da UFV, nas seguintes condições para zinco: 213,9 nm de comprimento de onda, fenda 0,7, ar acetileno. O limite mínimo de detecção foi 1,0 µg/L. A curva padrão foi realizada utilizando padrão de zinco, 1000 ppm (VETEC Química Fina®, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) nas concentrações 0,012, 0,024, 0,048, 0,072, 0,12 e 0,24 ppm. Os resultados foram expressos por g de hemoglobina. Para tal expressão, foi dosado o teor de hemoglobina do lisado 1 por meio do método cianometahemoglobina utilizando kit comercial (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brasil). O intervalo de referência para zinco eritrocitário é 40-44 µg zinco/g hemoglobina (GIBSON, 1990).

Para a análise de zinco plasmático, as amostras foram descongelas, foi pipetado em tubo de ensaio 0,5 mL do plasma, adicionados 5 mL de água deionizada (diluição 1:10) e agitado em *vórtex* durante 1 minuto. Logo após foi realizada leitura em equipamento de espectrometria de absorção atômica sob as mesmas condições utilizadas para zinco eritrocitário. O intervalo de referência é 70-110 µg/mL (GUTHIERIE, 1994).

5.6.8 Escala de Analogia Visual

A Escala de Analogia Visual (VAS) foi utilizada para mensurar as sensações de fome, saciedade e desejo de comer mais (FLINT RA, BLUNDELL J e ASTRUP A, 2000). Trata-se de uma escala de 100 mm em que a voluntária deveria fazer um traço vertical no ponto da escala que melhor refletia sua sensação no momento da avaliação (ANEXO G). Cada participante do estudo foi orientada a responder ao questionário, no dia agendado, imediatamente antes da ingestão do *shake* e 30, 60 e 120 minutos após seu consumo. O ponto em que havia a marcação da voluntária foi medido com régua padrão de 100 mm e os dados tabulados para posterior análise do comportamento das sensações antes e até duas horas após o consumo do *shake* (RABEN, TAGLIABUE e ASTRUP, 1995).

5.6.9 Análise dos dados de consumo alimentar

O consumo alimentar habitual foi avaliado no período de *baseline* por meio de aplicação de questionário de frequência alimentar desenvolvido por Furlan-Viebig e Pastor-Valero (2004) exclusivamente para o estudo da relação entre dieta e doenças crônicas não transmissíveis (ANEXO H).

No decorrer do estudo, os dados de consumo alimentar foram coletados a partir de registro alimentar de três dias, em dias alternados, sendo dois dias durante a semana e um dia durante o final de semana. Os registros foram realizados nas semanas 1, 3 e 5 de cada período de intervenção, além da semana de *washout*.

Para identificar e avaliar o padrão do consumo alimentar das voluntárias durante o estudo foi realizado o cálculo do Índice de Qualidade da Dieta – Revisado (IQD-R), proposto por Previdelli *et al*. (2011). O cálculo desse índice deve ser feito considerando um recordatório de 24 horas, de acordo com os autores. No presente estudo, esse cálculo foi feito considerando o primeiro dia do registro de 72 h para cada voluntária. O cálculo do valor nutritivo dos alimentos foi realizado utilizando o *software* DietPro®, versão 5.i.

Para os alimentos dos quais não foi possível extrair informações de gorduras *trans*, poliinsaturada e monoinsaturada, foi primeiramente realizada uma padronização do alimento, levando em consideração a disponibilidade de informações nutricionais nas embalagens, e em seguida foram utilizadas as informações nutricionais disponíveis em rótulos. No caso de bebidas alcoólicas, foi padronizado o teor alcoólico para tipo cada bebida que se encontrava nos registros alimentares. No caso das preparações caseiras, estas foram padronizadas de acordo com receitas (PINHEIRO *et al.*, 2001) e desmembradas em seus respectivos ingredientes, de modo a classificar os alimentos componentes das preparações, segundo os grupos da pirâmide alimentar, conforme proposto por Godoy *et al*. (2006).

5.6.9.1 Cálculo do Índice de Qualidade da Dieta

O índice de qualidade de dieta foi calculado a partir do método proposto por Previdelli *et al*. (2011), que recentemente, apresentaram uma nova proposta para análise da qualidade da dieta, denominada Índice de Qualidade da Dieta Revisado (IQD-R). Esse índice é obtido a partir de uma pontuação distribuída em 12 componentes de uma dieta saudável, dos quais nove são grupos alimentares (frutas totais; frutas integrais; vegetais totais; vegetais verde-escuro e alaranjados e leguminosas; cereais totais; cereais integrais; leite e derivados; carnes, ovos e leguminosas; e óleos), dois são nutrientes (gordura saturada e sódio) e o último representa a soma do valor energético da ingestão de gordura sólida, álcool e açúcar de adição (Gord_AA).

Para os componentes baseados nos alimentos pertencentes aos grupos alimentares, foi definido o número de porções diárias recomendado para cada 1.000 kcal. Para a ingestão maior ou igual às porções recomendadas, atribui-se a pontuação máxima, cinco ou 10 pontos e zero para ausência do consumo. Para o consumo intermediário, a pontuação foi calculada

proporcionalmente. Em relação às leguminosas, o IQD-R incluiu o método proposto por Guenther, Reedy e Krebs-Smith (2008), segundo o qual, caso haja excedentes de leguminosas no grupo "Carne, ovos e leguminosas", o valor energético de leguminosas é computado simultaneamente nos grupos "Vegetais Verde-Escuro e Alaranjados e Leguminosas" e "Vegetais Totais". O componente óleo inclui as gorduras mono e poliinsaturadas, óleo das oleaginosas e gordura de peixe.

Para os componentes baseados na ingestão de nutrientes, a pontuação é realizada de forma distinta para os componentes "Sódio" e "Gordura Saturada". Para o primeiro, o cálculo da pontuação é feita considerando o consumo energético de 2.000 kcal, de acordo com o Guia Alimentar 2006 (BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Dessa forma, a pontuação máxima (dez) é conferida para o consumo de 1,5 g/2000 kcal, ou, 0,75 g/1000 kcal. A pontuação mínima (zero) é conferida para um consumo de 2 g/1000 Kcal ou superior. A pontuação intermediária foi baseada no consumo de 1 g/1000 kcal. Em relação ao componente gordura saturada, a pontuação máxima (dez) foi conferida à ingestão de gordura saturada de modo a atingir 7% do valor energético total (VET), ou inferior. A pontuação mínima foi atribuída para ingestão igual ou superior a 15% do VET calculado e a pontuação intermediária à ingestão de 10% do VET.

Quanto ao componente Gord_AA, trata-se do valor energético proveniente da ingestão de gordura sólida, saturada e *trans*, álcool e açúcar de adição. A pontuação máxima (vinte) e mínima (zero) foi calculada baseada no consumo de 10 e 35% do VET.

A Tabela 2 mostra a distribuição da pontuação e das porções do IQD-R.

Tabela 2 - Distribuição da pontuação e das porções do Índice de Qualidade da Dieta Revisado

Componente	Pontuação (pontos)			
	0	**5**	**10**	**20**
Frutas totais	0 ⟷ 1 porção/1000 kcal			
Frutas integrais	0 ⟷ 0,5 porção/1000 kcal			
Vegetais totais	0 ⟷ 1 porção/1000 kcal			
Vegetais verde-escuro e alaranjados e leguminosas	0 ⟷ 0,5 porção/1000 kcal			
Cereais totais	0 ⟷ 2 porções/1000 kcal			
Cereais integrais	0 ⟷ 1 porção/1000 kcal			
Leite e derivados	0 ⟷ 1,5 porção/1000 kcal			
Carnes, ovos e leguminosas	0 ⟷ 1 porção/1000 kcal			
Óleos	0 ⟷ 0,5 porção/1000 kcal			
Gordura saturada	≥15	⟷ 10	⟷ 7% VET	
Sódio	≥ 2	⟷ 1	⟷ ≤ 0,75/1000 kcal	
Gord_AA	≥ 35	⟷		≤ 10% VET

Referência: Previdelli, 2011, p.797.

VET: Valor energético total; GORD_AA: Calorias provenientes de gordura sólida, álcool e adição de açúcar.

O cálculo do IQD-R foi realizado utilizando-se o *software* Stata, versão 10.0, a partir da programação gentilmente disponibilizada pelos autores. Após o cálculo, os indivíduos foram classificados em três diferentes categorias definidas pela distribuição dos escores utilizados por Godoy *et al*. (2006) baseado no trabalho de Bowman *et al*. (1998), em que o escore total dos indivíduos foi dividido em três categorias: abaixo de 51 pontos – dieta inadequada; entre 51 e 80 pontos – dieta que necessita de modificações; e superior a 80 pontos – dieta saudável.

5.6.10 Análises Estatísticas

Todas as variáveis contínuas foram analisadas quanto à normalidade por meio do teste de Skewness/Kurtosis. Para aquelas variáveis com distribuição normal, os resultados foram expressos como média ± desvio padrão e para aquelas que não apresentaram distribuição normal, os resultados foram expressos como mediana e intervalo interquartil (P25% e P75%). Os dados demográficos da amostra participante do estudo foram analisados por meio de estatística descritiva. A comparação da composição química dos produtos utilizados no estudo

foi feita utilizando o teste de Tukey. Para o componente fibra alimentar e frações, não foi possível realizar teste estatístico, uma vez que não houve repetição do método. Para analisar as diferenças entre as médias dos tratamentos e as médias das mudanças nas variáveis do estudo foi utilizado o teste *t* de Student para variáveis paramétricas ou seu correspondente, *Mann Whitney* para dados não paramétricos conforme recomendado por Mills *et al.* (2009).

Os testes foram realizados para os valores das variáveis no período de *baseline* e *endpoint*, além da diferença entre os dois períodos. A correlação de Pearson foi utilizada para analisar a associação das mudanças dos parâmetros antropométricos e bioquímicos ou dietéticos, quando dados apresentaram distribuição normal. Quando dados não paramétricos, foi utilizada a correlação de Spearman. Para análise dos dados referentes às sensações relacionadas à saciedade, foi calculada a área abaixo da curva (AUC) por meio do método trapezoidal para avaliar as sensações de fome, saciedade e desejo de comer mais em relação ao *baseline*, onde a aplicação do método foi realizada da mesma forma, porém sem ingestão do *shake*. Os dados foram analisados por meio da análise de variância de medidas repetidas (ANOVA – RM) verificando o efeito independente das variáveis secundárias tratamento e tempo sobre a variável principal, AUC e efeito da interação entre tratamento x tempo sobre a AUC.

Os dados foram analisados utilizando o *software* Stata versão 10.0, adotando nível de significância de 95% ($P<0,05$).

5.6.11 Aspectos Éticos

O estudo clínico foi realizado após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, sob o registro 009/2011 (ANEXO B). O desenvolvimento do projeto ainda foi autorizado pela Secretaria de Saúde da Prefeitura Municipal de Viçosa (ANEXO C).

Todas as voluntárias foram informadas a respeito dos objetivos da pesquisa e sigilo dos dados. Ainda foram esclarecidas de que não haveria nenhum benefício financeiro. Conduto as participantes receberam acompanhamento nutricional e retorno quanto aos resultados de todas as avaliações realizadas. Foi ainda informado a cada voluntária que as mesmas poderiam recusar-se a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da

pesquisa sem penalização alguma. A pesquisa somente foi iniciada após prévio consentimento do indivíduo, por meio da assinatura do Consentimento Livre Esclarecido (ANEXO D) segundo as Diretrizes Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde- Ministério da Saúde (1997).

REFERÊNCIAS

ALBERTI, K. G. M. M., ECKEL, R. H., GRUNDY, S. M., ZIMMET, P. Z., CLEEMAN, J. I., DONATO, K. A., FRUCHART, J.-C., JAMES, W. P. T., LORIA, C. M. e SMITH, S. C. Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v.120, n.16, October 20, 2009, p.1640-1645. 2009.

ALLISON, D. B., GADBURY, G., SCHWARTZ, L. G., MURUGESAN, R., KRAKER, J. L., HESHKA, S., FONTAINE, K. R. e HEYMSFIELD, S. B. A novel soy-based meal replacement formula for weight loss among obese individuals: a randomized controlled clinical trial. **Eur J Clin Nutr**, v.57, n.4, p.514-522. 2003.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC International**. Gaithersburg, MD, USA,: Association of Analytical Communities. 2002.

BABIO, N., BALANZA, R., BASULTO, J., BULLÓ, M. e SALAS-SALVADÓ, J. Dietary fibre: influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile. **Nutrición Hospitalaria**, v.25, p.327-340. 2010.

BOSSCHER, D., VAN CAILLIE-BERTRAND, M., VAN CAUWENBERGH, R. e DEELSTRA, H. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutrition**, v.19, n.7–8, p.641-645. 2003.

BOWMAN SA, LINO M, GERRIOR AS e PP, B. The healthy eating index: 1994-1996. **USDA, Center of Nutrition Policy and Promotion**. 1998.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia Alimentar para a População Brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília. 2006.

BURNS, R. E. Method for Estimation of Tannin in Grain Sorghum 1. **Agronomy Journal**, v.63, n.3, p.511-512. 1971.

CALLEGARO, M. G. K., DIETTRICH, T., ALVES, E., MILBRADT, B. G., DENARDIN, C. C., SILVA, L. P. e EMANUELLI, T. Supplementation with fiber-rich multimixtures yields a higher dietary concentration and apparent absorption of minerals in rats. **Nutrition Research**, v.30, n.9, p.615-625. 2010.

CHAWLA, R. e PATIL, G. R. Soluble Dietary Fiber. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, n.2, p.178-196. 2010.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v.10, p.87-98. 1997.

DE CÁSSIA FREITAS, K., AMANCIO, O. M. S., FERREIRA NOVO, N., FAGUNDES-NETO, U. e DE MORAIS, M. B. Partially hydrolyzed guar gum increases intestinal absorption of iron in growing rats with iron deficiency anemia. **Clinical Nutrition**, v.25, n.5, p.851-858. 2006.

DE ONIS, M. e HABICHT, J. Anthropometric reference data for international use: recommendations from a World Health Organization Expert Committee. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.64, n.4, October 1, 1996, p.650-658. 1996.

DRABKIN, D. L. e AUSTIN, J. H. Spectrophotometric studies II. Preparations from washed blood cells: nitric oxide hemoglobin and sulphemoglobin. **Journal of Biological Chemistry**, n.112, p.51-65. 1935.

ELLIS, R. e MORRIS, R. Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chromatography. **Cereal Chemistry**, v.63, p.58-59. 1986.

FELTRIN, C., BATISTA DE MORAIS, M., DE CÁSSIA FREITAS, K., BENINGA DE MORAIS, T., FAGUNDES NETO, U. e SILVÉRIO AMANCIO, O. Effect of Soluble Fiber Pectin on Growth and Intestinal Iron Absorption in Rats During Recovery from Iron Deficiency Anemia. **Biological Trace Element Research**, v.129, n.1, p.221-228. 2009.

FERGUSON, E., GIBSON, R., THOMPSON, L. e OUNPUU, S. Dietary calcium, phytate, and zinc intakes and the calcium, phytate, and zinc molar ratios of the diets of a selected group of East African children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.50, n.6, December 1, 1989, p.1450-1456. 1989.

FLINT RA, BLUNDELL J e ASTRUP A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single meal studies. **International journal of obesity**, v.24, p.38-48. 2000.

FRARY, C. D. e JOHNSON, R. K. Energia In: MAHAN, L. K. e ESCOTT-STUMP, S. K. (Ed.). **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo: Rocca, 2005. Energia p.20-34.

FURLAN-VIEBIG, R. e PASTOR-VALERO, M. Desenvolvimento de um questionário de frequencia alimentar para o estudo de dieta e doenças não transmissíveis. **Revista de Saúde Pública**, v.38, p.581-584. 2004.

GIBSON, R. S. Assessment of trace elements status. In: GIBSON, R. S. (Ed.). **Principles of Nutrition**. New York: Oxford University Press USA, 1990. Assessment of trace elements status., p.511-576.

GIBSON, R. S., BAILEY, K. B., GIBBS, M. e FERGUSON, E. L. A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. **Food & Nutrition Bulletin**, v.31, n.Supplement 2, p.134-146. 2010.

GODOY, F. D. C., ANDRADE, S. C. D., MORIMOTO, J. M., CARANDINA, L., GOLDBAUM, M., BARROS, M. B. D. A., CESAR, C. L. G. e FISBERG, R. M. Índice de qualidade da dieta de adolescentes residentes no distrito do Butantã, município de São Paulo, Brasil. **Revista de Nutrição**, v.19, p.663-671. 2006.

GOMES JC. **Análise de alimentos**: Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. 1996. 126 p.

GREGER, J. L. Nondigestible Carbohydrates and Mineral Bioavailability. **The Journal of Nutrition**, v.129, n.7, July 1, 1999, p.1434. 1999.

GUENTHER, P. M., REEDY, J. e KREBS-SMITH, S. M. Development of the Healthy Eating Index-2005. **Journal of the American Dietetic Association**, v.108, n.11, p.1896-1901. 2008.

GUTHIERIE, H. A. Micronutrient Minerals. In: GUTHIERIE, H. A. (Ed.). **Human Nutrition**. New York, 1994. Micronutrient Minerals, p.351-357.

HALLBERG, L., BRUNE, M. e ROSSANDER, L. Low bioavailability of carbonyl iron in man: studies on iron fortification of wheat flour. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.43, n.1, January 1, 1986, p.59-67. 1986.

HAMEDANI, A., AKHAVAN, T., SAMRA, R. A. e ANDERSON, G. H. Reduced energy intake at breakfast is not compensated for at lunch if a high-insoluble-fiber cereal replaces a low-fiber cereal. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.89, n.5, May 1, 2009, p.1343-1349. 2009.

IBRÜGGER, S., KRISTENSEN, M., MIKKELSEN, M. S. e ASTRUP, A. Flaxseed dietary fiber supplements for suppression of appetite and food intake. **Appetite**, v.58, n.2, p.490-495. 2012.

INSTITITO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **IBGE cidades**. 2011.

LATTA, M. e ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, n.6, p.1313-1315. 1980.

LOBO, A. R., COCATO, M. L., BORELLI, P., GAIEVSKI, E. H. S., CRISMA, A. R., NAKAJIMA, K., NAKANO, E. Y. e COLLI, C. Iron bioavailability from ferric pyrophosphate in rats fed with fructan-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour. **Food Chemistry**, v.126, n.3, p.885-891. 2011.

LOBO, A. R., COLLI, C., ALVARES, E. P. e FILISETTI, T. M. C. C. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal

morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. **British Journal of Nutrition**, v.97, n.04, p.776-785. 2007.

LOHMAN, T. G. **Advances in body composition assessment: current issues in exercise science**. Illinois: Human Kinetics Champaign. 1992. 57 - 63 p.

LUO, Y., GU, Z., HAN, Y. e CHEN, Z. The impact of processing on phytic acid, in vitro soluble iron and Phy/Fe molar ratio of faba bean (*Vicia faba* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, n.5, p.861-866. 2009.

LYLY, M., LIUKKONEN, K.-H., SALMENKALLIO-MARTTILA, M., KARHUNEN, L., POUTANEN, K. e LÄHTEENMÄKI, L. Fibre in beverages can enhance perceived satiety. **European Journal of Nutrition**, v.48, n.4, p.251-258. 2009.

LYLY, M., OHLS, N., LÄHTEENMÄKI, L., SALMENKALLIO-MARTTILA, M., LIUKKONEN, K.-H., KARHUNEN, L. e POUTANEN, K. The effect of fibre amount, energy level and viscosity of beverages containing oat fibre supplement on perceived satiety. **Food and Nutrition Research**, v.54. 2010.

LYON, M. e KACINIK, V. Is There a Place for Dietary Fiber Supplements in Weight Management? **Current Obesity Reports**, p.1-9. 2012.

MAKI, K. C., BEISEIGEL, J. M., JONNALAGADDA, S. S., GUGGER, C. K., REEVES, M. S., FARMER, M. V., KADEN, V. N. e RAINS, T. M. Whole-Grain Ready-to-Eat Oat Cereal, as Part of a Dietary Program for Weight Loss, Reduces Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Adults with Overweight and Obesity More than a Dietary Program Including Low-Fiber Control Foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v.110, n.2, p.205-214. 2010.
MAXSON, E. D. e ROONEY, L. M. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. **Cereal Chem.**, v.49, p.719-729. 1972.

MERA, R., THOMPSON, H. e PRASAD, C. How to calculate sample size for an experiment: a case-based description. **Nutritional Neuroscience** v.1, p.87-91. 1998.

MILLS, E., CHAN, A.-W., WU, P., VAIL, A., GUYATT, G. e ALTMAN, D. Design, analysis, and presentation of crossover trials. **Trials**, v.10, n.1, p.1-6. 2009.

PINHEIRO, A. B. V., LACERDA ELISA MARIA DE AQUINO, BENZECRY ESTHER HAIM, GOMES MARIA CONCEIÇÃO S e MEDEIROS, C. V. **Tabela para Avaliação do Consumo Alimentar em Medidas Caseiras**. São Paulo: Atheneu. 2001.

PINTO NETO, A., SOARES, A., URBANETZ, A. A., SOUZA, A. C. A., FERRARI, A. E. M. e AMARAL, B. Consenso Brasileiro de Osteoporose. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.42, n.6, p.343 - 354. 2002.

PREVIDELLI, Á. N., ANDRADE, S. C. D., PIRES, M. M., FERREIRA, S. R. G., FISBERG, R. M. e MARCHIONI, D. M. Índice de Qualidade da Dieta Revisado para população brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v.45, p.794-798. 2011.

PRICE, M. L., VAN SCOYOC, S. e BUTLER, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, n.5, p.1214-1218. 1978.

RABEN, A., TAGLIABUE, A. e ASTRUP, A. The reproducibility of subjective appetite scores. **British Journal of Nutrition**, v.73, n.4, p.517 - 530. 1995.

REEVES, P. G. N., F.H.; FAHEY, G.C., JR. . JOURNAL OF NUTRITION, V.123, N.11, P.1939-51, 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. 1993.

RENATO PARDINI, S. M., TIMÓTEO, ARAÚJO, V. M., ERINALDO ANDRADE, GLAUCIA BRAGGION, D. A., LUIS e OLIVEIRA, A. F. J. E. V. R. Validação do questionário internacional de nível de atividade física (IPAQ - versão 6): estudo piloto em adultos jovens brasileiros. **Rev. Brasileira de Ciência e Movimento**, v.9, p.45-51. 2001.

SCHLEMMER, U., FRØLICH, W., PRIETO, R. M. e GRASES, F. Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.53, n.S2, p.S330-S375. 2009.

SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism — experimental data and mechanism. **British Journal of Nutrition**, v.87, n.2, p.179 - 186. 2002.

SILVA, M. R. e SILVA, M. A. A. P. D. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v.12, p.21-32. 1999.

SMIRICKY-TJARDES, M. R., FLICKINGER, E. A., GRIESHOP, C. M., BAUER, L. L., MURPHY, M. R. e FAHEY, G. C. In vitro fermentation characteristics of selected oligosaccharides by swine fecal microflora. **Journal of Animal Science**, v.81, n.10, October 1, 2003, p.2505-2514. 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão VI. **Revista Hipertensão**, v.13, n.1, p.12 - 19. 2010.

TURGEON, S. L. e RIOUX, L.-E. Food matrix impact on macronutrients nutritional properties. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.8, p.1915-1924. 2011.

VERMA, A. K. e BANERJEE, R. Dietary fibre as functional ingredient in meat products: a novel approach for healthy living — a review **Journal of Food Science and Technology**, v.47, p.247-257. 2010.

WHITEHOUSE, R. C., PRASAD, A. S., RABBANI, P. I. e COSSACK, Z. T. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clinical Chemistry**, v.28, n.3, March 1, 1982, p.475-80. 1982.

WILLIS, H. J., ELDRIDGE, A. L., BEISEIGEL, J., THOMAS, W. e SLAVIN, J. L. Greater satiety response with resistant starch and corn bran in human subjects. **Nutrition Research**, v.29, n.2, p.100-105. 2009.

ZAGO, M. A., FALCÃO, R. P. e PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e práticas**. São Paulo: Ed. Atheneu. 2005.

6 ARTIGO II

Iron bioavailability of the mixture of cereals, seeds and grains ("Human Ration") is comparable to ferrous sulfate

B.Nery-Enes[a]

N.E.G.Alves[a]

S.T.Valdés[a]

C.M.M.Silveira[a]

N.M.B.Costa[b]

S.M.R.Ribeiro[a]

S.T.Pires[a]

H.S.D.Martino[a,*]

a Nutrition and Health Department, Federal University of Viçosa, 36571-000, Viçosa, MG, Brazil

b Agricultural Sciences Center, Federal University of Espírito Santo, 29500-000, Alegre, ES, Brazil

* Corresponding author. Address: Nutrition and Health Department, Federal University of Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brazil , Tel.: 55 31 38993742; fax: 55 31 38992545; email: hercia@ufv.br

Abstract

Iron bioavailability was evaluated in three mixtures of cereals, seeds and grains ("Human Ration"): light (LCM), regular (RMC) and homemade (HMC) in rats. The animals received a depletion diet for 21 days, following a repletion diet containing 12 $mg.kg^{-1}$ Fe for 14 days. The hemoglobin regeneration efficiency (HRE) and the relative biological (RBV) did not differ among LCM and control (CG) groups. Iron bioavailability of LCM and CG was 99.99 ± 27.62 and 80.02 ± 36.63, respectively, while RMC and HMC showed lower bioavailability, 50.12 ± 35.53 and 66.66 ± 15.44, respectively. The high content of tannin (202.81 ± 19.53 $mg \cdot 100^{-1}$) in RMC diet may have contributed to its low iron bioavailability. The higher intake of soluble fiber of the animals fed LMC (21.15 ± 0.92 g) correlated (r= 0.5712, *P*= 0.0018) with the concentration of propionate in the caecal bulk (65.49 ± 11.08 µmol/g). The short chain fatty acids produced by soluble fiber fermentation, associated with the low-content of tannin may have improved iron solubility and absorption in LMC diet. Iron bioavailability of LMC diet was comparable to ferrous sulfate.

Keywords: "Human Ration". Soluble dietary fiber. Short chain fatty acid. Tannin. Phytate.

Practical Application:

The mixture of cereals, seeds and grains is widely consumed in Brazil by adult women as a strategy to modulate body weight, but its high content of dietary fiber and phytochemicals may reduce iron bioavailability of the product. The various composition of the mixtures found in the market may affect iron bioavailability at different degrees and hence the iron status of the consumers.

6.1 Introduction

Overweight and obesity are considered public health problems worldwide and have been a growing concern especially in urban areas of middle or low income countries (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). Foods rich in dietary fiber have been used as a strategy to modulate body weight and reduce the risk of chronic diseases such as diabetes, dyslipidemia and obesity, due to their inherent physiological and physical properties (MELLO e LAAKSONEN, 2009). The intake of high-fiber foods is associated with lower food intake and therefore lower calorie intake (SLAVIN, 2005), which justifies the use of dietary fiber supplements in an attempt to lose weight.

However, the intake of foods rich in dietary fiber, mainly the insoluble fraction, is associated with decreased mineral absorption, especially divalent minerals (SHAH *et al.*, 2009). Commonly, these losses are not caused by fiber, but by other food matrix components such as phytates and tannins (CALLEGARO *et al.*, 2010). The fiber-phytate-mineral relationship is complex and studies have attributed depressor effects to phytate on mineral absorption, including iron as the essential element most affected by phytate. Nevertheless, phytate fermentation in certain foods is able to reduce this adverse effect on bioavailability of minerals, and the same effect is observed for tannins (TOWO, MATUSCHEK e SVANBERG, 2006; SCHLEMMER *et al.*, 2009; VERMA e BANERJEE, 2010).

Despite the high phytochemical content present in these plant foods, which can negatively affect mineral homeostasis, these dietary sources also contain a considerable amount of soluble dietary fiber. Fermentation of this fiber in the large intestine results in the production of short chain fatty acids (SCFA) that are used as energy source by colonocytes, as well as the reduction of luminal pH which may enhance minerals solubility and absorption (SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J. R., 2007; LOBO *et al.*, 2011).

Recent studies have shown an association between obesity and iron deficiency with elevated serum ferritin levels, even in situations of iron deficiency (MCCLUNG e KARL, 2009; NEYMOTIN e SEN, 2011). This association is in consensus with the literature, but the mechanisms are not fully elucidated. The most accepted hypothesis is that the state of subclinical inflammation triggered by obesity increases the release of proinflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) that can induce the rise of hepcidin levels due to an increased release of this hormone by the liver and adipose

tissue. This change may cause a decrease of serum iron due to the binding of hepcidin to ferroportin 1 – a protein that aids the transport of iron through the basolateral membrane of the enterocyte into the bloodstream causing its internalization and degradation – thus reducing absorption of the mineral. Elevated levels of serum ferritin may be explained by the elevated levels of iron within the enterocytes (BEKRI *et al.*, 2006; ZIMMERMANN e HURRELL, 2007).

In Brazil, foods referred as "natural and functional" have gained considerable space in the food market. In this context, a commercial product called “Human Ration”, a mixture of cereals, seeds and grains, has been commercialized. It consists of several ingredients which, individually, have chemical composition and characteristics of positive physiological effects on human health, such as flaxseed, oat bran, wheat germ and fiber, defatted soy flour, among others. However, there is no scientific evidence that a combination of these ingredients would have beneficial and/or potential adverse effects on human health and iron bioavailability.

“Human Ration” stands out among fiber supplements used in the attempt to control weight however there are risk factors in relation to the maintenance of iron homeostasis. Therefore, the present study aimed to evaluate the iron bioavailability of three mixtures of cereals, seeds and grains (“Human Ration”): light, whole and homemade in rats.

6.2 Materials and Methods

The experimental protocol was approved by the Ethics Committee for Animal Research of the Federal University of Viçosa (45/2011), according to the guidelines of the Brazilian College on Animal Experimentation.

6.2.1 Iron deficiency protocol

The assessment of iron bioavailability was based on the method of AOAC depletion/repletion at 12 $mg \cdot kg^{-1}$. The biological assay was composed by 32 weaning male

Wistar rats (*Rattus norvegicus*, albinus variety, class Rodentia), obtained from the Animal Center Health Sciences of the Federal University of Viçosa. The animals were distributed in individual stainless steel cages under control temperatures (22 ± 3 °C) and relative humidity (55 ± 10%) with a 12-h dark-light cycle (lights on 07.00 to 19.00 h).

In the depletion period, all animals received deionized water *ad libitum* and were fed AIN-93 G (REEVES, 1993) iron deficient diet (Table 1) to induce iron deficiency for a 21 day period. At the end of the depletion period, blood samples were obtained through tail puncture, and Hemoglobin (Hb) concentration was assessed via the cyanide Hb method (DRABKIN e AUSTIN, 1935) (Bioclin, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil) .

6.2.2 Hemoglobin regeneration assay

The animals were divided into four experimental groups, based on the product of body weight (g) X Hb concentration ($g \cdot dL^{-1}$), and fed modified AIN-93G diets containing 12 $mg \cdot kg^{-1}$ of Fe as ferrous sulfate ($FeSO_2$) in the mineral mix for the control group. The diets RMC (regular mixture of cereals, seeds and grains), LMC (light mixture of cereals, seeds and grains) or HMC (homemade mixture of cereal, seeds and grains) provided the same concentration of iron (12 $mg \cdot kg^{-1}$). The other components of these diets were manipulated to match the MC chemical composition concerning macronutrients and energy. The dietary intake was controlled to provide 16 to 18 g per day, and was weekly monitored. The animals consumed these diets for a 14 day period (repletion).

At the end of the repletion period, the animals were anaesthetized under CO_2 atmosphere to induce unconsciousness and then immediately euthanized by cardiac puncture. Blood samples were collected, and the caecum was removed, weighed and cut open along the small curvature. Caecal pH was measured *in situ* by inserting an electrode (Schoott, Handylab 1, Germany) through the ileocaecal junction (LOBO *et al.*, 2007). The fecal contents were stored at -80 ºC for SCFA analysis.

6.2.3 Formulation of experimental diets and chemical composition

Three types of cereals, seeds and grain mixture were used as follows: regular (RMC), light (LMC) and homemade (HMC). The regular formulation was locally obtained in Viçosa, MG, Brazil; the light formulation was kindly donated by the product manufacturer, and the homemade version was prepared in the laboratory from the regular recipe, respecting the proper proportions of each ingredient. The RMC and HMC consisted of quinoa, agar-agar, brown sugar, oatmeal, cocoa powder, oat bran, wheat fiber, rice flour, white cornmeal, flour, defatted soy, sesame, wheat germ, *guarana* powder, brewer´s yeast and flaxseed. The LMC was composed of: quinoa, agar-agar, oatmeal, oat bran, passion fruit peel flour, wheat germ, rice flour, defatted soy flour, sesame, wheat germ, yeast beer and flaxseed.

The experimental diets (Table 1) were formulated according to the standard rodent diet AIN-93G. In the HMC, LMC and RMC, cornstarch, sucrose and dietary fiber were quantitatively replaced, taking into consideration the carbohydrate content in the mixtures of cereals, seeds and grains which were maintained isoproteic and isocaloric. After preparation, the diets were stored under refrigeration (-20 °C).

Moisture, ash, protein, lipids, starch, total dietary fiber and fractions were determined according to the Association of Official Analytical Chemists-AOAC (2002). Iron content in the samples was determined according to Gomes (1996), in which 1 g of the sample was digested in concentrated nitric acid at 150 °C for 16 hours until a clear solution is formed. The iron concentration in the solution was measured by atomic absorption spectrophotometry (GBC 908 AA spectrophotometer). Phytate determination was carried out by the colorimetric method according to Latta and Eskin (1980). This was performed using a UV-Visible spectrophotometer (Shimadzu, UV-1601, Japan), at the wavelength of 500 nm. Condensed tannins were determined by vanillin reaction according to Burns (1971), with modifications as proposed by Maxson and Rooney (1972) and Price *et al.* (1978).

Table 1 - Ingredients ($g \cdot kg^{-1}$), iron and tannin content ($mg \cdot kg^{-1}$) of experimental diets

Ingredients	Depletion diet	Repletion diets			
		CG Diet	HMC Diet	RMC Diet	LMC Diet
Albumin[a]	200.00	200.00	147.28	183.38	172.59
Maltodextrin[a]	132.00	132.00	132.00	132.00	132.00
Sucrose[b]	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Soybean oil[c]	70.00	70.00	44.53	62.25	50.30
Fiber[d]	-	-	20.17	37.41	21.26
Cellulose Microfine[e]	50.00	50.00	29.83	12.59	28.74
Iron free mineral mixture[f]	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00
Vitamin mixture[g]	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
L-Cystine[g]	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Choline Bitartrate[g]	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Corn starch[h]	397.50	397.50	315.43	362.98	352.09
Ferrous sulphate[i]	-	0.06	-	-	-
HMC	-	-	190.06	-	-
RMC	-	-	-	157.22	-
LMC	-	-	-	-	121.24
Iron **	-	1.73 ± 0.04	1.93 ± 0.9	2.32 ± 0.01	2.54 ± 0.07
Tannin **	-	-	59.76 ± 7.28	202.81 ± 19.53	27.88 ± 2.94

Source: Adapted from Reeves *et al*. (1993); except of iron.

CG: Control group (ferrous sulfate); HMC: Homemade mixture of cereals, seeds and grains; RMC: Regular mixture of cereals, seeds and grains; LMC: light mixture of cereals, seeds and grains.

a Maxnutry Albumina 100% pura/ Nutryclin Alimentos Viçosa Brazil.

b Açúcar União/ Commerce of Viçosa.

c SOYA/ Commerce of Viçosa.

d Fiber from the mixture of cereals, seeds and grains used to prepare the test diet.

e Synth, LabSynth Produtos para Laboratório LTDA.

f Laboratory of Experimental Nutrition-UFV-MG-Brazil.

g Rhoster/ Rhoster-Indústria e Comércio Ltda.

h Maizena Amido de Milho.

i VETEC Química Fina LTDA.

** Content measured.

6.2.4 Iron bioavailability and hematological parameters

Blood samples were collected by cardiac puncture, and divided into two vials, without anticoagulant for Hb determination, and with anticoagulant (EDTA, Vacuette, Campinas, Brazil) for reticolocytes counts.

The hemoglobin gain (HbG) was calculated as the difference in Hb concentration obtained in the final and initial phases of the repletion period.

Hb-Fe pool was calculated, assuming the total blood volume of 6.7% body weight and iron content in hemoglobin of 0.335%. Hb regeneration efficiency and relative biological value were estimated according to Manhoney and others (1974):

Hb-Fe (mg) = [body weight (g) x Hb (g L^{-1}) x 6.7 x 0.335] /10,000
HRE (%) = mg Hb-Fe $_{final}$ - mg Hb-Fe $_{initial}$/Fe intake (mg)
RBV = 100 X (HRE (%) test group/HRE (%) control group

The amount of iron consumed (mg) was assessed by the product of total dietary consumption (g) X Fe of the diet (mg). Apparent iron bioavailability of the experimental groups was assessed by comparing with the control group, whose RBV was considered 100%. Reticulocyte counts were carried out according to Zago, Falcão e Pasquini (2005).

6.2.5 Determination of SCFA in the caecal contents

The method described by Smiricky-Tjardes *et al*. (2003) was carried out for the caecal SCFA (acetic, propionic and butyric) analysis. The SCFA concentrations were determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Shimadzu Scientific Instruments Inc., Kyoto, Japan) consisting of a SPD-10A VP pump, Shimadzu C_{18} chromatography column 30 cm x 4.5 mm and coupled to an Ultra Violet detector (UV). The chromatographic conditions were: mobile phase composed of ultrapure water (Milli-Q) in 1% ortho-phosphoric acid, 20 mL injection volume, flow rate of 1.0 mL/min and pressure of 138 kgf. Chromatograms were obtained at 210 nm.

Aliquots of caecal content (500 mg) were added to 500 μL of 25% meta-phosphoric acid and maintained in repose for 30 min at room temperature. Samples were then centrifuged in a refrigerated micro centrifuge (Hitachi, CT15RE, Koki, Japan) at 16,000 *g* and 5 °C for 30 min. The supernatant was collected and centrifuged for 20 min under the same conditions. Identification of compounds was performed by comparison with retention times of the standards (Volatine Free Acid Mix, code 46975; Sigma Chemical CO., St. Louis, MO, USA). Samples were analyzed under the same conditions as the standards, and quantification performed using external standard curves constructed by injecting increasing concentrations of the standard solutions in duplicate, at intervals ranging from 500 to 2500 ppm, 2000 to 8000 ppm, and 50 to 300 ppm for acetic, propionic and butyric acid, respectively. A linear correlation was defined between the peak areas and the injected concentrations of each fatty acid.

Quantification of SCFA in the samples was performed using the analytical curves and regression equations for acetic acid ($y = 577.01x + 10539$; $R^2 = 0.997$), propionic acid ($y = 656.23x – 38691$; $R^2 = 0.9978$) and butyric acid ($y = 585.36x + 1651$; $R^2 = 0.9987$). The concentrations of the samples were calculated by including the dilution factor.

6.2.6 Statistical analysis

Data was expressed as the mean ± standard deviation. In the depletion period, the values for hemoglobin concentration and Hb Fe pool from day 0 and 14 were compared by using paired *t*-test. For comparison among means of the different groups, analysis of variance (ANOVA) was performed and, in the case of significant differences, a Dunnett's post hoc test was applied using the ferrous sulfate group (Control) as standard. A Duncan´s test was performed to make comparisons among the experimental groups. Body weight, body weight gain and food efficiency ratio were adjusted by food intake, while initial and final hemoglobin concentration, hemoglobin gain and Hb-Fe were corrected for iron intake. Data analysis was carried out with software System for Statistical Analysis (SAEG) version 9.1, considering a significance level of 5% ($p < 0.05$).

6.3 Results and Discussion

6.3.1 Chemical composition of the mixtures of cereals, seeds and grains

The chemical components of the mixtures of cereals, seeds and grains in this study are presented in Table 2. The formulations were rich in protein and lipids, contributing to the average energy density of the products in 337.81 kcal·100 g^{-1}. The three types of the mixtures of cereals, seeds and grains showed high levels of total dietary fiber, especially for the insoluble fraction. However, LMC showed soluble dietary fiber concentration twice as higher as RMC and three fold higher than HMC. The phytate: iron molar ratio for HMC (8.27) was significantly higher than in LMC (3.44) and RMC (1.64). The molar ratio of phytate to minerals is used to predict adverse effects on mineral bioavailability (MA *et al.*, 2006). Gibson *et al*. (2010) demonstrated that the inhibitory effect of phytate on iron absorption is dose dependent and may occur even at low phytate levels. These authors indicated that phytate can be degraded to compounds containing less than five phosphates in their chemical structure, which does not alter the absorption of minerals.

The tannin content of RMC was superior to the other diets, as shown in Table 1, while HMC and LMC had similar concentrations. Nevertheless, the consumption of tannin was lower for the LMC group, followed by HMC and RMC, respectively (Table 5). The tannin content contributes to the low iron bioavailability in vegetal foods, but heat treatments could be used to enable the inhibition potential of complexes formation among phenol compounds and divalent metals (Towo *et al*., 2006).

Table 2 - Chemical composition (g.100 g^{-1}), iron, phytate and tannin contents (mg. g^{-1}) from Homemade (HMC), Regular (RMC) and Light (LMC) mixtures of cereals, seeds and grains on dry basis

Composition	HMC	LMC	RMC
Protein	20.00 ± 0.05^{a}	15.14 ± 0.02^{c}	17.08 ± 0.08^{b}
Fat	13.40 ± 0.33^{b}	16.25 ± 0.84^{a}	10.85 ± 0.31^{c}
Starch	39.37 ± 1.28^{a}	31.75 ± 0.59^{a}	38.90 ± 2.89^{a}
Moisture	6.93 ± 0.00^{b}	8.75 ± 0.10^{a}	9.05 ± 0.58^{a}
Ash	3.88 ± 0.00^{b}	4.47 ± 0.02^{a}	4.41 ± 0.07^{a}
Total Dietary Fiber	16.40 ± 1.00^{b}	23.65 ± 0.07^{a}	20.29 ± 3.80^{b}
Insoluble Dietary Fiber	13.68 ± 0.57^{a}	14.62 ± 0.07^{a}	14.89 ± 4.44^{a}
Soluble Dietary Fiber	2.72 ± 0.42^{c}	9.03 ± 0.14^{a}	5.40 ± 0.64^{b}
Iron	6.24 ± 0.00^{c}	12.42 ± 0.58^{b}	17.52 ± 0.02^{a}
Phytate	6.20 ± 0.60^{a}	4.00 ± 0.30^{b}	3.30 ± 0.30^{c}
Tannin	2.78 ± 0.38^{b}	2.02 ± 0.24^{b}	12.45 ± 1.24^{a}
Phytate: iron	8.28 ± 0.76^{a}	3.44 ± 0.95^{b}	1.64 ± 0.14^{c}
Energy density	319.16 ± 14.71^{a}	333.91 ± 5.17^{a}	358.13 ± 2.29^{a}

Results are expressed as mean ± SD from three repetitions.

For each evaluated characteristic means followed by the same small letter in the lines, are not significantly different at 5% probability by Duncan test.

HMC: Homemade mixture of cereals, seeds and grains; LMC: Light mixture cereals, seeds and grains; RMC: Regular mixture of cereals, seeds and grains.

6.3.2 Body weight gain and food consumption

During the depletion period no statistical differences were observed for body weight gain, total food intake and food efficiency ratio (FER) among the experimental groups (Table 3). In the repletion phase all groups showed body weight gain similar to the CG, after the adjustment of the total dietary intake. Excluding the control group, a higher body weight gain was observed for the HMC group. A higher value for the HMC group was observed regarding the FER when compared with the control and tested groups, which is justified by the increased food intake (Table 4).

Table 3 - Body weight, body weight gain, diet consumption, food efficiency ratio and hemoglobin concentration in depletion phase

Variables	CG	HMC	LMC	RMC
Initial body weight (g)	81.37 ± 15.3^{A}	90.87 ± 7.64^{Aa}	89.62 ± 8.39^{Aa}	86.37 ± 8.97^{Aa}
Final body weight (g)	178.12 ± 18.3^{A}	179.87 ± 15.52^{Aa}	187.25 ± 15.69^{Aa}	184.5 ± 17.14^{Aa}
Body weight gain (g)	96.75 ± 7.36^{A}	89.0 ± 15.25^{Aa}	97.62 ± 14.62^{Aa}	98.12 ± 17.14^{Aa}
Consumption (g)	295.68 ± 19.5^{A}	293.81 ± 26.79^{Aa}	308.03 ± 27.88^{Aa}	303.33 ± 24.90^{Aa}
Food Efficiency Ratio	0.33 ± 0.03^{A}	0.30 ± 0.03^{Aa}	0.32 ± 0.03^{Aa}	0.32 ± 0.03^{Aa}
Hemoglobin Concentration (g/dL)	7.33 ± 1.17^{A}	7.17 ± 0.94^{Aa}	7.28 ± 1.15^{Aa}	7.74 ± 1.05^{Aa}

Results are expressed as mean ± SD from iron-deficient rats (n=8/group) after 21 day period fed with iron deficient diet: CG: Control group (ferrous sulfate); HMC: Homemade mixture of cereals, seeds and grains; LMC: Light mixture cereals, seeds and grains; RMC: Regular mixture of cereals, seeds and grains.

To compare each experimental group versus the control group Dunnett test was used. For each evaluated characteristic means followed by the same capital letter in the lines are not significantly different at 5% probability.

To compare only the experimental groups Duncan test was used. For each evaluated characteristic means followed by the same small letter in the lines, are not significantly different at 5% probability.

Table 4 - Body weight, food efficiency ratio and hematological parameters of experimental groups during the repletion period

Variables	CG	HMC	LMC	RMC
Initial body weight (g)	189.27 ± 18.38^{A}	174.08 ± 15.52^{Aa}	181.32 ± 15.69^{Aa}	185.08 ± 17.30^{Aa}
Final body weight (g)	223.08 ± 28.09^{A}	218.56 ± 15.83^{Aa}	216.89 ± 16.75^{Aa}	218.47 ± 16.15^{Aa}
Body weight gain (g)	33.80 ± 13.90^{A}	44.48 ± 2.90^{Aa}	35.57 ± 10.00^{Ab}	33.39 ± 8.01^{Ab}
Food Efficiency Ratio	0.12 ± 0.06^{B}	0.19 ± 0.02^{Aa}	0.16 ± 0.04^{Bb}	0.14 ± 0.03^{Bb}
Hemoglobin gain (g/dL)	5.08 ± 1.36^{A}	2.36 ± 0.73^{Ba}	4.06 ± 2.35^{Aa}	2.41 ± 2.92^{Ba}
Hemoglobin regeneration efficiency (%)	0.61 ± 0.20^{A}	0.40 ± 0.10^{Ba}	0.50 ± 0.20^{Aa}	0.30 ± 0.20^{Ba}
Relative biological value	9.99 ± 2.76^{A}	6.66 ± 1.54^{Ba}	8.00 ± 3.56^{Aa}	5.01 ± 3.55^{Ba}
Iron bioavailability (%)	99.99 ± 27.62^{A}	66.66 ± 15.44^{Ba}	80.02 ± 36.63^{Aa}	50.12 ± 35.53^{Ba}
Reticulocyte count (%)	97.50 ± 31.11^{A}	82.80 ± 19.76^{Aa}	112.50 ± 12.80^{Aa}	90.00 ± 39.76^{Aa}

Results are expressed as mean ± SD from iron-deficient rats (n=8/group) after 14 day period fed 12 ppm iron diet: CG: Control group (ferrous sulfate); HMC: Homemade mixture of cereals, seeds and grains; LMC: Light mixture cereals, seeds and grains; RMC: Regular mixture of cereals, seeds and grains.

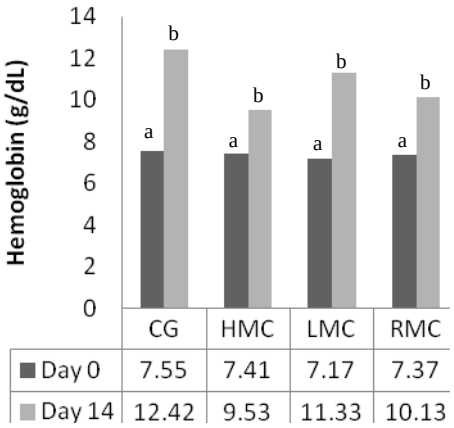
To compare each experimental group versus the control group Dunnett test was used. For each evaluated characteristic means followed by the same capital letter in the lines are not significantly different at 5% probability.

To compare only the experimental groups Duncan test was used. For each evaluated characteristic means followed by the same small letter in the lines, are not significantly different at 5% probability.

6.3.3 Hematological and iron bioavailability parameters

There was no statistical difference in the Hb concentration (*P*=0.09) and Hb Fe pool (*P*=0.065) among the experimental groups in the end of the depletion period and iron deficiency was confirmed (Table 3). Hb values and Hb Fe pool between the beginning and the end of the repletion period are shown in Fig. 1. The mean of Hb concentration increased 39.2% (*P*< 0.0001) for the CG and 28.6% (*P*=0.0001) for HMC, 36.5% (*P*=0.0015) for LMC and 27.2% (*P*=0.0315) for RMC (Figure 1-A). Hb Fe pool presented similar results, with an increase of 47.7% for CG (*P*<0.0001), 38.8% for HMC (*P*<0.0001), 46.8% for LMC (*P*=0.0004) and 38.2% for RMC (*P*=0.0048) (Figure 1-B).

A



B

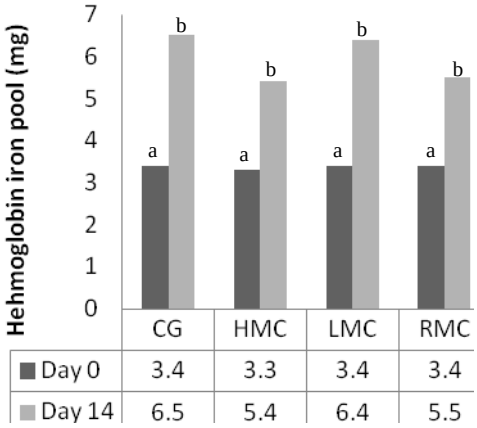


Fig. 1. Hemoglobin concentration and Hemoglobin iron pool in iron-defficient rats fed diets containing ferrous sulfate or three types of mixtures of cereals, seeds and grains, homemade, light and regular over the repletion period. Abbreviations: CG: control group; HMC: homemade cereals, seeds and grains mixture; LMC: light cereals, seeds and grains mixture; RMC: regular cereals, seeds and grains mixture. Results are expressed as mean ± SD (*n* = 8 for all groups). Mean value that are followed by different letter are significantly different (*P*<0.05).

At the end of repletion period LMC presented higher efficiency of hemoglobin recovery and relative biological value, similar to CG (ferrous sulfate), as well as iron bioavailability. Among experimental groups, there was no difference between the test groups for the parameters mentioned above (Table 4).

RMC showed the highest iron content (17.52 mg·100 g^{-1}), followed by LMC (12.42 mg·100 g^{-1}) and HMC (6.24 mg·100 g^{-1}) (Table 2). However, the mineral bioavailability showed no statistical difference among the three mixtures types (*P*= 0.2497). This fact can be explained by the difference among the food matrixes of the three mixtures of cereals, seeds and grains (VELLOZO e FISBERG, 2010). Nevertheless, the presence of tannin or phytate may decrease mineral bioavailability. A negative association between tannin intake and iron bioavailability (r=-0.4029; *P*=0.0255) was observed by Pearson correlation, which may have impaired iron absorption because of the formation of insoluble complexes between the phenol compounds and mineral (SILVA e SILVA, 1999).

Animals fed LMC had higher intake of total and soluble fibers and the RMC group presented higher intake of insoluble fiber. The highest phytate intake was found in the HMC group (Table 5). In the present study no association was found between iron bioavailability and dietary fiber intake and/or fractions. However, other studies showed a negative correlation between mineral bioavailability and total dietary fiber intake (CATANI *et al.*, 2003; WEBER *et al.*, 2010).

Table 5 - Consumption of total fiber (g), insoluble fiber (g), soluble fiber (g), tannin (mg) and phytate (mg)

Variables	**HMC**	**LMC**	**RMC**
Total Dietary Fiber (g)	38.45 ± 2.10^{c}	55,40 ± 2.41^{a}	49.52 ± 3.64^{b}
Insoluble Dietary Fiber (g)	32.07 ± 1.76^{c}	33.97 ± 1.53^{b}	36.33 ± 2.67^{a}
Soluble Dietary Fiber (g)	6.37 ± 0.35^{c}	21.15 ± 0.92^{a}	13.18 ± 0.97^{b}
Phytate (mg)	1.44 ± 0.08^{a}	0.95 ± 0.04^{b}	0.79 ± 0.06^{c}
Tannin (mg)	651.87 ± 35.77^{b}	473.25 ± 20.66^{c}	3,038.42 ± 223.67^{a}

Results are expressed as mean ± SD from iron-deficient rats (n=8/group) after 14 day period fed 12 ppm iron diet: HMC: Homemade mixture of cereals, seeds and grains; LMC: Light mixture cereals, seeds and grains; RMC: Regular mixture of cereals, seeds and grains.
For each evaluated characteristic means followed by the same small letter in the lines, are not significantly different at 5% probability by Duncan test.

The soluble fiber in the small intestine is a substrate for microbiota fermentation, and as a consequence, reduces the intestinal pH that may increase mineral absorption (CHAWLA e PATIL, 2010). Nevertheless, the higher iron bioavailability of LMC was not associated with a greater consumption of soluble dietary fiber. Moreover, other studies have pointed out that anemic animals fed soluble fiber showed similar recovery of hemoglobin to the control group, in which ferrous sulfate was used (DE CÁSSIA FREITAS *et al.*, 2006; FELTRIN *et*

al., 2009). The lack of consensus among studies is due to experimental conditions such as short-term or long-term consumption of the food test, experimental models, the food matrix, and the age and/or nutritional/physiologic status of the animals (LOBO *et al.*, 2007; SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J., 2007; LOBO *et al.*, 2011).

The negative effects associated with dietary fiber may be due to other substances in the food matrix, such as phytates, which are present in high levels in whole plant foods (CHAWLA e PATIL, 2010). Many ingredients present in the evaluated MC are unrefined foods and possibly rich in phytates, including wheat bran, oats, wheat germ and flaxseed. Siqueira *et al*. (2001) stated that wheat bran is rich in phytate, but grain is roasted during processing which significantly reduces the content of this compound. This fact may explain the lack of correlation between phytate consumption and iron bioavailability in the present study, since the wheat bran present in tested mixtures of cereals, seeds and grains types was processed by the food industry. Martino *et al*. (2011) however, found lower iron bioavailability in shelled soybeans and higher phytate content, even after heat treatment.

Higher iron absorption occurs in the small intestine, and in some circumstances it may occur in the proximal colon (LUND *et al.*, 1998). In this context, investigation of the short-chain fatty acids (SCFA) content and caecal pH is relevant in bioavailability studies involving foods with considerable fiber content. The microbiota ferments non-digestible carbohydrates producing SCFA, and aiding the reduction of intestinal pH and improving the solubility of iron (SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J., 2007). The low pH and high SCFA concentrations, especially butyrate, are related to hypertrophy of the intestinal tissue leading to an increased surface of the large intestine and, consequently, the greater intestinal absorption of minerals (LOBO *et al.*, 2007; SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J. R., 2007). In the present study, the group fed RMC showed similar fecal propionate content as the CG, and the HMC and LMC groups presented higher contents of this fatty acid. It is believed that this difference is related to the large amount of soluble fiber in LMC and RMC, $9.03g \cdot 100g^{-1}$ and $5.4g \cdot 100g^{-1}$, respectively. For butyrate and acetate, no significant differences were observed in relation to the control and test groups. For caecal pH no difference was found among all groups (Table 6). The lack of differences in the SCFA level and caecal pH in this study confirms the findings in relation to iron bioavailability, which did not differ among the test groups. However, Weber *et al*. (2010) found significant reduction in pH for a group a diet containing a mixture with high fiber content. Pearson´s correlation revealed that acetate (r=0.7088, *P*=0.001) and propionate (r=0.5712, *P*=0.0018)

concentrations were associated with fiber intake. These results are of great importance because LMC presented a better iron bioavailability and a higher level of fecal propionate content as well as soluble dietary fiber intake, although there was no difference in caecal pH.

Table 6 - Intestinal concentration of SCFA (µmol/g) and caecal pH

Variables	GC	HMC	LMC	RMC
Acetate (µmol/g)	17.38 ± 2.56^{A}	16.38 ± 2.17^{Aa}	20.18 ± 5.48^{Aa}	14.93 ± 2.56^{Ab}
Propionate (µmol/g)	53.07 ± 6.13^{A}	67.9 ± 2.81^{Ba}	65.49 ± 11.08^{Ba}	55.21 ± 7.80^{Aa}
Butyrate (µmol/g)	1.16 ± 0.34^{A}	1.06 ± 0.41^{Aa}	0.85 ± 0.21^{Aa}	1.21 ± 0.37^{Aa}
Total SCFA (µmol/g)	72.41 ± 7.33^{A}	84.59 ± 7.59^{Aa}	85.32 ± 13.45^{Aa}	71.36 ± 9.13^{Aa}
Caecal pH	7.00 ± 0.00^{A}	7.10 ± 0.20^{Aa}	7.10 ± 0.30^{Aa}	7.10 ± 0.20^{Aa}

Results are expressed as mean ± SD from iron-deficient rats (n=8/group) after 14 day period fed 12 ppm iron diet: CG: Control group (ferrous sulfate); HMC: Homemade mixture of cereals, seeds and grains; LMC: Light mixture cereals, seeds and grains; RMC: Regular mixture of cereals, seeds and grains.

To compare each experimental group versus the control group Dunnett test was used. For each evaluated characteristic means followed by the same capital letter in the lines are not significantly different at 5% probability.

To compare only the experimental groups Duncan test was used. For each evaluated characteristic means followed by the same small letter in the lines, are not significantly different at 5% probability.

The proportion of available iron was calculated from test-diets and it was observed that the LMC (9.94 $mg \cdot 100^{-1}$) was significantly higher than the HMC (4.16 $mg \cdot 100^{-1}$). The RMC presented an intermediate value (8.78 $mg \cdot 100\ g^{-1}$) with no difference between the other diets. It shows that the iron content of the MC studied was not the only factor responsible for mineral bioavailability. The food matrix and chemical composition play important roles, either inhibiting or improving solubility and, consequently, mineral absorption. In the present study the negative correlation between iron bioavailability and tannin intake showed that the food matrix presents an influence in mineral absorption. Moretti *et al*. (2006) found that the food matrix influences the RBV, demonstrating a higher absorption of $FeSO_4$ on a rice meal than in a wheat-based meal. The authors justified that these differences may be due to meal´s composition, as calcium content or phytic acid content. Nevertheless, the composition of a meal may affect gastric motility, stomach emptying, and gut pH. These data suggest that depending on the iron source, the digestion of nonheme iron into the common pool or its subsequent absorption can be influenced by the effects of the food matrix (HALLBERG, BRUNE e ROSSANDER, 1986).

6.4 Conclusion

The light mixture of cereals, seeds and grains showed better iron bioavailability, possibly due to the lower tannin intake by the animals and a higher proportion of propionate in the fecal content associated with the intermediary contents of phytate and iron. Therefore, the results of this study showed that the light mixture of cereals, seeds and grains has no negative effect on iron homeostasis.

These products, recently available on the food market, claim health benefits but there are no scientific proofs about these effects. Studies are needed to investigate these effects on human health, since this is the first study evaluating these products in an animal model.

Acknowledgments

The authors wish to thanks Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) for the financial support (Research Project APQ 00421-11) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for the fellowships awarded to Bárbara Nery Enes, Carlos Mário Martins Silveira and Natália Elizabeth Galdino Alves. We also wish to thanks Ceres Mattos Della Lucia and Gean Carla Pereira for reviewing the manuscript.

References

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington, D.C, v.2. 1998

BEKRI, S., *et al.* Increased Adipose Tissue Expression of Hepcidin in Severe Obesity Is Independent From Diabetes and NASH. **Gastroenterology**, v.131, n.3, p.788-796. 2006.

BURNS, R. E. Method for Estimation of Tannin in Grain Sorghum 1. **Agronomy Journal**, v.63, n.3, p.511-512. 1971.
CALLEGARO, M. G. K., *et al.* Supplementation with fiber-rich multimixtures yields a higher dietary concentration and apparent absorption of minerals in rats. **Nutrition Research**, v.30, n.9, p.615-625. 2010.

CATANI, M., *et al.* Dietary cellulose has no effect on the regeneration of hemoglobin in growing rats with iron deficiency anemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.693-697. 2003.

CHAWLA, R. e PATIL, G. R. Soluble Dietary Fiber. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, n.2, p.178-196. 2010.

DE CÁSSIA FREITAS, K., *et al.* Partially hydrolyzed guar gum increases intestinal absorption of iron in growing rats with iron deficiency anemia. **Clinical Nutrition**, v.25, n.5, p.851-858. 2006.

FELTRIN, C., *et al.* Effect of Soluble Fiber Pectin on Growth and Intestinal Iron Absorption in Rats During Recovery from Iron Deficiency Anemia. **Biological Trace Element Research**, v.129, n.1, p.221-228. 2009.

GIBSON, R. S., *et al.* A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. **Food & Nutrition Bulletin**, v.31, n.Supplement 2, p.134-146. 2010.

GOMES JC. **Análise de alimentos**: Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. 1996. 126 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Ed. São Paulo. 2005. 1018 p.

LATTA, M. e ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, n.6, p.1313-1315. 1980.

LOBO, A. R., *et al.* Iron bioavailability from ferric pyrophosphate in rats fed with fructan-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour. **Food Chemistry**, v.126, n.3, p.885-891. 2011.

_____. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. **British Journal of Nutrition**, v.97, n.04, p.776-785. 2007.

LUND, E. K., *et al.* Increases in the Concentrations of Available Iron in Response to Dietary Iron Supplementation Are Associated with Changes in Crypt Cell Proliferation in Rat Large Intestine. **The Journal of Nutrition**, v.128, n.2, February 1, 1998, p.175-179. 1998.

MA, G., *et al.* Phytate intake and molar ratios of phytate to zinc, iron and calcium in the diets of people in China. **Eur J Clin Nutr**, v.61, n.3, p.368-374. 2006.

MARTINO, H. S. D., *et al.* The use hull soybean flour of heat-treated grains does not affect iron bioavailability in rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutricíon**, In press. 2011.

MATUSCHEK, E. e SVANBERG, U. The effect of fruit extracts with polyphenol oxidase (PPO) activity on the in vitro accessibility of iron in high-tannin sorghum. **Food Chemistry**, v.90, n.4, p.765-771. 2005.

MAXSON, E. D. e ROONEY, L. M. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. **Cereal Chem.**, v.49, p.719-729. 1972.

MCCLUNG, J. P. e KARL, J. P. Iron deficiency and obesity: the contribution of inflammation and diminished iron absorption. **Nutrition Reviews**, v.67, n.2, p.100-104. 2009.
MELLO, V. D. D. e LAAKSONEN, D. E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.53, p.509-518. 2009.

NEYMOTIN, F. e SEN, U. Iron and Obesity in Females in the United States. **Obesity**, v.19, n.1, p.191-199. 2011.

PRICE, M. L., VAN SCOYOC, S. e BUTLER, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, n.5, p.1214-1218. 1978.

REEVES, P. G. N., F.H.; FAHEY, G.C., JR. . JOURNAL OF NUTRITION, V.123, N.11, P.1939-51, 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. 1993.

S F A SIQUEIRA, *et al.* Phytate from an alternative dietary supplement has no effect on the calcium, iron and zinc status in undernourished rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición** v.51, n.3, p.250-257. 2001.

SCHLEMMER, U., *et al.* Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.53, n.S2, p.S330-S375. 2009.

SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J. R. Inulin and Oligofructose and Mineral Metabolism: The Evidence from Animal Trials. **The Journal of Nutrition**, v.137, n.11, November 1, 2007, p.2513S-2523S. 2007.

SHAH, M., *et al.* Effect of a High-Fiber Diet Compared With a Moderate-Fiber Diet on Calcium and Other Mineral Balances in Subjects With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v.32, p.899-995. 2009.

SLAVIN, J. L. Dietary fiber and body weight. **Nutrition**, v.21, n.3, p.411-418. 2005.
SMIRICKY-TJARDES, M. R., *et al.* Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. **J. Anim Sci.**, v.81, n.10, October 1, 2003, p.2535-2545. 2003.

TOWO, E., MATUSCHEK, E. e SVANBERG, U. Fermentation and enzyme treatment of tannin sorghum gruels: effects on phenolic compounds, phytate and in vitro accessible iron. **Food Chemistry**, v.94, n.3, p.369-376. 2006.

VELLOZO, E. P. e FISBERG, M. O impacto da fortificação de alimentos na prevenção da deficiência de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, p.134-139. 2010.

VERMA, A. K. e BANERJEE, R. Dietary fibre as functional ingredient in meat products: a novel approach for healthy living — a review **Journal of Food Science and Technology**, v.47, p.247-257. 2010.

WEBER, T. K., *et al.* Effect of dietary fibre mixture on growth and intestinal iron absorption in rats recovering from iron-deficiency anaemia. **British Journal of Nutrition**, v.104, n.10, p.1471-1476. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Overweight and obesity. Fact sheet No. 311**. WHO. Geneva. 2011.

ZAGO, M. A., FALCÃO, R. P. e PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e práticas**. São Paulo: Ed. Atheneu. 2005.

ZIMMERMANN, M. B. e HURRELL, R. F. Nutritional iron deficiency. **The Lancet**, v.370, n.9586, p.511-520. 2007.

7 ARTIGO III

Efeito do Consumo de uma Mistura de Cereais, Sementes e Grãos ("Ração Humana") no Peso, na Composição Corporal, na Pressão Arterial, na Saúde Óssea, no Controle da Saciedade e no Estado Nutricional dos Minerais Ferro e Zinco em Mulheres com Excesso de Peso

Bárbara Nery Enes[a]
Natália Elizabeth Galdino Alves[a]
Sônia Machado Rocha Ribeiro[a]
Rita de Cássia Gonçalves Alfenas[a]
Hércia Stampini Duarte Martino[a]

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do consumo de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") no peso, na composição corporal, na saúde óssea, na pressão arterial, no controle da saciedade e no estado nutricional dos minerais ferro e zinco em mulheres com excesso de peso. Foi aplicado tratamento baseado em restrição energética de 15% associada ao consumo da mistura de cereais, sementes e grãos (MC) ou ao consumo de um placebo. Não houve diferença em relação ao consumo de macronutrientes e energia entre os dois tratamentos. Entretanto, o consumo de MC propiciou aumento na ingestão de ferro (0,24 ± 0,26 vs. 1,67 ± 0,39 mg/dia, *P*= 0,0002), fósforo (-51,22 ± 25,75 vs. 195,01 ± 26,11 mg/dia, *P*<0,0001), zinco (-1,11 ± 0,14 vs. 1,61 ± 0,28 mg/dia, *P*<0,0001) e vitamina E (-1,31 ± 0,54 vs. 3,48 ± 0,50 mg/dia, *P*= 0,001), em relação ao consumo do placebo, respectivamente. Não foram verificadas diferenças quanto ao peso e composição corporal, além da saúde óssea e de controle de saciedade entre os tratamentos. Houve associação positiva entre densidade mineral óssea e índice de massa corporal (*P*= 0,0127). A perda ponderal, entretanto foi significativamente maior no primeiro período de intervenção para o

grupo controle (*P*= 0,0434) e no segundo período para o grupo teste (*p*= 0,086). O consumo de MC propiciou o aumento da concentração de hemoglobina (*P*= 0,0001) para o grupo intervenção e não foram observados prejuízos quanto à absorção de zinco. Houve, contudo, associação negativa entre zinco eritrocitário e IMC r= -0,5123 *P*= 0,0005. A mistura de cereais, sementes e grãos não potencializou a perda de peso em uma dieta com restrição energética. Não houve modificações quanto à composição corporal, pressão arterial, saúde óssea e padrão de saciedade. O consumo da MC foi eficaz na melhoria do estado nutricional relacionado ao ferro e não prejudicou a absorção de zinco.

Palavras-chaves: "Ração Humana". Excesso de peso. Perda de peso. Composição corporal. Saúde óssea. Ferro. Zinco.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of the consumption of a mixture of cereals, seeds and grains ("Human Ration") in body weight, body composition, bone health, blood pressure, and the control of satiety as well as the nutritional status of iron and zinc minerals in overweight women. The treatment was based on a 15% of energy restriction associated with the consumption of the mixture of cereals, seeds and grains (MC) (test) or consumption of a placebo (control). Each treatment had a five-week period with a washout week between both. There were no differences in the consumption of macronutrients and energy between the treatments. However, the consumption of MC revealed an increase in iron intake (0.24 ± 0.26 vs. 1.67 ± 0.39 mg/day, *P*= 0.0002), phosphorus (-51.22 ± 25.75 vs. 195.01 ± 26.11 mg/day, *P* < 0.0001), zinc (-1.11 ± 0.14 vs. 1.61 ± 0.28 mg/day, *P* <0.0001) and vitamin E (-1.31 ± 0.54 vs. 3.48 ± 0.50 mg/day, *P*= 0.001), in relation to consumption of the placebo, respectively. There were no differences in body weight, body composition, bone health and satiety control between the treatments. There was a positive association between bone mineral density and body mass index (*P*= 0.0127). The body weight loss was significantly higher in the first period of the study for the control group (*P*= 0.0434) and in the second period for the test group (*P*= 0.086). The consumption of MC provided a higher concentration of hemoglobin (*P*= 0.0001) and no damage was observed for zinc absorption. However, there was a negative association between body mass index and erythrocyte zinc (r= -0.5123, *P*= 0.0005). The mixture of cereals, seeds and grains did not potentiate the body weight loss on an energy restriction diet. There were no changes for body composition, blood pressure, bone health and satiety standard. The consumption of MC improved the nutritional status related to iron, and it did not impair zinc absorption.

Key-words: "Human Ration". Overweight. Weight loss. Body composition. Bone health. Iron. Zinc.

7.1 Introdução

O excesso de peso tem sido considerado a mais grave epidemia global, atingindo principalmente os países em desenvolvimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). No Brasil, os dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) estimaram que 48% das mulheres apresentam excesso de peso, contra 50,1% dos homens. Porém, a prevalência de obesidade foi maior para o sexo feminino, 16,9% contra 12,5% para o sexo masculino (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

A obesidade já foi considerada fator protetor contra a perda de massa óssea e densidade mineral óssea (GÓMEZ-AMBROSI *et al.*, 2008). Contudo, estudos recentes apresentam dados controversos, indicando até mesmo que o estado de inflamação causado pela obesidade pode provocar efeitos prejudiciais à saúde óssea, induzindo atividade pró-ressorção (GALLAGHER e SAI, 2010). A redução ponderal tem sido associada à saúde óssea, de modo que uma perda de 10% do peso corporal é capaz de produzir aumento nos marcadores de ressorção óssea (UUSI-RASI. *et al.*, 2009). Essa atividade osteoclástica foi observada em mulheres na pré-menopausa, quando houve perda de peso severa em curto espaço de tempo. Em contrapartida, quando houve redução ponderal gradativa ocorreu menor perda de massa óssea ou esse prejuízos não foram observados (SHAPSES e RIEDT, 2006).

Dentre as estratégias para controle do peso corporal, o adequado padrão alimentar induzindo balanço energético negativo é o fator principal (SEAGLE *et al.*, 2009). A ingestão de alimentos ricos em fibra alimentar faz parte dessa estratégia, e estudos demonstraram que seu consumo está associado à menor ingestão de energia (SLAVIN, 2005), seja pela adoção de um padrão saudável de alimentação, com acréscimo da ingestão de frutas, verduras e leguminosas (HERMSDORFF *et al.*, 2011) ou pela incorporação de suplementos de fibra alimentar ao consumo alimentar (PAPATHANASOPOULOS e CAMILLERI, 2010). A menor ingestão energética baseada no aumento do consumo de fibra se dá pelo efeito que esse nutriente exerce sobre o desejo de interromper uma refeição, e no intervalo de tempo entre as refeições, fenômenos esses denominados saciação e saciedade, respectivamente. Esses são os pontos-chave da via que explica os efeitos fisiológicos da ação da fibra alimentar no peso corporal (PEREIRA e LUDWIG, 2001).

A incorporação de fibra alimentar na dieta habitual pode, entretanto, trazer alterações negativas quanto à absorção de minerais. Os efeitos negativos de tais alimentos não são

devido ao teor de fibra e sim aos demais compostos que são veiculados nos alimentos de origem vegetal como fitato, tanino e oxalato (CALLEGARO *et al.*, 2010). Os fitatos formam complexos insolúveis com minerais divalentes, dentre os quais encontram-se, ferro e zinco, diminuindo sua absorção e consequente biodisponibilidade (SILVA e SILVA, 1999; HUNT e BEISEIGEL, 2009).

A partir dessas evidências, inúmeros produtos ricos em fibra alimentar têm sido comercializados com o intuito de favorecer a perda de peso. Dentre esses produtos encontra-se a "Ração Humana", uma mistura de cereais, sementes e grãos, composta por diversos ingredientes ricos em fibra alimentar como farelo de aveia, gergelim, linhaça, fibra de trigo, dentre outros, que apresentam efeito positivo na saúde humana quando isoladamente. Contudo, o efeito da associação de tais ingredientes ainda não foi estudado.

A partir da escassez de dados na literatura sobre os efeitos da "Ração Humana" na saúde humana, objetivou-se avaliar o efeito do consumo de uma mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") no peso, na composição corporal, na pressão arterial, na saúde óssea, no estado nutricional de ferro e zinco e na regulação da saciedade de mulheres com excesso de peso.

7.2 Material e Métodos

7.2.1 Delineamento Experimental

Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado, com delineamento em *crossover.* O estudo incluiu uma semana de *baseline* seguido por dois períodos, A e B, separados por uma semana de intervalo (*washout)*. Dois grupos de voluntárias foram formados aleatoriamente. Em cada período dois tratamentos foram aplicados, de forma aleatória, às voluntárias: 15% de restrição energética associada ao consumo de *shake* placebo, controle (tratamento RC), seguido de 15% de restrição calórica associada ao consumo de *shake teste* (tratamento MC), intervenção, no desjejum, ou vice-versa. O grupo 1 foi submetido ao tratamento RC no período A enquanto o grupo 2 iniciou o estudo com o tratamento MC. Após uma semana de *washout*, no período B, houve uma inversão na ordem dos tratamentos, conforme Figura 1.

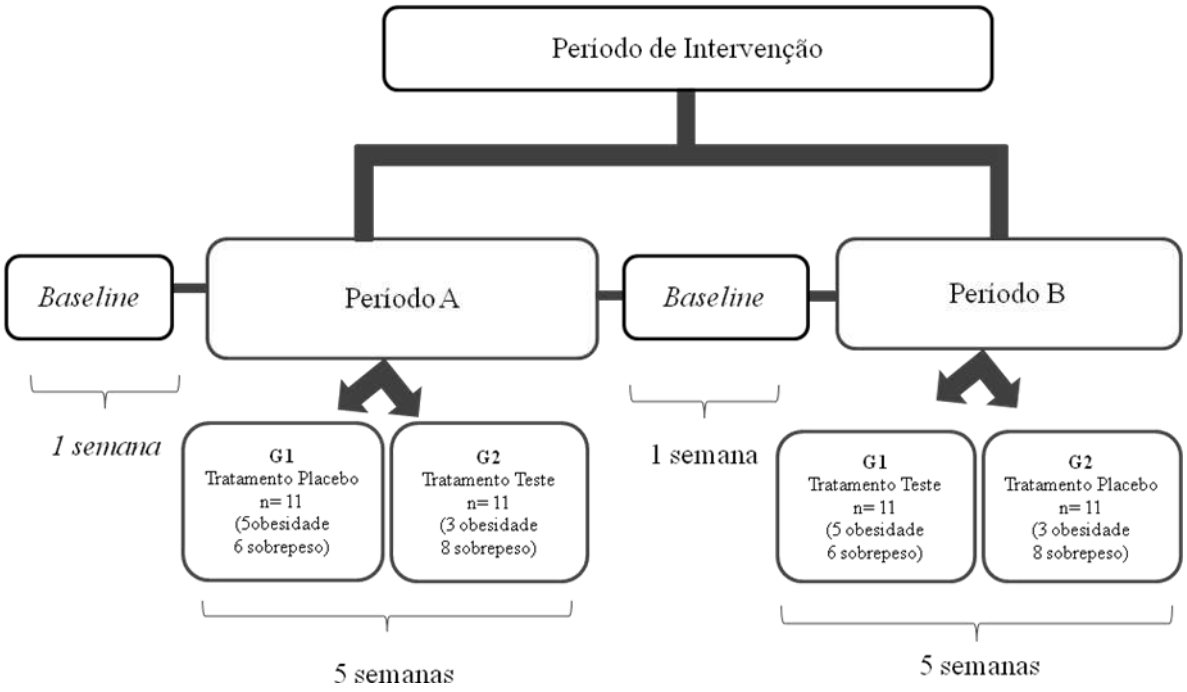


Figura 1- Desenho experimental do estudo. Grupo 1: ordem de tratamento Placebo - Teste; Grupo 2: ordem de tratamento Teste - Placebo.

Durante o período do *baseline* todas as voluntárias submetidas à avaliação antropométrica, da composição corporal, de pressão arterial, do nível de atividade física, ingestão alimentar habitual e dados bioquímicos. Todos esses parâmetros foram reavaliados ao final do período A, final do *washout* e final do período B. Durante os períodos A e B, foram realizadas avaliações antropométricas, do consumo alimentar, da pressão arterial e do nível de atividade física quinzenalmente durante as 5 semanas.

7.2.2 Seleção amostral

Participaram deste estudo mulheres com sobrepeso e obesidade residentes no bairro Silvestre, município de Viçosa, MG, cadastradas na Estratégia de Saúde da Família (ESF) - Silvestre. O cálculo do tamanho amostral foi realizado segundo Mera, Thompson e Prasad (1998), baseando-se em uma alteração do peso corporal de 6,4% e desvio padrão de 4,6 kg de acordo com Allison *et al*. (2003), considerando um poder estatístico de 95%.

Primeiramente foi realizada para pré-seleção, na qual por meio do acesso aos prontuários da ESF, foram selecionadas mulheres que apresentavam dados de peso e altura, de modo que fosse possível realizar o cálculo do IMC, utilizado como critério inicial de seleção, além da idade entre 24 a 45 anos, e informações atualizadas de endereço ou número de telefone de modo a viabilizar o contato. Os demais critérios de inclusão foram: hábito de ingerir leite no desjejum e ausência da intenção em alterar o padrão de atividade física durante o período do estudo. Os critérios de exclusão foram: gestantes, lactantes, mulheres menopausadas ou ovariectomizadas, uso de antiinflamatórios, alergia ou intolerância a qualquer ingrediente da MC, uso de estratégia para redução de peso, uso de medicamento que interfiria com o metabolismo mineral ósseo, presença de doença renal ou doença gastrointestinal, histórico de doença endócrina, fraturas nos últimos seis meses e/ou imobilização por tempo superior a dois meses. Também foram excluídas aquelas que apresentaram oscilações maior que 5% no peso corporal nos últimos dois meses, de acordo com o estudo de Maki *et al.* (2010). Após esclarecimento sobre o protocolo do estudo e destino dos dados obtidos, as participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, permitindo sua participação no estudo, o qual foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, Brasil (Ref. Nº 009/2011).

7.2.3 Mistura de cereais sementes e grãos

A mistura de cereais sementes e grãos (MC) utilizada neste estudo foi baseada na composição da "Ração Humana", respeitando os ingredientes e as devidas proporções utilizadas pelo fabricante. A mistura de cereais, sementes e grãos foi ofertado às voluntárias a partir de um *shake* à base de leite, composto de 20 g de MC, leite em pó, chocolate em pó com 50% de cacau ou achocolatado sabor morango, e goma xantana. Semanalmente as voluntárias recebiam sete embalagens individuais do *shake*, para realizar a reconstituição e o consumo diário em substituição aos alimentos normalmente ingeridos no desjejum. Semanalmente foram fornecidas quatro embalagens do sabor chocolate e três do sabor morango. A quantidade de água utilizada para realizar a diluição (150 mL) foi mensurada em

copo medidor padronizado, fornecido a cada voluntária ao início do estudo. As voluntárias fizeram consumo diário de 150 mL do respectivo *shake*, teste ou placebo.

7.2.4 Análise da composição química da mistura de cereais, sementes e grãos e dos shakes

O de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, umidade, carboidratos, fibra alimentar total e frações foram determinados segundo *Association of Official Analytical Chemists*-AOAC (2002). O conteúdo de minerais foi quantificado por meio de espectrofotometria de absorção em plasma (GOMES JC, 1996). O teor de fitato foi determinado segundo método proposto por Latta e Eskin (1980).

7.2.5 Avaliação do consumo alimentar

A ingestão habitual de alimentos das voluntárias foi avaliada antes do início do estudo (*baseline*) por meio da aplicação de um questionário de frequência alimentar qualitativo e quantitativo, desenvolvido por Furlan-Viebig e Pastor-Valero (2004), para o estudo da relação entre dieta e doenças crônicas não transmissíveis. Dessa forma foi possível obter informações sobre a qualidade e quantidade dos alimentos que faziam parte da dieta habitual das voluntárias. O consumo de macronutrientes, fibras e minerais foi avaliado utilizando o *software* DietPro versão 5i. Foi feito o cálculo da Necessidade Estimada de Energia (EER) utilizando a fórmula para mulheres com sobre peso e obesidade. A partir de então, foi realizada restrição energética de 15%, aplicada em um plano alimentar desenvolvido para cada uma das voluntárias, respeitando os hábitos e restrições alimentares.

O consumo alimentar durante o estudo foi analisado a partir de registro alimentar de três dias realizados em dias alternados, sendo um dia durante o final de semana e dois dias durante a semana. As voluntárias foram orientadas sobre como preencher corretamente o registro, e treinadas quanto à retratação de medidas caseiras. Os registros foram previamente analisados juntamente à voluntária e qualquer dúvida quanto ao tipo de alimento ou medida

caseira utilizada foram esclarecidas. Em seguida, os dados foram compilados no *software* DietPro® versão 5i.

7.2.5.1 Índice de Qualidade da Dieta

O índice de qualidade de dieta foi calculado a partir do método proposto por Previdelli *et al*. (2011) para avaliação qualitativa da ingestão alimentar das voluntárias. Para a avaliação do IQD-R foi utilizado o registro alimentar do primeiro dia do registro de 72 horas. O cálculo do IQD-R foi realizado utilizando-se o *software* Stata, versão 10.0, a partir da programação gentilmente disponibilizada pelos autores. Após o cálculo, as dietas ingeridas foram classificados de acordo com Godoy *et al*. (2006) baseado no trabalho de Bowman *et al*. (1998), em que o escore total obtido foi dividido em três categorias: abaixo de 51 pontos – "dieta inadequada"; entre 51 e 80 pontos – dieta que "necessita de modificações"; e superior a 80 pontos – dieta "saudável".

7.2.6 Avaliação do perfil de atividade física

O nível habitual de atividade física foi avaliado por meio da aplicação do Questionário Internacional de Nível de Atividade Física (IPAQ) curto, versão 6, proposto pela OMS (1998), validado em português por Renato Pardini *et al*. (2001).

7.2.7 Avaliação antropométrica e de pressão arterial

O peso corporal foi aferido em balança digital, com capacidade para 150 kg e precisão de 50 g. As voluntárias se apresentaram descalças e fazendo uso de roupas leves. A estatura foi avaliada utilizando antropômetro vertical de plataforma, com escala de 0,1 cm e extensão de 2 metros. Os dados de peso e altura foram obtidos segundo as recomendações da OMS

(DE ONIS e HABICHT, 1996). O IMC foi calculado dividindo o peso (kg) pela altura (m) ao quadrado, sendo classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela OMS (WHO, 2000).

O perímetro da cintura foi aferido na cicatriz umbilical, com a voluntária de pé, durante a expiração normal, utilizando-se fita métrica inelástica. Para a classificação foram utilizados os pontes de corte da OMS (1998) que categoriza a obesidade abdominal em mulheres de acordo com os níveis I (CCnI) com valores de 80 a 88 cm e II (CCnII) com valores > 88 cm. Valores inferiores a 80 cm foram considerados como adiposidade abdominal adequada (ALBERTI *et al.*, 2009).

A pressão arterial foi aferida com o indivíduo sentado, após repouso de no mínimo cinco minutos. As participantes foram orientadas a não ingerir bebidas contendo cafeína nos 30 minutos que antecediam a avaliação. A pressão arterial foi aferida em aparelho de pressão digital automático (G. Tech, Linha Master) reconhecido pela Sociedade Brasileira de Hipertensão. Foram realizadas três medidas e utilizada a média entre os valores. Quando encontrados valores maiores que 4 mmHg foram realizadas novas medidas até que fosse obtidas medidas com diferenças inferiores (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2010).

7.2.8 Composição corporal e densitometria óssea

A avaliação da composição corporal e densitometria óssea foram realizadas por meio do método de absormetria radiológica de dupla energia (DEXA) (GE HealthCare, Lunar Prodigy Advance) e *software* especializado (enCore, versão 13.31), permitindo a reconstrução da imagem e dos tecidos subjacentes.

O exame foi realizado com a voluntária deitada em decúbito dorsal sobre uma mesa onde a fonte e o detector foram passados ao longo do corpo. Para a realização da avaliação, foi requerido que a voluntária se apresentasse descalça, utilizando apenas um avental, sem qualquer material metálico, apresentando-se ainda em jejum e com a bexiga esvaziada. O ciclo menstrual das voluntárias foi respeitado, de modo a evitar avaliações nesse período.

Para a densitometria óssea foi calculado o Z escore em relação a indivíduos da mesma idade, sexo, peso e etnia. Foram considerados valores normais aqueles que se encontravam

entre os limites: 2 DP < e > - 2DP de acordo com o Consenso Brasileiro de Osteoporose (PINTO NETO *et al.*, 2002). Quanto à composição corporal foi considerado risco quando a proporção de gordura corporal foi maior que 32% de acordo com Lohman (1992).

7.2.9 Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Dentre os exames bioquímicos foram analisados: o marcador de formação óssea, fosfatase alcalina específica óssea (FAEO), o marcador de ressorção óssea, interligadores C-terminais do colágeno tipo I (CTx), paratormônio sérico (PTH), cálcio sérico (Ca s), cálcio iônico (Ca i), fósforo sérico (P s), hemoglobina (Hb), hemácias (Hm), hematócrito (Ht), ferritina, zinco eritrocitário (Zn e) e zinco plasmático (Zn p).

As voluntárias compareceram ao laboratório em jejum de doze horas e foram submetidas à coleta sanguínea a vácuo (15 mL), fracionados em tubos soro gel para separação e coleta do soro, e tubos contendo EDTA ou heparina como anticoagulante para separação e coleta do plasma, de acordo com a necessidade do parâmetro bioquímico a ser analisado. Após a coleta do material, com exceção do tubo de heparina destinado à análise do hemograma, os demais foram centrifugados (3500 rpm, 20 minutos, 5 ºC). O material para dosagem de CTx, FAEO, PTH e ferritina foram destinados à análise em laboratório terceirizado. O material biológico para avaliação dos demais parâmetros foram armazenados em ultra-freezer a temperatura de -80 ºC, até o momento das análises.

O marcador FAEO foi mensurado no soro por meio de método de quimioluminescência (Liaison, Diasorin®). Para o marcador CTx, o método empregado foi eletroquimioluminométrico (Modular, Roche Diagnostics. Paratormônio foi dosado por meio do método eletroquimioluminescência (Modular, Roche Diagnostics®). Quanto aos parâmetros cálcio sérico, cálcio iônico e fósforo sérico, estes foram mensurados por meio dos métodos colorimétrico de ponto final para cálcio e UV de ponto final para fósforo. Todos os parâmetros foram dosados por meio de kits comerciais (Bioclin®) no analisador automático para química clínica BS 200 (Mindray®), calibrado com reagente para testes analíticos em metodologias automatizadas e padrões de nível normal e patológico. O hemograma completo foi analisado por meio do método de impedância elétrica (Couter T890, Beckman Couter®) e ferritina pelo método de quimioluminescência (Centaur, Siemens®). Quanto aos parâmetros

zinco eritrocitário e plasmático, estes foram analisados por meio de espectrometria de absorção atômica (GBC 908 AA spectrophotometer) (WHITEHOUSE *et al.*, 1982).

7.2.10 Escala de Analogia Visual

A Escala de Analogia Visual (VAS) foi utilizada para mensurar as sensações de fome, saciedade (RABEN, TAGLIABUE e ASTRUP, 1995).

7.2.11 Análises Estatísticas

Todas as variáveis contínuas foram analisadas quanto à normalidade por meio do teste de Skewness/Kurtosis. Para aquelas variáveis com distribuição normal, foram expressas em média ± desvio padrão. As variáveis que não apresentaram distribuição normal foram expressas como mediana e intervalo interquartil (P25% e P75%). Estatística descritiva foi utilizada para descrição das características demográficas da população estudada. A comparação da composição química dos produtos utilizados no estudo foi feita utilizando o teste de Tukey, exceto para a variável fibra alimentar e suas frações, as quais não foram possíveis realizar repetição do método. Para analisar as diferenças entre as médias dos tratamentos e as médias das mudanças nas variáveis do estudo foi utilizado o teste *t* de Student para variáveis paramétricas ou seu correspondente, *Mann Whitney* para dados não paramétricos conforme recomendado por Mills *et al*. (2009).

A correlação de Pearson foi utilizada para analisar a associação das mudanças dos parâmetros antropométricos e bioquímicos ou dietéticos, quando dados apresentaram distribuição normal. Quanto aos dados não paramétricos, foi utilizada a correlação de Spearman. Para análise dos dados referentes às sensações relacionadas à saciedade, foi calculada a área abaixo da curva (AUC) por meio do método trapezoidal para avaliar as sensações de “fome”, “saciedade” e desejo de “comer mais” em relação ao *baseline*, onde a aplicação do método foi realizada da mesma forma, porém sem ingestão do *shake*. Os dados foram testados quanto à normalidade sendo aplicado o teste de análise de variância de

medidas repetidas (ANOVA – RM) onde foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, tempos e interação entre tratamento x tempo.

Os dados foram analisados utilizando o *software* Stata versão 10.0. Para as análises foi adotado nível de significância de 95% (P<0,05).

7.3 Resultados

7.3.1 Voluntárias

Dentre as 76 voluntárias que apresentavam os dois critérios iniciais de seleção (IMC entre 25 e 35 kg/m^2 e faixa etária de 24 a 45 anos), 32 atenderam aos demais critérios de inclusão. Apenas 27 iniciaram o estudo, devido ao não comparecimento às consultas iniciais (*baseline*) ou à recusa em participar da pesquisa. Dessas participantes, 24 finalizaram todas as etapas do estudo, já que as demais não compareceram para a realização dos exames bioquímicos ou por desistência. Dentre as voluntárias que finalizaram o estudo, foram incluídos os dados de 22, devido a dados incompletos. O perfil de triagem do estudo está apresentado na Figura 2.

Em relação ao perfil sócio-demográfico da amostra, trata-se de mulheres com idade média de 34,5 anos, casadas (90,1%), com escolaridade média de 8,4 anos. A renda familiar média varia entre um e três salários mínimos (86,3%), sendo a família composta em média por 3,2 membros e apresentam entre um e dois filhos (63,6%).

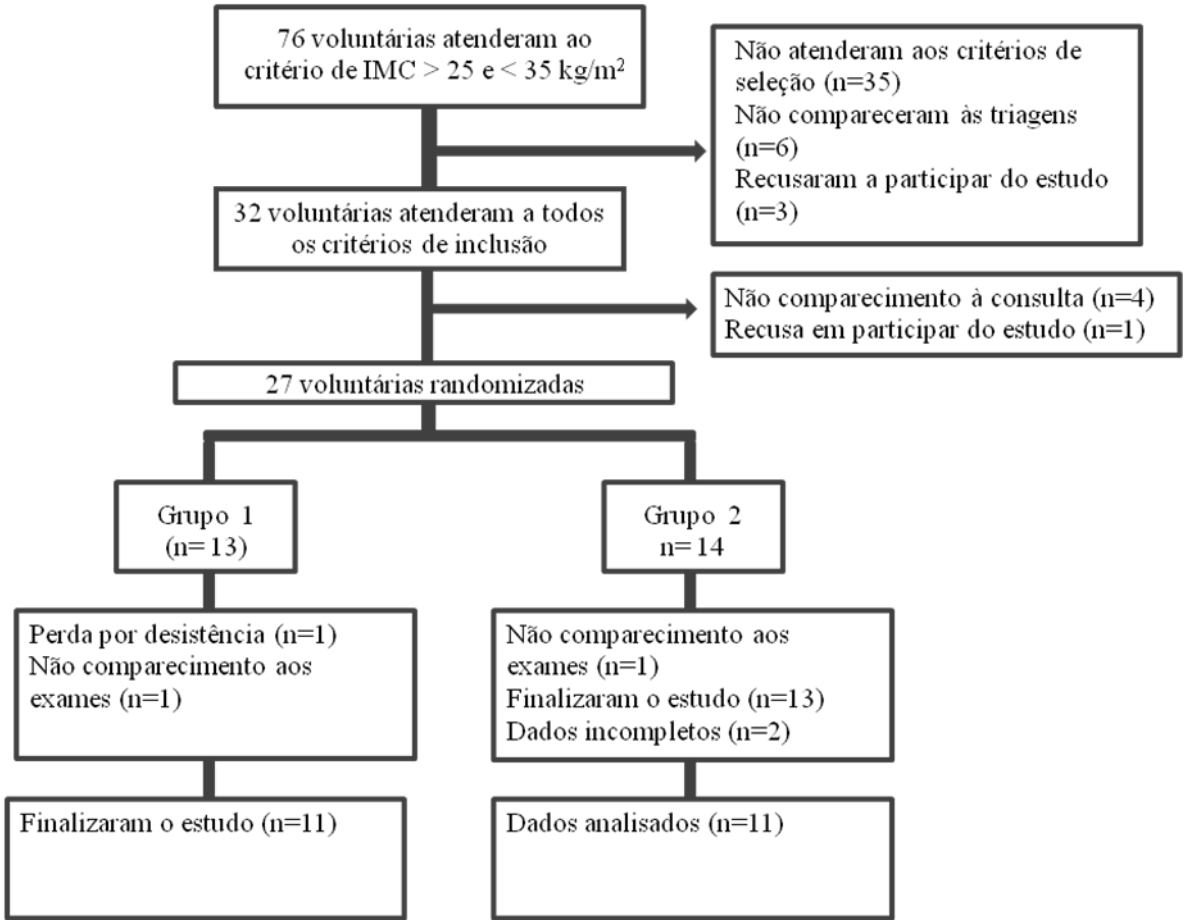


Figura 2 - Perfil de triagem do estudo.

7.3.2 Composição da mistura de cereais, sementes e grãos

A composição da mistura de cereais, sementes e grãos encontra-se na Tabela 1. A MC apresentou alta densidade energética de 3,58 kcal·g^{-1} (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2005), contribuindo com 71,6 kcal a cada porção de 20 g utilizada para preparo dos *shakes* ingeridos pelas voluntárias. Trata-se de um produto rico em carboidrato, proteína e fibra alimentar, principalmente a fração solúvel. Este componente contribui para o teor de fibra alimentar dos *shakes* teste e placebo sabores chocolate e morango, sendo que para o sabor chocolate, o valor de fibra alimentar total foi maior devido à veiculação desse componente pelo chocolate em pó.

Os *shakes* placebo e teste apresentaram teor de proteína similar (P=0,4824). Os *shakes* teste apresentaram conteúdo de lipídio maior (P=0,0001) que os *shakes* placebo.

Contudo, os *shakes* controle (morango e chocolate) apresentaram teor semelhantes assim como os *shakes* intervenção (morango e chocolate). O conteúdo de carboidratos não diferiu entre as bebidas do tratamento intervenção, porém quando analisadas aquelas referentes ao controle, foi observado maior teor no *shake* controle morango (P<0,0001). Essa diferença pode ser atribuída ao ingrediente utilizado para conferir sabor à bebida, que apresenta em sua composição elevado teor de açúcar.

Quanto aos minerais, verificou-se conteúdo de ferro maior nos *shakes* testes, em comparação às bebidas controle. Em cada porção de MC consumida por dia (20 g) foi ofertado 1,26 mg de ferro. O consumo de uma porção diária de MC foi capaz de atender 15,5% da necessidade diária do mineral. Quanto ao elevado teor de cálcio presente nas bebidas, deve-se principalmente à presença de leite desnatado em pó. Cada porção de *shake* consumido diariamente pelas voluntárias durante o estudo, forneceu em média 291,8 mg de cálcio, e foi capaz de atingir 30% das necessidades diárias de cálcio para a faixa etária, sendo classificado como alimento rico em cálcio (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1998).

A contribuição média do consumo dos *shakes* na oferta de zinco foi importante uma vez que veicularam em média 1,45 mg de zinco por porção, teor que representa 21,4% das necessidades diárias. As bebidas demonstraram ser ainda ricas em fósforo, mineral encontrado em abundância em alimentos integrais, presentes na MC (647,43 $mg.100^{-1}$) e no leite (1673 $mg.100^{-1}$), que contribuíram para o elevado teor do mineral nas bebidas utilizadas no estudo (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTOS, 2006). Alguns ingredientes da MC ricos em lipídios como gergelim e linhaça foram de grande importância para o elevado teor de vitamina E nos *shakes* teste. A porção de MC consumido contribuiu com 33% das necessidades diárias desse nutriente, classificado como alimento rico em vitamina E.

A partir dos dados da composição química de minerais e fitato da MC foi possível calcular as razões molares referentes ao fitato e sua relação com os minerais ferro, cálcio e zinco. A razão molar fitato: ferro (fitato:Fe) encontrada foi de 8,28 ± 0,76 mMol, $4,01x10^{-4}$ ± 0,47 mMol para fitatoX cálcio: zinco (fitatoXCa:Zn) e 10,83 ± 0,89 mMol para fitato:zinco (fitato:Zn).

Tabela 1 - Composição química em base seca dos *shakes* utilizados no estudo

Componente (Média±DP)	***Shake* placebo morango**	***Shake* Placebo Chocolate**	***Shake* Teste Morango**	***Shake* Teste Chocolate**
g/100g				
Umidade	4,72 ± 0,27^{A}	4,71 ± 0,27^{A}	6,67 ± 0,49^{A}	6,4 ± 0,51^{A}
Cinza	5,31 ± 0,15^{A}	5,49 ± 0,05^{B}	4,11 ± 0,05^{B}	4,23 ± 0,03^{B}
Proteína	19,66 ± 0,55^{A}	21,82 ± 0,43^{A}	19,89 ± 0,00^{A}	20,62 ± 0,84^{A}
Lipídio	4,83 ± 0,43^{B}	6,24 ± 0,44^{B}	13,24 ± 1,38^{A}	11,42 ± 0,22^{A}
Fibra Total*	2,69 ± 0,22	5,91 ± 0,22	10,54 ± 1,13	15,12 ± 0,00
Fibra Solúvel*	0,05 ± 0,00	2,64 ± 0,22	2,27 ± 0,00	3,58 ± 0,00
Fibra insolúvel*	2,64 ± 0,22	3,27 ± 0,00	8,27 ± 1,13	11,54 ± 0,00
Carboidrato	65,1 ± 1,11^{A}	55,8 ± 1,11^{B}	45,21 ± 1,12^{C}	42,19 ± 0,85^{C}
Energia (kcal)	379,41 ± 1,67^{AB}	366,76 ± 1,23^{B}	382,64 ± 11,61^{A}	354,13 ± 2,31^{C}
mg/100g				
Ferro	2,84 ± 0,37^{B}	3,10 ± 0,42^{B}	4,23 ± 0,07^{A}	3,78 ± 0,19^{A}
Zinco	2,24 ± 0,21^{D}	2,83 ± 0,09^{C}	3,49 ± 0,04^{B}	4,38 ± 0,17^{A}
Cálcio	899,0 ± 61,0^{A}	576,3 ± 8,83^{B}	619,9 ± 17,6^{B}	498,8 ± 1,28^{C}
Sódio	6,35 ± 0,15^{A}	4,57 ± 0,08^{B}	3,95 ± 0,08^{C}	3,95 ± 0,08^{C}
Manganês	0,00 ± 0,00^{B}	0,00 ± 0,00^{B}	2,82 ± 0,01^{A}	3,08 ± 0,23^{A}
Magnésio	93,3 ± 7,3^{C}	143,3 ± 3,98^{B}	155,2 ± 2,61^{B}	181,3 ± 6,35^{A}
Potássio	10,47 ± 1,98^{B}	11,07 ± 0,79^{B}	17,06 ± 1,13^{A}	14,85 ± 1,77B^{B}
Fósforo	681,58 ± 65,84 ^{A}	661,10 ± 23,51^{A}	670,38 ± 21,54^{A}	721,77 ± 25,81^{A}
Cobre	0,00 ± 0,00^{C}	0,62 ± 0,01^{A}	0,4 ± 0,02^{B}	0,68 ± 0,007^{A}
Vitamina E	ND	ND	3,96	3,96
Fitato	ND	ND	0,123	0,123

Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

ND: não determinado.

* Realizada apenas uma repetição. Análise estatística não realizada.

7.3.3 Consumo alimentar

Não houve alterações na ingestão energética das voluntárias, sendo no *baseline* de 1.290,5 ± 319,12 kcal/dia e ao final (*endpoint*), a mediana da ingestão foi de 1.316,24 ± 326,92 kcal/dia. A distribuição dos macronutrientes também foi similar para ambos os tratamentos, não sendo encontradas diferenças no *baseline* e *endpoint* de cada período de intervenção (Tabela 2). Por intermédio da correlação de Pearson foi possível observar que a

ingestão de fibra alimentar correlacionou-se positivamente com a ingestão energética (r=0,3956, *p*=0,0127).

Em relação ao consumo de micronutrientes, houve aumento significativo para o grupo teste (*baseline* vs. *endpoint*) para ferro (0,24 ± 0,26 vs. 1,67 ± 0,39 mg/dia, *P*=0,0002), fósforo (-51,22 ± 25,75 vs. 195,01 ± 26,11 mg/dia, *P*<0,0001), zinco (-1,11 ± 0,14 vs. 1,61 ± 0,28 mg/dia, *P*<0,0001) e vitamina E (-1,31 ± 0,54 vs. 3,48 ± 0,50 mg/dia, *P*=0,001). Entretanto, não houve diferença para o consumo de cálcio (54,97 ± 32,97 vs. 35,52 ± 36,13 mg/dia, *P*=0,5661).

Tabela 2 - Distribuição do consumo de macronutrientes durante o estudo

Componentes	***Baseline***			***Endpoint***		
	Grupo Placebo (Média ± DP)	**Grupo Teste (Média ± DP)**	***P****	**Grupo Placebo (Média ± DP)**	**Grupo Teste (Média ± DP)**	***P****
Carboidrato (%)	57,74 ± 4,15	56,19 ± 2,61	0,831	55,27 ± 2,71	55,16 ± 3,13	0,979
Proteína (%)	16,57 ± 0,78	16,99 ± 0,42	0,641	18,13 ± 0,88	18,24 ± 0,77	0,929
Lipídio (%)	29,45 ± 1,12	27,45 ± 1,21	0,233	27,39 ± 1,12	29,43 ± 0,94	0,176
Fibra alimentar total (g/dia)	13,77 ± 1,41	16,09 ± 1,14	0,211	18,62 ± 1,43	18,43 ± 1,69	0,757

* Teste t pareado (*P* <0,05)

7.3.3.1 Índice de Qualidade da Dieta

Não houve diferença (*P*>0,05) quanto à pontuação do IQD – R nos dois tratamentos. Contudo, comparando o *baseline* e o *endpoint* do tratamento teste, foi possível perceber que houve redução da pontuação para gordura saturada, 5,05 ± 0,76 vs. 4,57 ± 0,51 pontos, *P*= 0,0001. Resultado contrário foi encontrado para Gord_AA, uma vez que foi observado aumento da pontuação ao final do tratamento intervenção, 5,54 ± 1,69 vs. 13,89 ± 1,82 pontos, *P*= 0,0056.

7.3.5 Atividade física, antropometria e composição corporal

O padrão de atividade física das voluntárias não foi alterado durante o estudo. Também não houve diferenças significativas quanto às variáveis antropométricas entre os dois tratamentos (Tabela 3). Entretanto, houve tendência à significância para a redução do perímetro da cintura, com maior prevalência no tratamento teste quando comparado ao controle, -2,54 ± 0,58 vs. -1,12 ± 0,58 cm, *P*=0,059. Quando analisados as respostas dos períodos A e B ao tratamento, houve maior redução ponderal (*P*=0,0434) no período A, -1,27 ± 0,41 vs. -0,20 ± 0,28 kg para o grupo controle, enquanto o grupo intervenção apresentou maior perda de peso *(P*=0,0086) no período B, 0,08 ± 0,29 vs. -1,38 ± 0,36 kg. Não houve diferenças em relação à pressão arterial. Contudo, os valores pressóricos apresentavam-se dentro dos parâmetros considerados normais. Não houve diferenças significativas quanto à composição corporal.

7.3.6 Saúde óssea

Em relação às variáveis que se relacionam aos parâmetros de saúde óssea (Tabela 3), não foi possível observar diferenças entre os dois tratamentos. Houve apenas redução da massa óssea para o grupo intervenção, próximo do valor de significância estatística (*P*=0,066), contudo sem nenhuma sinalização de marcadores bioquímicos de *turnover* ósseo.

Dentre as variáveis antropométricas e de parâmetros relacionados à saúde óssea, a densidade mineral óssea e o IMC apresentaram associação positiva (r=0,3956, *P*=0,0127).

7.3.7 Estado nutricional referente aos minerais ferro e zinco

Em relação ao estado nutricional do ferro, houve aumento significativo da concentração de hemoglobina no tratamento teste em comparação ao controle (Tabela 3). Os valores de hemácias e hematócrito, consequentemente, acompanharam o comportamento da

hemoglobina, -0,29 ± 0,48 vs. 0,13 ± 0,51 milhões/mm^3, *P*=0,0277 e -0,18 ± 0,56 vs. 1.340,44 %, *P*=0,0378, respectivamente. Em relação ao estado nutricional de zinco, não foi possível observar nenhuma alteração significativa quanto aos parâmetros avaliados.

Os parâmetros de zinco eritrocitário e plasmático associaram-se à variável antropométrica IMC, independente do tratamento ou período do estudo, sendo observada associação negativa entre zinco eritrocitário e IMC r = -0,5123 *P* =0,0005.

Tabela 3 - Mudança nas variáveis antropométricas, metabólicas e bioquímicas após cinco semanas de tratamento

IMC: Índice de Massa Corpoal; PC:Perímetro da cintura; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica; MG: Massa gordurosa; MM: Massa magra; MO: Massa óssea; DMO: Densidade Mineral Óssea; CTx:

Variávies	**Grupo controle**				**Grupo intervenção**				***p*** **(1)**	***p*** **(2)**	***p*** **(3)**
	Baseline		***Endpoin***		***Baseline***		***Endpoint***				
	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média±DP	Mediana (P25; P75)	Média±DP	Mediana (P25; P75)			
Peso (kg)	72,8 ± 2,0	73,4 (64,1;80,3)	72,1 ± 2,1	71,2 (63,3;81,6)	72,8 ± 2,0	72,4 (64,4;81,2)	72,1 ± 2,1	72,0 (63,5;80,9)	0,962	0,916	0,924
IMC (Kg/m^2)	28,8 ± 0,6	28,1 (26,3;31,2)	28,4 ± 0,6	27,8 (26,0;31,1)	28,8 ± 0,6	28,6 (25,9-31,2)	28,5 ± 0,6	28,3 (25,8;30,87)	0,860	0,916	0,759
PC (cm)	96,0 ± 1,6	95,3 (90;102,4)	94,9 ± 1,7	94,6 (88,5;106,1)	97,1 ± 1,6	96 (91,4;103,5)	94,6 ± 1,6	94,5 (89;102,2)	0,631	0,894	0,059
PAS (mmHg)	120,2 ± 4,5	118,5 (110;120)	126,4 ± 4,5	124 (115;132)	126,9 ± 5,3	126 (111;134)	124,5 ± 5,5	119,5 (108;136)	0,162	0,518	0,121
PAD (mmHg)	78,5 ± 2,8	80 (73;80)	75,1 ± 4,1	73,5 (68;84)	73,7 ± 2,3	73 (67;80)	74,5 ± 2,5	71 (66;79)	0,142	0,621	0,283
MG (%)	39,9 ± 0,9	39,9 (37,7;44,2)	39,8 ± 0,9	40,2 (38;43,4)	40,5 ± 0,9	40,4 (37,1;44,2)	39,8 ± 0,9	39,7 (37,7;43,6)	0,672	0,989	0,196
MM (%)	56,6 ± 0,8	56,5 (52,8;59,4)	56,59 ± 0,9	56,1 (53,3;58,4)	56,0 ± 0,9	56,1 (52,7;59,5)	56,6 ± 0,9	56,7 (53,3;59,2)	0,634	0,992	0,171
MO (Kg)	2,5 ± 0,7	2,4 (2,2;2,6)	2,6 ± 0,1	2,5 (2,2;2,7)	2,5 ± 0,1	2,5 (2,3;2,7)	2,5 ± 0,06	2,5 (2,2;2,8)	0,710	0,807	0,066
DMO (g/cm^2)	1,2 ± 0,1	1,2 (1,1;1,2)	1,2 ± 0,01	1,2 (1,14;1,23)	1,2 ± 0,02	1,2 (1,5;1,2)	1,2 ± 0,01	1,2 (1,1;1,2)	0,854	0,893	0,256
CTx (ng/mL)	0,2 ± 0,02	0,2 (0,1;0,3)	0,2 ± 0,02	0,2 (0,16;0,27)	0,2 ± 0,03	0,2 (0,2;0,3)	0,3 ± 0,03	0,2 (0,2;0,3)	0,391	0,535	0,543
FAEO (µg/l)	10,4 ± 1,2	9,3 (5,8;14,4)	9,9 ± 0,8	10 (7,1;12,8)	12,2 ± 0,9	11,6 (9;15,9)	10,7 ± 0,9	10,4 (8,3;14,3)	0,249	0,534	0,397
PTH (pg/mL)	39,7 ± 2,9	37,6 (28,1;59,0)	41,6 ± 3,4	37,7 (31,4;52,7)	37,7 ± 2,1	37,3 (34,2;40,8)	45,3 ± 3,7	42 (35,3;49,3)	0,585	0,405	0,121
Ca s (mg/dl)	8,7 ± 0,1	8,7 (8,5;8,9)	8,8 ± 0,1	8,7 (8,5;9,0)	8,9 ± 0,13	8,7 (8,6;9,1)	8,9 ± 0,3	8,8 (8,5;9,7)	0,171	0,388	0,808
Ca i (mg/dl)	5,1 ± 0,04	5,1 (4,9;5,2)	5,1 ± 0,04	5,1 (4,9;5,2)	5,2 ± 0,08	5,0 (4,8;5,3)	5,1 ± 0,14	5,1 (4,9;5,5)	0,285	0,679	0,576
P s (mg/dl)	3.3 ± 0,1	3,3 (2,9;3,6)	3,8 ± 0,1	3,3 (3,1;3,6)	3,2 ± 0,09	3,0 (2,8;3,4)	3,5 ± 0,14	3,6 (2,9;3,80)	0,481	0,411	0,164
Zn e (µgZn/g Hb)	35,03 ± 1,4	35,6 (31,2; 38,3)	31,57 ± 2,04	27,2 (24,2; 39,0)	30,72 ± 2,02	28,3 (25,5; 33,5)	30,37 ±1,21	29,9 (26,7; 34,1)	0,088	0,618	0,336
Zn p (µg/mL)	71,84 ± 6,5	61,7 (55,0; 94,5)	63,63 ± 1,27	64,0 (59,0; 66,7)	69,63 ± 4,39	62,3 (60,0; 75,0)	62,27 ± 1,52	63,3 (56,0; 67,65)	0,484	0,531	0,859
Hb (g/dL)	12,91 ± 0,4	13,3 (12,9; 14,0)	12,93 ± 0,21	13,1 (12,6; 13,6)	12,71 ± 0,33	12,9 (12,4; 13,5)	13,26 ± 0,31	13,7 (12,7; 14,1)	0,246	0,069	0,0001
Ferritina (ng/mL)	72,51 ± 48,6	51,2 (33; 92,3)	71,26 ± 55,2	44,3 (30; 109,55)	69,83 ± 57,3	50 (28,5; 93,5)	68,75 ± 54,2	56,2 (33,5; 78,6)	0,860	0,884	0,2153

Interligadores C-terminais do Colágeno tipo I; FAEO: Fosfatase Alcalina específica Óssea; PTH: Paratormônio; Ca s: Cálcio sérico; Ca i: Cálcio iônico; P s: Fósforo sérico; Zn e: Zinco eritrocitário; Zn p: Zinco plasmático; Hb: Hemoglobina.. (1) valor de *p* entre os *baselines*, (2) valor de *p* entre os *endpoints*, (3) valor de *p* entre as diferenças. *P*<0,05 pelo teste t ou Mann Whitney**.**

7.3.8 Escala de Analogia Visual

Quanto às sensações de saciedade, desejo de comer mais e fome, não houve diferenças entre os grupos intervenção e controle, assim como entre os tempos nos quais foram aplicados o teste e interação entre os tratamentos aplicados e os tempos, conforme dados apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

Tabela 4 - Análise de variância considerando medidas repetidas para o incremento da AUC para a variável "Saciedade" em função dos tratamentos e dos tempos de avaliação

Efeitos	Gl	QM	Pr>F ***
Tratamento (TR)	1	11718070	0,3119
Erro a	46	11207168	
Tempo (T)	2	89609	0,8651
G x T	2	1719561	0,0670
Erro b	92	617491	

***Não houve diferença estatística entre os tratamentos, os tempos, bem como não houve interação entre estas duas variáveis.

Tabela 5 - Análise de variância considerando medidas repetidas para o incremento da AUC para a variável "Comer Mais" em função dos tratamentos e dos tempos de avaliação

Efeitos	Gl	QM	Pr>F ***
Tratamento (TR)	1	1819127	0,5984
Erro a	46	6465439	
Tempo (T)	2	507858	0,8129
G x T	2	1856436	0,4710
Erro b	92	2445445	

***Não houve diferença estatística entre os tratamentos, os tempos, bem como não houve interação entre estas duas variáveis.

Tabela 6 - Análise de variância considerando medidas repetidas para o incremento da AUC para a variável "Sensação de Fome" em função dos tratamentos e dos tempos de avaliação

Efeitos	Gl	QM	Pr>F ***
Tratamento (TR)	1	2829685	0,5537
Erro a	46	7951194	
Tempo (T)	2	3291224	0,3320
G x T	2	384416	0,8780
Erro b	92	2949350	

***Não houve diferença estatística entre os tratamentos, os tempos, bem como não houve interação entre estas duas variáveis.

7.4 Discussão

Os *shakes* apresentaram boa qualidade quanto à composição química, principalmente em relação ao conteúdo de minerais e vitamina E. É consenso na literatura científica que o consumo de nutrientes com atividade antioxidante está envolvido na redução de risco de ocorrência de doenças graves como o câncer (LIPPMAN *et al.*, 2009). O zinco ainda está envolvido na estabilização de membranas estruturais e proteção celular, prevenindo a peroxidação lipídica, uma vez que protege os grupos sulfidrilas contra oxidação e participa da estrutura da superóxido dismutase, sendo a atividade desta enzima diminuída pela deficiência deste mineral (FAIRWEATHER-TAIT, 1988). Além disso, é importante ressaltar que o maior consumo de ferro observado no período de intervenção é um resultado interessante, devido ao período fisiológico (idade reprodutiva) em que se encontra a amostra avaliada, e aos riscos de deficiência de ferro devidos às perdas menstruais relacionados a esta faixa etária (GROTTO, 2010). Esses resultados mostram que o aconselhamento nutricional juntamente com a incorporação de um alimento a base de cereais, sementes e grãos integrais, alterou o padrão alimentar no que se diz respeito à qualidade da dieta, aumentando o consumo de micronutrientes com atividade antioxidante, importantes na redução de risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis.

Ao avaliar qualitativamente o consumo alimentar por meio do IQD – R, não houve diferença quanto à pontuação do índice em ambos os tratamentos. Contudo durante o tratamento intervenção houve menor consumo de gordura saturada, entretanto maior consumo de GORD_AA (calorias provenientes de gordura sólida, gordura *trans* e bebidas alcoólicas).

O aumento de GORD_AA não era esperado, indicando que a dieta prescrita não foi totalmente seguida pelas voluntárias. O resultado encontrado nesse trabalho é justificado pela limitação que permeia os estudos de consumo alimentar, onde apenas um dia de ingestão é avaliado (FISBERG, MARCHIONI e COLUCCI, 2009; PREVIDELLI *et al.*, 2011). O elevado consumo de determinados grupos alimentares no dia da avaliação do consumo não é capaz de determinar a qualidade habitual da dieta, e sim daquele momento específico. São necessários, no mínimo três dias de registro alimentar, para que seja possível iniciar uma avaliação da qualidade habitual da dieta e que se obtenha dados mais fidedignos (THOMPSON e BYERS, 1994).

O consumo de um mistura de cereais, sementes e grãos não potencializou a redução ponderal, uma vez que não houve perda de peso estatisticamente diferente do grupo controle, durante o período de estudo. Entretanto, a redução do perímetro da cintura apresentou tendência à significância quando voluntárias submetidas ao tratamento teste, resultado de grande importância fisiológica e que sugere mudança no padrão de distribuição de gordura, mesmo que ainda não acompanhada de redução ponderal significativa. O perímetro da cintura é uma medida que reflete a obesidade visceral e está associada a uma série de anormalidades metabólicas que incluem resistência à insulina, alteração do perfil lipídico, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

A redução dessa medida antropométrica pode ser estimulada pela ingestão de alimentos ricos em fibra alimentar e o mecanismo mais aceito para tal fato decorre da ação de fatores hormonais, colônicos e relacionados às propriedades intrínsecas da fibra alimentar. Tais fatores convergem para uma via única, que aumentam a sensação de saciação e saciedade, diminuindo a ingestão alimentar, aumentando a lipólise e reduzindo o depósito de lipídios, o que contribui para o controle ponderal (PEREIRA e LUDWIG, 2001) e até mesmo para a modulação da distribuição de gordura corporal (ROMAGUERA *et al.*, 2009; DU *et al.*, 2010; ROMAGUERA *et al.*, 2010).

Quando analisados os resultados por período de intervenção houve maior perda ponderal no período A para o grupo controle, e para o grupo intervenção a maior redução de peso ocorreu no período B. Esse resultado demonstra que a perda de peso ocorreu de forma mais rápida no grupo controle, o qual foi submetido apenas à restrição energética. Em contrapartida, o grupo intervenção apresentou redução de peso mais lenta. A velocidade da perda de peso varia de acordo com o peso corporal e taxa metabólica de repouso, além disso, indivíduos mais obesos apresentam perda de peso mais rápida com uma determinada ingestão

energética quando comparado a uma pessoa mais leve, devido ao maior consumo de energia, gerando um balanço energético negativo, que se trata do fator mais importante para perda de peso ao longo do tempo, segundo *American Dietetic Association* (SEAGLE *et al.*, 2009).

O grupo intervenção pode ter iniciado a perda ponderal durante a aplicação do tratamento controle, e potencializado a redução de peso durante a intervenção com o MC. Enquanto que para o grupo controle, a maior perda de peso foi registrada no período A, provavelmente devido ao efeito platô, mecanismo associado a uma resposta orgânica para a restrição calórica, como uma adaptação ou defesa do corpo para uma possível privação, onde o organismo após adaptar-se à dieta restritiva, entra em um equilíbrio entre o gasto e a ingestão energética, dificultando a eficácia do tratamento de redução ponderal (BOUCHARD, 2003). É importante ressaltar ainda, que o estudo foi conduzido com indivíduos de vida livre, de modo que a ausência de resultados significativos pode remeter o comportamento das participantes do estudo.

O consumo alimentar foi acompanhado durante o estudo com o intuito de controlar fatores dietéticos que poderiam atuar no balanço energético e por sua vez na evolução ponderal. Contudo, é conhecido na literatura que a subestimação do consumo de calorias trata-se de uma prática que geralmente ocorre em indivíduos com excesso de peso (JOHNSON, 2002). Ainda assim, a percepção do que poderia compor uma "dieta saudável", pode gerar omissão da ingestão de alimentos com baixo valor nutricional (PRYER *et al.*, 1997). É possível, portanto, que a ingestão energética proposta e adequada para gerar equilíbrio energético negativo não remeta aos resultados esperados quanto à redução de peso.

Em relação aos parâmetros que compõem a avaliação da saúde óssea, não se observou diferença significativa nas variáveis após o tratamento controle ou intervenção. A diferença de massa óssea entre os tratamentos no tratamento intervenção se mostrou próxima do nível de significância (p=0,066), o que poderia causar preocupação. Entretanto não foi acompanhada de modificações no marcador de ressorção óssea CTx. Os marcadores do *turnover* ósseo oferecem informação dinâmica da condição óssea, uma vez que são capazes de detectar mudanças mais rapidamente e são suficientemente sensíveis para monitorar efetivamente alterações agudas no processo de remodelação óssea (BROWN *et al.*, 2009). A ausência de variação significativa no CTx, que é preditor de que não houve prejuízos ósseos relacionados à intervenção à qual foram submetidas as voluntárias. Essa afirmação pode ser sustentada, uma vez que as alterações medidas pelo DXA não são capazes de acusar

modificações agudas, sendo possíveis detecções no decorrer de 12 a 24 meses (GLOVER *et al.*, 2008).

Foi possível confirmar por meio dos dados antropométricos e dos parâmetros relacionados à saúde óssea, correlação entre densidade mineral óssea e IMC, associação essa demonstrada na literatura (REID, 2002). Dentre as possíveis explicações para maior densidade mineral óssea em pessoas com maior massa corporal encontra-se o efeito do peso sobre o esqueleto e o efeito de hormônios, adipocinas e proteínas sinalizadoras produzidos pelos adipócitos, incluindo leptina e adiponectina que podem atuar de forma a contribuir para a densidade mineral óssea por meio de mecanismos ainda não esclarecidos (GÓMEZ-AMBROSI *et al.*, 2008). Entretanto, resultados controversos foram relatados em estudos onde a obesidade não foi considerada como fator protetor, possivelmente devido ao estado de inflamação sub-clínica com aumento dos níveis de proteína C reativa e citocinas pró-inflamatórias como interleucinas 1 e 6 e fator de necrose tumoral α que podem apresentar-se como estimulantes da atividade dos osteoclastos (GALLAGHER e SAI, 2010; GRECO *et al.*, 2010).

Dentre os parâmetros bioquímicos que avaliaram o estado nutricional de ferro, os grupos não apresentavam deficiência do mineral, uma vez que hemoglobina e ferritina encontravam-se dentro dos padrões de referência. Durante o tratamento teste houve aumento significativo de hemoglobina, acompanhado de hemácias e hematócrito, em comparação ao tratamento controle. Esse aumento pode ser associado à maior ingestão de ferro que aumentou significativamente durante o teste, devido à veiculação do mineral pela MC. Esse resultado foi positivo, pois os componentes da MC são de origem vegetal, que fornece constituintes, como fitato, que pode interferir biodisponibilidade de minerais. A relação fitato:ferro encontrada no MC foi de 8,28 mMol, valor considerado elevado e prejudicial quanto à absorção do mineral, porem este prejuízo não foi observado. Para que não sejam observados efeitos inibitórios, a literatura indica que a relação seja 1:1 (GIBSON *et al.*, 2010). O processamento térmico é capaz de quebrar o fitato em compostos com menos de cinco fosfatos, o que evita efeitos prejudiciais quanto à biodisponibilidade, uma vez que o efeito é somente observado para moléculas com cinco ou seis fosfatos ligados (SILVA e SILVA, 1999). Segundo Siqueira *et al.* (2001), o farelo de trigo é rico em fitato, contudo durante seu processamento, este cereal é submetido à torrefação, processo que reduz significativamente a porção que prejudicial à biodisponibilidade de minerais. Um dos principais componentes do MC é o farelo de trigo e

diante de tal afirmação, é possível justificar a ausência de efeito prejudicial do fitato na absorção de ferro.

Quanto ao estado nutricional referente ao zinco, não houve diferença significativa para os parâmetros zinco eritrocitário e zinco plasmático, durante ambos os tratamentos. A razão fitato:Zn encontrada para o MC foi de 10,83 mMol, sendo considerado de média biodisponibilidade (HUNT, MATTHYS e JOHNSON, 1998; INTERNATIONAL ZINC NUTRITION CONSULTATIVE *et al.*, 2004). Estudo realizado com isótopos estáveis mostrou que ao elevar a razão molar de 4 para 15 mMol, há redução da absorção de zinco em 25% (HUNT e BEISEIGEL, 2009). Os valores médios de zinco eritrocitário encontrados neste estudo para ambos os tratamentos estiveram abaixo do intervalo de referência assim como encontrado por Ennes Dourado Ferro *et al.* (2011) e ainda foi encontrada associação negativa entre IMC e zinco eritrocitário. O estado fisiológico de inflamação "sub-clínica" induzido pelo aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias e cortisol gerados pelo acúmulo de tecido adiposo pode induzir a expressão de metalotioneína e transportador de zinco Zip 14 nos hepatócitos, promovendo o acúmulo de zinco no fígado, o que pode contribuir para a baixa concentração de zinco eritrocitário (LIUZZI *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2006).

Mesmo sem apresentar diferença estatística, é importante ressaltar que durante o tratamento controle, a média da concentração de zinco plasmático no *baseline* apresentava-se dentro dos valores de referência, entretanto, ao final, a concentração apresentava-se baixa. Para o tratamento intervenção em ambos momentos a concentração média de zinco plasmático foi abaixo dos níveis considerados normais. A presença de cálcio pode ser prejudicial à absorção de zinco, devido à formação de complexos ainda menos solúveis entre fitato-cálcio-zinco (HUNT e BEISEIGEL, 2009). A razão molar fitatoXCa:Zn do *shake* intervenção foi de 1,75 $x10^{-3}$ mMol, o que não prejudicaria a absorção de zinco, uma vez que os valores devem estar acima de 200 mMol (FERGUSON *et al.*, 1989), o que permite inferir que o teor de cálcio não prejudicou a absorção de zinco. Estudos apontam que a adição de cálcio em dietas/refeições com baixo teor de fitato não implicam em prejuízos à absorção de zinco e até mesmo o aumento da absorção de zinco em refeições baseadas em grãos integrais quando adicionados derivados lácteos (SANDSTROM *et al.*, 1980; HUNT e BEISEIGEL, 2009). Entretanto, o fitato é veiculado por meio de todos os alimentos de origem vegetal que compõem a dieta, não somente pelo mix de cereais, sementes e grãos. Dessa forma, seria necessário obter dados do conteúdo de fitato da ingestão alimentar de um dia, a fim de

verificar a razão molar da dieta e possibilitar uma análise precisa sobre os efeitos que os componentes da dieta, dentre os quais o mix de cereais, sementes e grãos se encontra, sobre a biodisponibilidade de zinco neste estudo.

Saciação e saciedade são as sensações que permeiam o final de uma refeição, onde há o desejo de interromper a ingestão alimentar e o tempo entre as refeição em que o desejo de comer novamente será inibido, respectivamente. O conteúdo de fibra auxilia no aumento da saciedade (SLAVIN, 2005), contudo os distintos tipos de fibra alimentar influenciam diferentemente a manutenção da sensação de saciedade (WILLIS *et al.*, 2009). No presente estudo não foi possível observar diferenças entre os tratamentos, possivelmente devido ao teor relativamente baixo de fibra alimentar nas porções do *shake* intervenção, embora esse conteúdo de fibra possa representar uma dose possível de ser consumida pela população em uma refeição.

7.5 Conclusão

A mistura de cereais, sementes e grãos ("Ração Humana") proporcionou veiculação de nutrientes essenciais para a adoção de uma alimentação saudável e equilibrada por meio do aumento do consumo de minerais e vitamina E, alem de melhoria dos parâmetros ligados à biodisponibilidade de ferro. No entanto, não alterou o padrão de saciedade, o que consequentemente não refletiu na composição corporal e controle ponderal.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto de pesquisa e à Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado à discente Bárbara Nery Enes.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes), constantes do anexo desta Portaria. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasília: Diário Oficial da União 1998.

ALBERTI, K. G. M. M., ECKEL, R. H., GRUNDY, S. M., ZIMMET, P. Z., CLEEMAN, J. I., DONATO, K. A., FRUCHART, J.-C., JAMES, W. P. T., LORIA, C. M. e SMITH, S. C. Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v.120, n.16, October 20, 2009, p.1640-1645. 2009.

ALLISON, D. B., GADBURY, G., SCHWARTZ, L. G., MURUGESAN, R., KRAKER, J. L., HESHKA, S., FONTAINE, K. R. e HEYMSFIELD, S. B. A novel soy-based meal replacement formula for weight loss among obese individuals: a randomized controlled clinical trial. **Eur J Clin Nutr**, v.57, n.4, p.514-522. 2003.

AOAC - ASSOCIATIN OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC International**. Gaithersburg, MD, USA: Association of Analytical Communities. 2002.

BEKRI, S., GUAL, P., ANTY, R., LUCIANI, N., DAHMAN, M., RAMESH, B., IANNELLI, A., STACCINI–MYX, A., CASANOVA, D., BEN AMOR, I., SAINT–PAUL, M. C., HUET, P. M., SADOUL, J. L., GUGENHEIM, J., SRAI, S. K. S., TRAN, A. e LE MARCHAND–BRUSTEL, Y. Increased Adipose Tissue Expression of Hepcidin in Severe Obesity Is Independent From Diabetes and NASH. **Gastroenterology**, v.131, n.3, p.788-796. 2006.

BOUCHARD, C. **Atividade física e obesidade**. São Paulo: Manole. 2003. 469 p.

BOWMAN SA, LINO M, GERRIOR AS e PP, B. The healthy eating index: 1994-1996. **USDA, Center of Nutrition Policy and Promotion**. 1998.

BROWN, J. P., ALBERT, C., NASSAR, B. A., ADACHI, J. D., COLE, D., DAVISON, K. S., DOOLEY, K. C., DON-WAUCHOPE, A., DOUVILLE, P., HANLEY, D. A., JAMAL, S. A., JOSSE, R., KAISER, S., KRAHN, J., KRAUSE, R., KREMER, R., LEPAGE, R., LETENDRE, E., MORIN, S., OOI, D. S., PAPAIOAONNOU, A. e STE-MARIE, L.-G. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. **Clinical Biochemistry**, v.42, n.10-11, p.929-942. 2009.

BURNS, R. E. Method for Estimation of Tannin in Grain Sorghum 1. **Agronomy Journal**, v.63, n.3, p.511-512. 1971.

CALLEGARO, M. G. K., DIETTRICH, T., ALVES, E., MILBRADT, B. G., DENARDIN, C. C., SILVA, L. P. e EMANUELLI, T. Supplementation with fiber-rich multimixtures yields a higher dietary concentration and apparent absorption of minerals in rats. **Nutrition Research**, v.30, n.9, p.615-625. 2010.

CATANI, M., AMÂNCIO, O. M. S., FAGUNDES-NETO, U. e MORAIS, M. B. Dietary cellulose has no effect on the regeneration of hemoglobin in growing rats with iron deficiency anemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.693-697. 2003.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Can eating fruits and vegetables help people to manage their weight?** Division of Nutrition and Physical Activity. Atlanta. 2005.

CHAWLA, R. e PATIL, G. R. Soluble Dietary Fiber. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, n.2, p.178-196. 2010.

DE CÁSSIA FREITAS, K., AMANCIO, O. M. S., FERREIRA NOVO, N., FAGUNDES-NETO, U. e DE MORAIS, M. B. Partially hydrolyzed guar gum increases intestinal absorption of iron in growing rats with iron deficiency anemia. **Clinical Nutrition**, v.25, n.5, p.851-858. 2006.

DE ONIS, M. e HABICHT, J. Anthropometric reference data for international use: recommendations from a World Health Organization Expert Committee. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.64, n.4, October 1, 1996, p.650-658. 1996.

DRABKIN, D. L. e AUSTIN, J. H. Spectrophotometric studies II. Preparations from washed blood cells: nitric oxide hemoglobin and sulphemoglobin. **Journal of Biological Chemistry**, n.112, p.51-65. 1935.

DU, H., VAN DER A, D. L., BOSHUIZEN, H. C., FOROUHI, N. G., WAREHAM, N. J., HALKJÆR, J., TJØNNELAND, A., OVERVAD, K., JAKOBSEN, M. U., BOEING, H., BUIJSSE, B., MASALA, G., PALLI, D., SØRENSEN, T. I., SARIS, W. H. e FESKENS, E. J. Dietary fiber and subsequent changes in body weight and waist circumference in European men and women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, n.2, February 1, 2010, p.329-336. 2010.

ENNES DOURADO FERRO, F., SOUSA LIMA, V. B. D., MELLO SOARES, N. R., FRANCISCATO COZZOLINO, S. M. e NASCIMENTO MARREIRO, D. D. Biomarkers of metabolic syndrome and its relationship with the zinc nutritional status in obese women. **Nutrición Hospitalaria**, v.26, p.650-654. 2011.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Zinc in Human Nutrition. **Nutrition Research Reviews**, v.1, n.1, p.23-37. 1988.

FELTRIN, C., BATISTA DE MORAIS, M., DE CÁSSIA FREITAS, K., BENINGA DE MORAIS, T., FAGUNDES NETO, U. e SILVÉRIO AMANCIO, O. Effect of Soluble Fiber Pectin on Growth and Intestinal Iron Absorption in Rats During Recovery from Iron Deficiency Anemia. **Biological Trace Element Research**, v.129, n.1, p.221-228. 2009.

FERGUSON, E., GIBSON, R., THOMPSON, L. e OUNPUU, S. Dietary calcium, phytate, and zinc intakes and the calcium, phytate, and zinc molar ratios of the diets of a selected group of East African children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.50, n.6, December 1, 1989, p.1450-1456. 1989.

FISBERG, R. M., MARCHIONI, D. M. L. e COLUCCI, A. C. A. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.53, p.617-624. 2009.

FURLAN-VIEBIG, R. e PASTOR-VALERO, M. Desenvolvimento de um questionário de frequencia alimentar para o estudo de dieta e doenças não transmissíveis. **Revista de Saúde Pública**, v.38, p.581-584. 2004.

GALLAGHER, J. C. e SAI, A. J. Molecular biology of bone remodeling: Implications for new therapeutic targets for osteoporosis. **Maturitas**, v.65, n.4, p.301-307. 2010.

GIBSON, R. S., BAILEY, K. B., GIBBS, M. e FERGUSON, E. L. A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. **Food & Nutrition Bulletin**, v.31, n.Supplement 2, p.134-146. 2010.

GLOVER, S. J., GARNERO, P., NAYLOR, K., ROGERS, A. e EASTELL, R. Establishing a reference range for bone turnover markers in young, healthy women. **Bone**, v.42, n.4, p.623-630. 2008.

GODOY, F. D. C., ANDRADE, S. C. D., MORIMOTO, J. M., CARANDINA, L., GOLDBAUM, M., BARROS, M. B. D. A., CESAR, C. L. G. e FISBERG, R. M. Índice de qualidade da dieta de adolescentes residentes no distrito do Butantã, município de São Paulo, Brasil. **Revista de Nutrição**, v.19, p.663-671. 2006.

GOMES JC. **Análise de alimentos**: Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. 1996. 126 p.

GÓMEZ-AMBROSI, J., RODRÍGUEZ, A., CATALÁN, V. e FRÜHBECK, G. The Bone-Adipose Axis in Obesity and Weight Loss. **Obesity Surgery**, v.18, n.9, p.1134-1143. 2008.

GRECO, E. A., FORNARI, R., ROSSI, F., SANTIEMMA, V., PROSSOMARITI, G., ANNOSCIA, C., AVERSA, A., BRAMA, M., MARINI, M., DONINI, L. M., SPERA, G., LENZI, A., LUBRANO, C. e MIGLIACCIO, S. Is obesity protective for osteoporosis? Evaluation of bone mineral density in individuals with high body mass index. **International Journal of Clinical Practice**, v.64, n.6, p.817-820. 2010.
GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, p.08-17. 2010.

HALLBERG, L., BRUNE, M. e ROSSANDER, L. Low bioavailability of carbonyl iron in man: studies on iron fortification of wheat flour. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.43, n.1, January 1, 1986, p.59-67. 1986.

HERMSDORFF, H., ZULET, M., ABETE, I. e MARTÍNEZ, J. A legume-based hypocaloric diet reduces proinflammatory status and improves metabolic features in overweight/obese subjects. **European Journal of Nutrition**, v.50, n.1, p.61-69. 2011.

HUNT, J., MATTHYS, L. e JOHNSON, L. Zinc absorption, mineral balance, and blood lipids in women consuming controlled lactoovovegetarian and omnivorous diets for 8 wk. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.67, n.3, March 1, 1998, p.421-430. 1998.

HUNT, J. R. e BEISEIGEL, J. M. Dietary calcium does not exacerbate phytate inhibition of zinc absorption by women from conventional diets. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.89, n.3, March 1, 2009, p.839-843. 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. POF 2008 2009 - Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. **Disponível em**: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1699. 2010.

INTERNATIONAL ZINC NUTRITION CONSULTATIVE, G., BROWN, K. H., RIVERA, J. A., BHUTTA, Z., GIBSON, R. S., KING, J. C., LONNERDAL, B., RUEL, M. T., SANDTROM, B., WASANTWISUT, E. e HOTZ, C. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. **Food and nutrition bulletin**, v.25, n.1 Suppl 2, p.S99-203. 2004.

JOHNSON, R. K. Dietary Intake[mdash]How Do We Measure What People Are Really Eating? **Obesity**, v.10, n.s11, p.63S-68S. 2002.

KIM, J.-R., RYU, H.-H., CHUNG, H. J., LEE, J. H., KIM, S. W., KWUN, W. H., BAEK, S.-H. e KIM, J. H. Association of anti-obesity activity of N-acetylcysteine with metallothionein-II down-regulation. **Experimental and Molecular Medicine**, v.38, n.2, p.162-172. 2006.

LATTA, M. e ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, n.6, p.1313-1315. 1980.

LIPPMAN, S. M., KLEIN, E. A., GOODMAN, P. J., LUCIA, M. S., THOMPSON, I. M., FORD, L. G., PARNES, H. L., MINASIAN, L. M., GAZIANO, J. M., HARTLINE, J. A., PARSONS, J. K., BEARDEN, J. D., CRAWFORD, E. D., GOODMAN, G. E., CLAUDIO, J., WINQUIST, E., COOK, E. D., KARP, D. D., WALTHER, P., LIEBER, M. M., KRISTAL, A. R., DARKE, A. K., ARNOLD, K. B., GANZ, P. A., SANTELLA, R. M., ALBANES, D., TAYLOR, P. R., PROBSTFIELD, J. L., JAGPAL, T. J., CROWLEY, J. J., MEYSKENS, F. L., BAKER, L. H. e COLTMAN, C. A. Effect of Selenium and Vitamin E on Risk of Prostate Cancer and Other Cancers. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v.301, n.1, January 7, 2009, p.39-51. 2009.

LIUZZI, J. P., LICHTEN, L. A., RIVERA, S., BLANCHARD, R. K., AYDEMIR, T. B., KNUTSON, M. D., GANZ, T. e COUSINS, R. J. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.102, n.19, May 10, 2005, p.6843-6848. 2005.

LOBO, A. R., COCATO, M. L., BORELLI, P., GAIEVSKI, E. H. S., CRISMA, A. R., NAKAJIMA, K., NAKANO, E. Y. e COLLI, C. Iron bioavailability from ferric pyrophosphate in rats fed with fructan-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius*) flour. **Food Chemistry**, v.126, n.3, p.885-891. 2011.

LOBO, A. R., COLLI, C., ALVARES, E. P. e FILISETTI, T. M. C. C. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal

morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. **British Journal of Nutrition**, v.97, n.04, p.776-785. 2007.

LOHMAN, T. G. **Advances in body composition assessment: current issues in exercise science**. Illinois: Human Kinetics Champaign. 1992. 57 - 63 p.

LUND, E. K., WHARF, S. G., FAIRWEATHER-TAIT, S. J. e JOHNSON, I. T. Increases in the Concentrations of Available Iron in Response to Dietary Iron Supplementation Are Associated with Changes in Crypt Cell Proliferation in Rat Large Intestine. **The Journal of Nutrition**, v.128, n.2, February 1, 1998, p.175-179. 1998.

MA, G., LI, Y., JIN, Y., ZHAI, F., KOK, F. J. e YANG, X. Phytate intake and molar ratios of phytate to zinc, iron and calcium in the diets of people in China. **Eur J Clin Nutr**, v.61, n.3, p.368-374. 2006.

MAHONEY, A. W., VAN ORDEN, C. C. e HENDRICKS, D. C. Efficiency of concerting food iron into haemoglobin by the anaemic rats. **Nutrition & Metabolism**, n.17, p.223-230. 1974.

MAKI, K. C., BEISEIGEL, J. M., JONNALAGADDA, S. S., GUGGER, C. K., REEVES, M. S., FARMER, M. V., KADEN, V. N. e RAINS, T. M. Whole-Grain Ready-to-Eat Oat Cereal, as Part of a Dietary Program for Weight Loss, Reduces Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Adults with Overweight and Obesity More than a Dietary Program Including Low-Fiber Control Foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v.110, n.2, p.205-214. 2010.

MARTINO, H. S. D., CARVALHO, A. W., SILVA, C. O., DANTAS, M. I. S., NATAL, D. I. G. e COSTA, N. M. B. The use hull soybean flour of heat-treated grains does not affect iron bioavailability in rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutricíon**, In press. 2011.

MAXSON, E. D. e ROONEY, L. M. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. **Cereal Chem**., v.49, p.719-729. 1972.

MCCLUNG, J. P. e KARL, J. P. Iron deficiency and obesity: the contribution of inflammation and diminished iron absorption. **Nutrition Reviews**, v.67, n.2, p.100-104. 2009.

MELLO, V. D. D. e LAAKSONEN, D. E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.53, p.509-518. 2009.

MERA, R., THOMPSON, H. e PRASAD, C. How to calculate sample size for an experiment: a case-based description. **Nutritional Neuroscience** v.1, p.87-91. 1998.

MILLS, E., CHAN, A.-W., WU, P., VAIL, A., GUYATT, G. e ALTMAN, D. Design, analysis, and presentation of crossover trials. **Trials**, v.10, n.1, p.1-6. 2009.

MORETTI, D., ZIMMERMANN, M. B., WEGMÜLLER, R., WALCZYK, T., ZEDER, C. e HURRELL, R. F. Iron status and food matrix strongly affect the relative bioavailability of ferric pyrophosphate in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.83, n.3, March 1, 2006, p.632-638. 2006.

NEYMOTIN, F. e SEN, U. Iron and Obesity in Females in the United States. **Obesity**, v.19, n.1, p.191-199. 2011.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTOS. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos Campinas - NEPA: UNICAMP 2006.

PAPATHANASOPOULOS, A. e CAMILLERI, M. Dietary Fiber Supplements: Effects in Obesity and Metabolic Syndrome and Relationship to Gastrointestinal Functions. **Gastroenterology**, v.138, n.1, p.65-72.e2. 2010.

PEREIRA, M. A. e LUDWIG, D. S. DIETARY FIBER AND BODY-WEIGHT REGULATION: Observations and Mechanisms. **Pediatric Clinics of North America**, v.48, n.4, p.969-980. 2001.

PINTO NETO, A., SOARES, A., URBANETZ, A. A., SOUZA, A. C. A., FERRARI, A. E. M. e AMARAL, B. Consenso Brasileiro de Osteoporose. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.42, n.6, p.343 - 354. 2002.

PREVIDELLI, Á. N., ANDRADE, S. C. D., PIRES, M. M., FERREIRA, S. R. G., FISBERG, R. M. e MARCHIONI, D. M. Índice de Qualidade da Dieta Revisado para população brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v.45, p.794-798. 2011.

PRICE, M. L., VAN SCOYOC, S. e BUTLER, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, n.5, p.1214-1218. 1978.

PRYER, J. A., VRIJHEID, M., NICHOLS, R., KIGGINS, M. e ELLIOTT, P. Who are the low energy reporters' in the dietary and nutritional survey of British adults? International **Journal of Epidemiology**, v.26, n.1, February 1, 1997, p.146-54. 1997.

RABEN, A., TAGLIABUE, A. e ASTRUP, A. The reproducibility of subjective appetite scores. **British Journal of Nutrition**, v.73, n.4, p.517 - 530. 1995.

REEVES, P. G. N., F.H.; FAHEY, G.C., JR. . JOURNAL OF NUTRITION, V.123, N.11, P.1939-51, 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. 1993.

REID, I. R. Relationships among body mass, its components, and bone. **Bone**, v.31, n.5, p.547-555. 2002.

RENATO PARDINI, S. M., TIMÓTEO, ARAÚJO, V. M., ERINALDO ANDRADE, GLAUCIA BRAGGION, D. A., LUIS e OLIVEIRA, A. F. J. E. V. R. Validação do questionário internacional de nível de atividade física (IPAQ - versão 6): estudo piloto em adultos jovens brasileiros. **Rev. Brasileira de Ciência e Movimento**, v.9, p.45-51. 2001.

ROMAGUERA, D., ÄNGQUIST, L., DU, H., JAKOBSEN, M. U., FOROUHI, N. G., HALKJÆR, J., FESKENS, E. J. M., VAN DER A, D. L., MASALA, G., STEFFEN, A., PALLI, D., WAREHAM, N. J., OVERVAD, K., TJØNNELAND, A., BOEING, H., RIBOLI, E. e SØRENSEN, T. I. A. Dietary Determinants of Changes in Waist Circumference Adjusted

for Body Mass Index – a Proxy Measure of Visceral Adiposity. **PLoS ONE**, v.5, n.7, p.e11588. 2010.

ROMAGUERA, D., NORAT, T., MOUW, T., MAY, A. M., BAMIA, C., SLIMANI, N., TRAVIER, N., BESSON, H., LUAN, J. A., WAREHAM, N., RINALDI, S., COUTO, E., CLAVEL-CHAPELON, F., BOUTRON-RUAULT, M.-C., COTTET, V., PALLI, D., AGNOLI, C., PANICO, S., TUMINO, R., VINEIS, P., AGUDO, A., RODRIGUEZ, L., SANCHEZ, M. J., AMIANO, P., BARRICARTE, A., HUERTA, J. M., KEY, T. J., SPENCER, E. A., BUENO-DE-MESQUITA, H. B., BÜCHNER, F. L., ORFANOS, P., NASKA, A., TRICHOPOULOU, A., ROHRMANN, S., KAAKS, R., BERGMANN, M., BOEING, H., JOHANSSON, I., HELLSTROM, V., MANJER, J., WIRFÄLT, E., UHRE JACOBSEN, M., OVERVAD, K., TJONNELAND, A., HALKJAER, J., LUND, E., BRAATEN, T., ENGESET, D., ODYSSEOS, A., RIBOLI, E. e PEETERS, P. H. M. Adherence to the Mediterranean Diet Is Associated with Lower Abdominal Adiposity in European Men and Women. **The Journal of Nutrition**, v.139, n.9, September 2009, p.1728-1737. 2009.

S F A SIQUEIRA, M A EGLE, SOUSA LUCILENE M e SOUZA ELIZABETH M T. Phytate from an alternative dietary supplement has no effect on the calcium, iron and zinc status in undernourished rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición** v.51, n.3, p.250-257. 2001.

SANDSTROM, B., ARVIDSSON, B., CEDERBLAD, A. e BJORN-RASMUSSEN, E. Zinc absorption from composite meals. I. The significance of whest extraction rate, zinc, calcium, and protein content in meals based on bread. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.33, n.4, April 1, 1980, p.739-745. 1980.

SCHLEMMER, U., FRØLICH, W., PRIETO, R. M. e GRASES, F. Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.53, n.S2, p.S330-S375. 2009.

SCHOLZ-AHRENS, K. E. e SCHREZENMEIR, J. Inulin and Oligofructose and Mineral Metabolism: The Evidence from Animal Trials. **The Journal of Nutrition**, v.137, n.11, November 1, 2007, p.2513S-2523S. 2007.

SEAGLE, H. M., STRAIN, G. W., MAKRIS, A., REEVES, R. S. e AMERICAN DIETETIC, A. Position of the American Dietetic Association: weight management. **Journal of the American Dietetic Association**, v.109, n.2, p.330-46. 2009.

SHAH, M., CHANDALIA, M., ADAMS-HUET, B., BRINKLEY, L. J., SAKHAEE, K., GRUNDY, S. M. e GARG, A. Effect of a High-Fiber Diet Compared With a Moderate-Fiber Diet on Calcium and Other Mineral Balances in Subjects With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v.32, p.899-995. 2009.

SHAPSES, S. A. e RIEDT, C. S. Bone, Body Weight, and Weight Reduction: What Are the Concerns? **Journal of Nutrition**, v.136, n.6, June 1, 2006, p.1453-1456. 2006.

SILVA, M. R. e SILVA, M. A. A. P. D. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v.12, p.21-32. 1999.

SLAVIN, J. L. Dietary fiber and body weight. **Nutrition**, v.21, n.3, p.411-418. 2005.

SMIRICKY-TJARDES, M. R., GRIESHOP, C. M., FLICKINGER, E. A., BAUER, L. L. e FAHEY, G. C., JR. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. **J. Anim Sci**., v.81, n.10, October 1, 2003, p.2535-2545. 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão VI. **Revista Hipertensão**, v.13, n.1, p.12 - 19. 2010.

THOMPSON, F. E. e BYERS, T. Dietary Assessment Resource Manual. **The Journal of Nutrition**, v.124, n.11 Suppl, November 1, 1994, p.2245s-2317s. 1994.

TOWO, E., MATUSCHEK, E. e SVANBERG, U. Fermentation and enzyme treatment of tannin sorghum gruels: effects on phenolic compounds, phytate and in vitro accessible iron. **Food Chemistry**, v.94, n.3, p.369-376. 2006.

UUSI-RASI., K., SIEVÄNEN., H., KANNUS., P., PASANEN., M., KUKKONEN-HARJULA., K. e ., M. F. Influence of weight reduction on muscle performance and bone mass, structure and metabolism in obese premenopausal women. **Jounal Musculoskelet Neuronal Interact**, v.9, p.72-80. 2009.

VELLOZO, E. P. e FISBERG, M. O impacto da fortificação de alimentos na prevenção da deficiência de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, p.134-139. 2010.

VERMA, A. K. e BANERJEE, R. Dietary fibre as functional ingredient in meat products: a novel approach for healthy living — a review. **Journal of Food Science and Technology**, v.47, p.247-257. 2010.

WEBER, T. K., FREITAS, K. D. C., AMANCIO, O. M. S. e MORAIS, M. B. D. Effect of dietary fibre mixture on growth and intestinal iron absorption in rats recovering from iron-deficiency anaemia. **British Journal of Nutrition**, v.104, n.10, p.1471-1476. 2010.

WHITEHOUSE, R. C., PRASAD, A. S., RABBANI, P. I. e COSSACK, Z. T. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clinical Chemistry**, v.28, n.3, March 1, 1982, p.475-80. 1982.

WILLIS, H. J., ELDRIDGE, A. L., BEISEIGEL, J., THOMAS, W. e SLAVIN, J. L. Greater satiety response with resistant starch and corn bran in human subjects. **Nutrition Research**, v.29, n.2, p.100-105. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultatation**. Geneva. 2008.

_____. **Overweight and obesity**. Fact sheet No. 311. WHO. Geneva. 2011

ZAGO, M. A., FALCÃO, R. P. e PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e práticas**. São Paulo: Ed. Atheneu. 2005.

ZIMMERMANN, M. B. e HURRELL, R. F. Nutritional iron deficiency. **The Lancet**, v.370, n.9586, p.511-520. 2007.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho avaliou o efeito do consumo de uma mistura de cereais, sementes e grãos (“Ração Humana”) no estado nutricional dos minerais ferro e zinco, no controle ponderal, na composição corporal e na saúde óssea. O produto veiculou nutrientes, principalmente fibra alimentar, vitamina E e minerais. A “Ração Humana” favoreceu o aumento da absorção de ferro, em ambos estudos com animais e humanos. No ensaio biológico, a versão *light* apresentou a melhor biodisponibilidade, similar ao sulfato ferroso, utilizado como controle. No estudo clínico, houve melhora significativa dos parâmetros ligados à absorção de ferro, hemoglobina, hemácias e hematócrito, durante o consumo de “Ração Humana”.

O ensaio clínico apontou que o produto não promoveu redução de peso e mudança do padrão de composição corporal associado ao consumo de uma dieta restritiva em energia, de forma significativa, assim como nenhum efeito relacionado ao controle da saciedade foi observado, assim como relacionado à saúde óssea. Entretanto, observou-se associação positiva entre densidade mineral óssea e índice de massa corporal. Não houve alteração quanto ao estado nutricional referente ao zinco.

Verifica-se a necessidade de desenvolvimento de demais estudos, com maior dose de consumo diário de “Ração Humana”, assim como a duração do período de consumo, a fim de verificar possíveis mudanças quanto ao controle da saciedade e suas consequências na perda de peso e composição corporal, e se há modificações no padrão de saúde óssea durante esse período.

9 ANEXOS

9.1 Anexo A

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA NO USO DE ANIMAIS
Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-3783

CERTIFICADO

A Comissão de Ética para Uso de Animais CEUA/ UFV certifica que o processo n.º 45/2011, intitulado "***Efeito do consumo de Ração Humana sobre a biodisponibilidade de ferro, marcador de estresse oxidativo e parâmetros intestinais em ratos wistar***" coordenado pela Professora Hércia Stampini Duarte Martino, do Departamento de Nutrição e Saúde, está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em 22/11/2011.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 45/2011, named "*Effect of the consumption of ´ração humana´ on iron bioavailability, markers of oxidative stress and intestinal parameters on wistar rats*" is in agreement with the Medical Veterinary Professional Ethics Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and with actual Brazilian legislation. This Institutional Commission on November 22, 2011 approved this process.

Viçosa, 22 de novembro de 2011.

Professor Cláudio César Fonseca
Comissão de Ética para o Uso de Animais da UFV- CEUA
Coordenador

9.2 Anexo B

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS
Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-1269

Of. Ref. Nº 009/2011/Comitê de Ética

Viçosa, 18 de fevereiro de 2011.

Prezada Professora:

Cientificamos V. Sª. de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em sua 1ª Reunião de 2011, realizada em 18-2-2011, analisou e aprovou, sob o aspecto ético, o projeto de pesquisa intitulado *Efeito da ração humana na perda de peso e na saúde óssea em mulheres com sobrepeso/obesidade.*

Atenciosamente,

Professor Gilberto Paixão Rosado
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Presidente

Professora
Hércia Stampini Duarte Martino
Departamento de Nutrição e Saúde

/rhs.

9.3 Anexo C

Prefeitura Municipal de Viçosa
Praça do Rosário, 05 - Centro - CEP 36.570-000 - Viçosa - MG
Tel.: Geral: (31) 3891-3714 - Fax.: (31) 3891-7648
CNPJ: 18.132.449/0001-79

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a realização da Pesquisa Científica com indivíduos do sexo feminino, com obesidade e sobrepeso, idade entre 30 e 45 anos, que freqüentam o Programa de Saúde da Família do Bairro Silvestre.

A Pesquisa será realizada pelas mestrandas do Programa de Pós-graduação em Ciência da Nutrição da Universidade Federal de Viçosa **Bárbara Nery e Natália Galdino**, sob a orientação das Professoras Sônia Maria Machado Ribeiro e Hércia Stampini Duarte Martino, com a autorização por escrito dos participantes.

Viçosa, 16 de dezembro de 2010.

Rita Maria Gomide
Secretária Municipal de Saúde

9.4 Anexo D

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

"Concordo voluntariamente em me submeter a uma pesquisa, que tem como objetivo avaliar o efeito da ração humana sobre na perda de peso e saúde óssea de mulheres com sobrepeso e obesidade, onde será aferido as medidas antropométricas (peso, altura e perímetro da cintura), de composição corporal, de ingestão alimentar decorrentes de intervenção nutricional de 77 dias. Receberei a Ração Humana que deverá substituir o café da manhã. As outras refeições serão ingeridas conforme o habitual, em condições de vida livre. Tenho conhecimento de que não terei nenhum tipo de vantagem econômica ou material por participar do estudo. Estou ciente de que poderei abandonar a pesquisa em qualquer etapa de seu desenvolvimento. Concordo com a divulgação de meus dados no meio científico, sempre resguardando minha individualidade e identificação. Estou suficientemente informado pelos membros do presente estudo, sobre as condições em que irão ocorrer a elaboração e distribuição das refeições teste, sob responsabilidade da professora Hércia Stampini Durte Martino, e sua equipe de trabalho.

Assinaturas:

_____ _____

Responsável pelo projeto NOME DO PESQUISADOR

_____

Voluntário

9.5 Anexo E

QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO

1. Nome:

2. Estado civil: ( ) solteira ( ) casada ( ) divorciada ( ) viúva

3. Profissão:

4. Data de nascimento:

5. Quantos anos você estudou?

( ) Nenhum

( ) < 1

( ) 1 a 3

( ) 4 a 7

( ) 8 a 10

( ) 11 a 14

( ) 15 ou mais

6. Com quantas pessoas você reside?

( )1 ( )2 ( )3 ( )4 ( )5 ou mais

7. Qual é a sua renda mensal?

( ) não tem renda

( ) < 1 salário mínimo

( ) 1,1 a 3 salários mínimos

( ) 3,1 a 6 salários mínimos

( ) 6,1 a 10 salários mínimos

( ) > 10 salários mínimos

OBS: salário mínimo = R$ 545,00 (quinhentos e quarenta e cinco reais)

8. Qual é a renda mensal do seu grupo familiar?

( ) não tem renda

( ) < 1 salário mínimo

( ) 1,1 a 3 salários mínimos

( ) 3,1 a 6 salários mínimos

9.Quantos são dependentes da renda?

( )1 ( )2 ( )3 ( )4 ( )5 ou mais

10. Possui coleta de lixo? ( ) Sim ( ) Não

11. Moradia: ( ) casa própria ( ) alugada ( ) emprestada ( ) Outros. Cite:_____

12. Possui água encanada? ( ) Sim ( ) Não

13. Possui rede de esgoto? ( ) Sim ( ) Não

9.6 Anexo F

ANEXO 5

Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Nutrição e Saúde

Questionário Internacional de Nível de Atividade Física

(IPAQ – versão 6)

Nome:

_____

_

Data: _____/ _____ / _____

Idade : _____ **Sexo:** F ( ) M ( )

Ocupação:

_____

Nós queremos saber quanto tempo você gasta fazendo atividade física em uma semana NORMAL. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que você não seja ativo. Para responder, considere as atividades como: meio de transporte, no trabalho, exercício e esporte.

1a. Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades **LEVES** ou **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos, que façam você suar **POUCO** ou aumentam **LEVEMENTE** sua respiração ou batimentos do coração, como nadar, pedalar ou varrer:
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

1b. Nos dias em que você faz este tipo de atividade, quanto tempo você gasta fazendo essas atividades **POR DIA**?
(a)_____ horas _____ minutos (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2a . Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos , que façam você suar **BASTANTE** ou aumentem **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração, como correr e nadar rápido ou fazer jogging:
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2b. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta fazendo essas atividades **POR DIA**?
(a)_____ horas _____ minutos (b) Não quero responder (c) Não sei responder

ATIVIDADE FÍSICA NO TRABALHO

Pensando em todas as atividades que você tem feito no trabalho durante uma semana normal:

1a. Atualmente, você trabalha ou faz trabalho voluntário fora de sua casa?
Sim ( ) Não ( )

1b. Quantos dias de uma semana normal você trabalha? _____ dias
Durante um dia normal de trabalho, quanto tempo você gasta: _____

1c . Andando rápido: _____ horas_____ minutos

1d. Fazendo atividades de esforço moderado como subir escadas ou carregar pesos leves: ____ horas____ minutos

1e. Fazendo atividades vigorosas como trabalho de construção pesada ou trabalhar com enxada, escavar: ____ horas_____ minutos

ATIVIDADE FÍSICA EM CASA

Agora, pensando em todas as atividades que você tem feito em casa durante uma semana normal:

2a . Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades dentro da sua casa por pelo menos 10 minutos de esforço moderado como aspirar, varrer ou esfregar:
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2b. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta fazendo essas atividades **POR DIA**? _____ horas _____ minutos

2c. Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades no jardim ou quintal por pelo menos 10 minutos de esforço **MODERADO** como varrer, rastelar, podar:
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2d. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta **POR DIA**?
_____ horas _____ minutos

2e. Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades no jardim ou quintal por pelo menos 10 minutos de esforço **VIGOROSO** ou forte como carpir, arar, lavar o quintal:
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2f. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta **POR DIA**?
_____ horas _____ minutos

ATIVIDADE FÍSICA COMO MEIO DE TRANSPORTE

Agora pense em relação a caminhar ou pedalar para ir de um lugar a outro em uma semana normal:

3a. Em quantos dias de uma semana normal você caminha de forma rápida por pelo menos 10 minutos para ir de um lugar para outro? (Não inclua as caminhadas por prazer ou exercício)
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

3b. Nos dias que você caminha para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta caminhando? (Não inclua as caminhadas por prazer ou exercício) _____ horas _____ minutos

3c. Em quantos dias de uma semana normal você pedala rápido por pelo menos 10 minutos para ir de um lugar para outro? (Não inclua o pedalar por prazer ou exercício)
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

3d. Nos dias que você pedala para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta pedalando? (Não inclua o pedalar por prazer ou exercício) _____ horas _____ minutos

Por favor, coloque as suas observações, críticas e sugestões em relação a este questionário (construção e clareza das perguntas, formatação, dificuldades, tempo para responder, etc):

_____

_____

_____

_____

9.7 Anexo G

Questionário sobre fome-saciedade (Escala de Analogia Visual – VAS) Nome: _____ Fase:_____ Data: ___/___/___ Horário: _____ Favor marcar na escala o que melhor reflete a sua resposta para cada uma das questões
Você gostaria de comer alguma coisa a mais? Muito mais _____ Nada mais
Quão saciado você se sente agora? Completamente vazio _____ Não agüento comer mais nada
Você se sente sedento? Não estou sedento _____ Nunca estive tão sedento
O quanto você está concentrado? Nem um pouco _____ Extremamente
O grau de tremor de suas mãos é... Nenhum _____ Muito
Você gostaria de comer alguma coisa doce agora? Nem um pouco _____ Extremamente
Sua cabeça está coçando neste momento? Nem um pouco _____ Extremamente
Quanta fome você sente agora? Sem fome alguma _____ Nunca estive com tanta fome
Você gostaria de comer alguma coisa gordurosa agora? Não, nenhum alimento gorduroso _____ Sim, muito
Você gostaria de comer alguma coisa salgada agora? Não, nenhum alimento salgado _____ Sim, muito

9.8 Anexo H

	Quantidade	Nunca ou < 1 mês	1-3 por mês	1 por sem.	2-4 por sem.	5-6 por sem.	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
I. Leite e produtos lácteos										
1. Leite integral										
2. Leite desnatado ou semi-desnatado										
3. Creme de leite										
4. Iogurte natural/ polpa										
5. Queijos brancos										
6. Queijos amarelos										
II. Carnes, pescados e ovos										
7. Ovo (frito/ mexido/ poche)										
8. Frango (cozido/ assado/ frito)										
9. Carne bovina (bife/ panela)										
10. Estrogonofe										
11. Panqueca de carne										
12. Hambúrguer/ cheeseburguer										
13. Carne suína (lombo/ bisteca)										
14. Fígado										
15. Vísceras de frango (miúdos)										
16. Mortadela, presunto										
17. Lingüiça/ salsicha										
18. Bacon/ toucinho										
19. Peixe (cozido/ assado/ frito)										
20. Atum/sardinha em conserva										

21. Camarão										
III. Verduras e legumes										
22. Alface/ escarola										
23. Acelga										
24. Repolho										
25. Agrião/ Almeirão										
26. Brócolis/ couve-flor/ couve										
27. Tomate										
28. Cenoura										
29. Abóbora										
30. Alho/ cebola										
31. Legumes: jiló/ berinjela/ pepino										
32. Legumes: abobrinha/ beterraba										
IV. Frutas e sucos naturais										
33. Laranjas/ Mexerica										
34. Suco de laranja										
35. Suco de limão										
36. Bananas										
37. Suco de maracujá										
38. Abacaxi/ Suco										
39. Maça/ Pêra										
40. Mamão papaya/ Suco										
41. Morangos										
42. Caqui										
43. Abacate										
44. Melão/Melancia/ Suco										
45. Suco de caju										
46. Suco de acerola										

47. Uvas										
48. Manga/ Suco										
49. Outras Frutas: pêssego/ figo/ ameixa										
50. Oleaginosas (amendoim, castanhas)										
51. Azeitonas										
V. Pães cereais, tubérculos e leguminosas										
52. Pão francês										
53. Pão de forma/ caseiro/ bisnaga										
54. Pão integral/ diet										
55. Cereais matinais										
56. Milho verde										
57. Batata cozida/ purê/ assada										
58. Batatas fritas										
59. Arroz cozido										
60. Polenta										
61. Mandioca cozida										
62. Farinhas/ farofa										
63. Macarrão/ massas/ instantâneo										
64. Feijão cozido										
65. Feijão branco/ ervilha/ lentilha										
VI. Óleos e gorduras										
67. Óleo de soja/ milho/ canola/ girassol										
68. Margarina										
69. Manteiga										
VII. Doces, salgadinhos e guloseimas										
70. Chocolates variados										
71. Achocolatado										
72. Sobremesas cremosas (pudim/ manjar)										

73. Doce de frutas (calda/ barra)										
74. Sorvetes cremosos										
75. Doces de bar (amendoim/ leite/ suspiro)										
76. Salgadinhos de bar (esfiha/ coxinha/ pastel)										
77. Biscoito salgado água e sal/ cream cracker										
78. Biscoito doce maisena /leite/ maria										
79. Biscoito doce recheado										
80. Bolo simples										
81. Bolo/torta recheado/ com frutas										
82. Torta salgada										
83. Pizza										
84. Pão de queijo										
VIII. Bebidas										
85. Refrigerantes (cola/ limão/ laranja/ guaraná)										
86. Cerveja										
87. Vinho										
88. Outras bebidas alcoólicas: pinga/ uísque										
89. Chá mate/ preto infusão										
90. Café (com açúcar/ sem açúcar)										
91. Suco artificial em pó										
IX. Preparações e Miscelâneas										
92. Açúcar para adição										
93. Sopa legumes/ feijão/ canja										
94. Molho de Maionese										
95. Salada de legumes com maionese										
96. Molhos industrializados: catchup/ mostarda										
97. Molho de tomate										
98. Extrato de soja										