

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL-MG

CAMILLA RIBEIRO VIEIRA

**EFEITO DE UMA BEBIDA FUNCIONAL À BASE DE FARINHA DE BANANA
(Musa spp.) VERDE SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL, NÍVEIS DE
CITOCINAS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM MULHERES COM EXCESSO
DE PESO E ADIPOSIDADE ABDOMINAL**

Alfenas/MG

2016

CAMILLA RIBEIRO VIEIRA

**EFEITO DE UMA BEBIDA FUNCIONAL À BASE DE FARINHA DE BANANA
(Musa spp.) VERDE SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL, NÍVEIS DE
CITOCINAS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM MULHERES COM EXCESSO
DE PESO E ADIPOSIDADE ABDOMINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde, Nível de Mestrado, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre pela Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG. Área de concentração: Fisiopatologia.

Orientadora: Profa. Dra. Roberta Ribeiro Silva

Alfenas/MG

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Vieira, Camilla Ribeiro

Efeito de um bebida funcional à base de farinha de banana (Musa spp.) verde sobre a microbiota intestinal, níveis de citocinas e capacidade antioxidante em mulheres com excesso de peso e adiposidade abdominal / Camilla Ribeiro Vieira -- Alfenas/MG, 2016.
103 f.

Orientadora: Roberta Ribeiro Silva.
Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) -
Universidade Federal de Alfenas, 2016.
Bibliografia.

1. Musa. 2. Cacau. 3. Microbiota. 4. Interleucinas.
5. Antioxidantes. I. Silva, Roberta Ribeiro. II. Título.

CDD-612

CAMILLA RIBEIRO VIEIRA

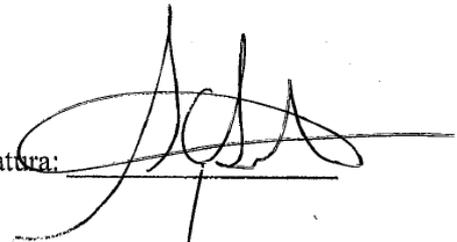
**EFEITO DE UMA BEBIDA FUNCIONAL À BASE DE FARINHA DE BANANA
(Musa spp.) VERDE SOBRE A MICROBIOTA INTESTINAL, NÍVEIS DE
CITOCINAS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM MULHERES COM
EXCESSO DE PESO E ADIPOSIDADE ABDOMINAL**

A Banca Examinadora abaixo-assinado aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Fisiopatologia.

Aprovada em: 19/02/2016

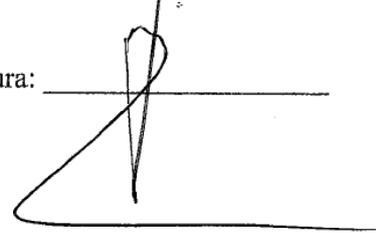
Profa. Dra. Simone Cardoso Lisboa Pereira
Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Assinatura:



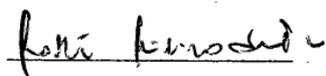
Prof. Dr. Valdemar Antônio Paffaro Júnior
Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG

Assinatura:



Profa. Dra. Roberta Ribeiro Silva
Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG

Assinatura:



Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Gilson e Marta, aos meus avós Terezinha, Aurora, Hermenegildo, e João, a minha irmã Lívia, e ao meu noivo Júlio César.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre me dar força e iluminar meu caminho;

Aos meus pais por todo apoio, pela confiança e amor incondicional;

Aos meus avós, por sempre terem passado os melhores conselhos e ensinamentos;

À minha irmã por toda ajuda e apoio;

Ao meu noivo, Júlio César, pelo incentivo, por estar do meu lado nos momentos de dificuldade e pela ajuda com a formatação do trabalho;

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Roberta Ribeiro Silva, pela dedicação ao trabalho e pelas inúmeras e valiosas orientações;

À Fernanda Laurides Ribeiro de Oliveira Lomeu, pela amizade, companheirismo e parceria na execução do trabalho;

Ao corpo docente e ao corpo administrativo da Universidade Federal de Alfenas, em especial à equipe do Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde – PPGb e à Faculdade de Nutrição, pelos preciosos ensinamentos;

À Universidade Federal de Viçosa pela parceria no desenvolvimento deste trabalho;

À Prof^a Dr^a Hércia Stampini Duarte Martino, por toda ajuda com a pesquisa, pelos ensinamentos e pela hospedagem;

À Dr^a Maria Eliza Castro Moreira, pela colaboração em várias etapas do projeto;

Aos alunos da Iniciação Científica pela ajuda, apoio, dedicação e parceria;

Às voluntárias da pesquisa, pois sem elas este trabalho não existiria;

A todos meus amigos que estiveram do meu lado e torceram por este momento.

Muito obrigada!

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito de uma bebida à base de farinha de banana verde (FBV) com cacau na microbiota intestinal, níveis de citocinas e capacidade antioxidante total em mulheres com sobrepeso e adiposidade abdominal. **Metodologia:** Ensaio clínico prospectivo randomizado duplo-cego, realizado no período de julho de 2014 a novembro de 2014. O estudo foi conduzido com voluntárias cadastradas no Projeto Nutrir Vidas, com idades entre 20 a 50 anos de idade. Foram distribuídas randomicamente em dois grupos de 30 voluntárias cada. O grupo teste recebeu uma bebida funcional com adição de FBV e o grupo controle recebeu uma bebida funcional com os mesmos ingredientes, porém sem adição de FBV. Para analisar o efeito da bebida na microbiota intestinal, foram avaliadas a consistência, forma, cor e determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes das voluntárias. E ainda aplicado um questionário baseado no Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS). A determinação dos AGCC foi feita por meio da Cromatografia Líquida de Alta eficiência (HPLC). A quantificação das citocinas foi realizada por meio do Kit cytometric beads array (CBA). E para avaliar a capacidade antioxidante total (CAT) foi utilizado um kit enzimático. Os dados obtidos no estudo foram analisados utilizando o software SPSS versão 19. Para a consistência e cor das fezes foi utilizado o Teste exato de Fisher. Aplicado o Teste-T pareado para análises dos AGCC e CAT. Para o Questionário GSRS e citocinas utilizou-se o Teste de *Wilcoxon* para as variáveis não-paramétricas e Teste *Mann-Whitney* para comparar o efeito entre os tratamentos. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **Resultados:** A bebida à base de FBV apresentou em sua composição alto teor de fibras, amido resistente e compostos fenólicos. Não apresentou efeito significativo na consistência e cor das fezes. No entanto, promoveu aumento do ácido propiônico e redução dos sintomas gastrointestinais. Exerceu também efeito no sistema imunológico com o aumento da interleucina-2 (IL-2) após a intervenção do estudo. Nenhum efeito na CAT foi observado com o consumo do produto desenvolvido. **Conclusão:** A bebida funcional à base de FBV exerce efeito considerável sobre a microbiota intestinal e na IL-2. Entretanto não foi observado nenhum efeito na CAT.

Palavras-chaves: Farinha de banana verde. Cacau. Microbiota intestinal. Interleucinas. Capacidade antioxidante.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of a drink unripe banana flour base (UBF) with cocoa in intestinal microbiota, cytokine levels and total antioxidant capacity in women with overweight and abdominal obesity. **Methodology:** a randomized prospective double-blind clinical trial, conducted from July 2014 to November 2014. The study was conducted with registered volunteers in Nourishing Lives Project, aged 20 to 50 years old. They were randomly divided into two groups of 30 volunteers each. The test group received a milk drink with added UBF and the control group received a milk beverage with the same ingredients, but without addition of UBF. To analyze the effect of drink on intestinal microbiota were evaluated consistency, color, shape and determination of short chain fatty acids (SCFA) in the feces of volunteers. And yet a questionnaire based on Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS). The determination of SCFA was made by high-performance liquid chromatography (HPLC). The quantification of cytokines was performed using the cytometric bead array kit (CBA). And for assessing total antioxidant capacity (TAC) an enzymatic kit was used. Data from the study were analyzed using the SPSS software version 19. For consistency and color of faeces was used Fisher's exact test. Applied the T-Test paired for analysis of SCFA and CAT. For GSRS Questionnaire and cytokines used the Wilcoxon test for variables and non-parametric Mann-Whitney test to compare the effect between treatments. The significance level was set at $p < 0.05$. **Results:** The drink to UBF presented in a high-fiber composition, resistant starch and phenolic compounds. No significant effect on the color and consistency of faeces. However, it promoted increase of propionic acid and reducing gastrointestinal symptoms. Also has influence on the immune system with increased interleukin-2 (IL-2) after the intervention study. No effect on TAC was observed with the consumption of the product developed. **Conclusion:** The functional beverage to UBF base exerts considerable effect on the intestinal microbiota and IL-2. However there was no observable effect on TAC.

Keywords: Unripe banana flour. Cocoa. Intestinal microbiota. Interleukins. Antioxidant capacity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal do pó para o preparo das bebidas desenvolvidas e da FBV.....	41
Tabela 2 – Composição química por porção do pó para o preparo das bebidas desenvolvidas e da FBV	42
Tabela 3 – Concentração de fenólicos totais das bebidas desenvolvidas e da FBV expressa em mg de equivalente de ácido gálico/grama (mg EAG/g)	43
Tabela 4 – Perfil das voluntárias que ingeriram as bebidas até a sexta semana	46
Tabela 5 – Análise da consistência das fezes antes e após a intervenção	47
Tabela 6 – Análise das formas das fezes, segundo Escala de Bristol validada para o Brasil, antes e após a intervenção	47
Tabela 7 – Análise da cor das fezes, antes e após a intervenção	48
Tabela 8 – Determinação dos ácidos graxos de cadeia curta antes e após a intervenção	48
Tabela 9 – Análise do questionário GSRS antes e após a intervenção	50
Tabela 10 – Níveis das citocinas antes e após a intervenção	51
Tabela 11 – Marcadores bioquímicos antes e após a intervenção	52
Tabela 12 – Marcadores antropométricos antes e após a intervenção	53
Tabela 13 – Avaliação da ingestão dos macronutrientes, fibras, vitaminas e minerais antes da intervenção do estudo.....	54
Tabela 14 – Avaliação da ingestão dos macronutrientes, fibras, vitaminas e minerais após a intervenção do estudo.....	56
Tabela 15 – Comparação dos macro e micronutrientes presentes na dieta das voluntárias antes e após a intervenção do estudo	58
Tabela 16 – Perfil das voluntárias que participaram com amostra das fezes	93
Tabela 17 – Perfil das voluntárias que participaram com amostras para análise da capacidade antioxidante total do plasma.....	94
Tabela 18 – Dados bioquímicos das voluntárias que participaram da etapa de caracterização das fezes e determinação dos AGCC	96
Tabela 19 – Marcadores antropométricos antes e após a intervenção das voluntárias que participaram da etapa de caracterização das fezes e determinação dos AGCC ...	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeito da alimentação no desenvolvimento da microbiota intestinal e do peso corporal normal.	15
Figura 2 – Equilíbrio fisiológico do estresse oxidativo	19
Figura 3 – Orientações de armazenamento e preparo diário das bebidas desenvolvidas	31
Figura 4 – Delineamento experimental do estudo	34
Figura 5 – Atividade antioxidante expressa pela porcentagem de sequestro de radicais DPPH (%)	43
Figura 6 – Fluxograma do ensaio clínico, com as três etapas do estudo	45
Figura 7 – Capacidade antioxidante total do plasma antes e após a intervenção	52
Figura 8 – Análise das fezes.	95

LISTA DE ABREVIATURAS

- AGCC** – Ácidos graxos de cadeia curta
- AI** – Adequate Intakes
- AMDR** – Acceptable Macronutrient Distribution Range
- CAT** – Capacidade antioxidante total
- CC** – Circunferência da cintura
- CQ** – Circunferência do quadril
- CT** – Colesterol total
- DP** – Desvio padrão
- DPPH** – 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
- DM** – Diferença das médias
- EAG** – Equivalentes de ácido gálico
- EAR** – Estimated Average Requirement
- ER** – Espécies reativas
- ERN** – Espécies reativas de nitrogênio
- ERO** – Espécies reativas de oxigênio
- FBV** – Farinha de banana verde
- GC** – Gordura corporal
- GLP-1** – Glucagon-like peptide 1
- GSRS** – Gastrointestinal Symptom Rating Scale
- HDL-c** – Lipoproteína de alta densidade
- IFN- α** – Interferon alfa
- IL** – Interleucina
- IL-1** – Interleucina 1
- IL-2** – Interleucina 2
- IL-4** – Interleucina 4
- IL-6** – Interleucina 6
- IL-10** – Interleucina 10
- IL-17** – Interleucina 17
- LDL-c** – Lipoproteína de baixa densidade
- LPS** – Lipopolissacarídeo
- MG** – Massa gorda

MM – Massa magra

NF-kB – Fator nuclear kB

PYY – Peptídeo YY

RCEst – Relação cintura/estatura

RCQ – Relação circunferência/quadril

TAG – Triacilgliceróis

TGF- β – Fator de transformação do crescimento

TNF- α – Fator de necrose tumoral

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	MICROBIOTA INTESTINAL, ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E SEU PAPEL NAS DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS	14
2.2	O PROCESSO INFLAMATÓRIO E CITOCINAS	16
2.3	ESTRESSE OXIDATIVO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	18
2.4	PREBIÓTICOS	20
2.5	AMIDO RESISTENTE	21
2.6	FARINHA DE BANANA VERDE	23
2.7	CACAU	24
2.8	BEBIDAS FUNCIONAIS	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	OBJETIVO GERAL	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	PRODUTO UTILIZADO NO ENSAIO CLÍNICO	28
4.2	AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA FBV E DOS PRODUTOS DESENVOLVIDOS	29
4.2.1	Determinação do teor de amido resistente	29
4.2.2	Determinação da concentração de fenólicos totais	30
4.2.3	Determinação da capacidade antioxidante das bebidas	30
4.3	PRODUÇÃO DAS BEBIDAS PARA O ENSAIO CLÍNICO	30
4.5	ENSAIO CLÍNICO	31
4.5.1	Questões éticas	31
4.5.2	Amostra de participantes	32
4.5.3	Desenho Experimental	33
4.6	MICROBIOTA INTESTINAL	35
4.6.1	Caracterização das fezes	35
4.6.1.1	Coleta de amostra	35
4.6.1.2	Consistência	35

4.6.1.3 Cor	36
4.6.2 Análise dos ácidos graxos de cadeia curta	36
4.6.3 Aplicação do Questionário Gastrointestinal Symptom Rating Scale	37
4.7 ANÁLISE DAS CITOCINAS	37
4.8 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO PLASMA	38
4.9 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	38
4.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	39
4.11 ANÁLISE DO CONSUMO ALIMENTAR	39
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5 RESULTADOS	41
5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS BEBIDAS	41
5.1.2 Teor de Amido Resistente	42
5.1.3 Teor de Compostos fenólicos	42
5.1.4 Capacidade antioxidante das bebidas e da FBV	43
5.2 ENSAIO CLÍNICO	44
5.2.1 Amostras do ensaio clínico	44
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FEZES	47
5.4 DETERMINAÇÃO DOS AGCC	48
5.5 QUESTIONÁRIO GASTROINTESTINAL SYMPTOM RATING SCALE	49
5.6 NÍVEIS DAS CITOCINAS	51
5.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO PLASMA	51
5.8 MARCADORES BIOQUÍMICOS	52
5.9 MARCADORES ANTROPOMÉTRICOS	53
5.10 CONSUMO ALIMENTAR	54
5.10.1 Pré-intervenção	54
5.10.2 Pós-intervenção	55
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICES	89
ANEXOS	98

1 INTRODUÇÃO

A microbiota intestinal, assim como o processo inflamatório e o estresse oxidativo estão sendo amplamente estudados, por estarem relacionados com o excesso de peso, assim como com o desenvolvimento da obesidade e as demais doenças crônicas não-transmissíveis.

Dessa forma, o desenvolvimento de produtos que tenham como objetivo modular esses fatores se faz cada vez mais necessário. O uso de prebióticos e os alimentos funcionais têm sido recomendados, pois estimulam o crescimento de bactérias benéficas, consequentemente diminuem o processo inflamatório e apresentam compostos bioativos que atuam na capacidade antioxidante e ajuda no combate aos radicais livres, sendo importante para a homeostase do organismo.

A farinha de banana verde (FBV) está incluída no grupo dos prebióticos, por possuir alto teor de amido resistente. Ainda possui diversas vitaminas, minerais e compostos bioativos, sendo uma boa fonte de antioxidantes naturais. Tem sido amplamente utilizada e bem aceita no desenvolvimento de novos produtos como pães, biscoitos, barras de cereais, bolos e macarrão.

Apesar do crescente interesse no estudo, ainda há muito poucos relatos sobre o efeito da FBV na microbiota intestinal e estresse oxidativo. E os poucos estudos realizados, foram feitos *in vitro* ou com animais. Assim, são necessários mais estudos ao longo do tempo, sobre os efeitos da FBV em humanos.

No mercado atual, há uma procura por produtos inovadores, pois os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde e buscam por alimentos saudáveis, saborosos e práticos. Assim, o desenvolvimento de bebidas funcionais vem crescendo nos últimos anos consistentemente, pois atinge as expectativas dos consumidores.

Dessa forma, é relevante avaliar o efeito do consumo de uma bebida à base de FBV na microbiota intestinal, nos níveis de citocinas e na capacidade antioxidante em mulheres com sobrepeso e adiposidade abdominal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Este capítulo apresenta o referencial teórico de embasamento para a interpretação dos resultados obtidos.

2.1 MICROBIOTA INTESTINAL, ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E SEU PAPEL NAS DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS

O intestino humano contém diversos gêneros e espécies de bactérias que podem ser benéficas ou prejudiciais ao indivíduo. Estima-se que na microbiota intestinal existam cerca de mil espécies, distribuídas em mais de 50 filos diferentes. Estudos da metagenômica apontam que haja em torno de 3,3 milhões de genes diferentes (LIU et al., 2014; MORAES et al., 2014; QIN et al., 2010). A microbiota dos mamíferos contém quatro filos dominantes: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria e Proteobacteria (BROWN et al., 2012).

A microbiota intestinal saudável forma uma barreira contra os microrganismos invasores. Assim, potencializa os mecanismos de defesa do hospedeiro contra os patógenos, melhora a imunidade intestinal e compete por combustíveis intraluminais, prevenindo o estabelecimento das bactérias patogênicas (ALMEIDA et al., 2009).

Os enterócitos têm a capacidade de reconhecer e distinguir bactérias patogênicas e não patogênicas (BORCHERS et al., 2009). A microbiota intestinal influencia a saúde do hospedeiro por meio de uma variedade de mecanismos, como a ativação da resposta imunitária, a síntese de bacteriocinas, competição nutricional e física com patógenos, manutenção de um ambiente ácido e produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (LIU et al., 2014; MONTALTO; GALLO; GASBARRINI, 2009).

Os AGCC, após a produção no cólon, são rapidamente e quase totalmente absorvidos pelos colonócitos (apenas 5% -10% são excretados nas fezes), onde parte deles é oxidado. Deste modo, os AGCC são substratos energéticos importantes que contribuem para até 70% das necessidades de energia dos colonócitos. O restante dos AGCC é transportado por meio da veia porta ao fígado (BOETS et al., 2015).

Estes ácidos não apresentam importância apenas para o intestino, mas também são moléculas de sinalização, podem entrar na circulação sistêmica e afetar diretamente o

metabolismo ou a função dos tecidos periféricos. Os principais AGCC são o acetato, propionato e o butirato (CANFORA; JOCKEN; BLAACK, 2015).

Autores sugerem que o acetato tem um papel direto na regulação do apetite, pois está associado com a ativação de acetil-CoA carboxilase e alterações nos perfis de neuropeptídeos reguladores que favorecem a expressão da supressão do apetite (FROST et al., 2014). Yamashita et al. (2007) relataram que este ácido reduz a acumulação de lipídios no tecido adiposo, protege contra a acumulação de gordura no fígado e melhora a tolerância a glicose.

O propionato está relacionado com a liberação de peptídeo YY (PYY) e “Glucagon-like peptide-1” (GLP-1), contribuindo assim para o controle de peso (CHAMBERS et al., 2015).

Já o butirato auxilia na melhora da inflamação da mucosa e estresse oxidativo, por meio da modulação de ativação do fator nuclear kB (NF-kB). Este fator de transcrição regula muitos genes celulares envolvidos em respostas inflamatórias imunes iniciais, incluindo interleucina 1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 2 (IL-2) e interleucina 6 (IL-6) (INAN et al., 2000). O ácido butírico é a principal fonte de energia das células intestinais. Além disso, é um importante regulador da proliferação e apoptose dos colonócitos e motilidade gastrointestinal (ZALESKI; BANASZKIEWICZ; WALKOWIAK, 2013).

A alteração dos AGCC e da microbiota pode trazer consequências importantes para os indivíduos. Autores relatam que fatores dietéticos estão relacionados com o reparo e manutenção desse equilíbrio (Figura 1).

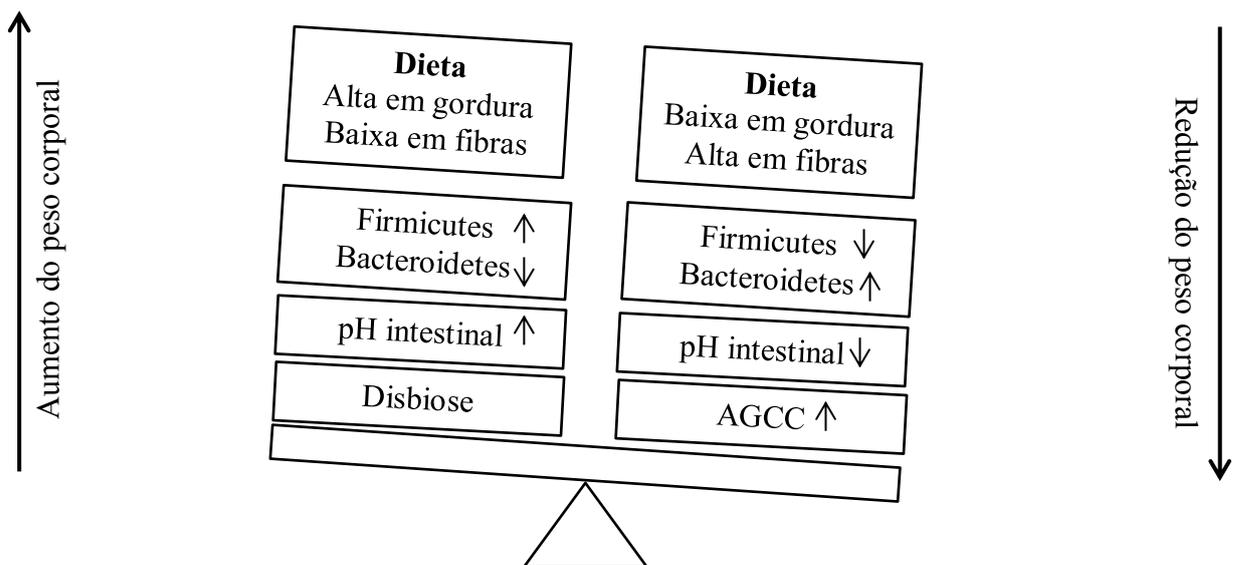


Figura 1 - Efeito da alimentação no desenvolvimento da microbiota intestinal e do peso corporal normal.

Fonte: Adaptado de BARCZYNSKA et al. (2015).

Além dos fatores dietéticos, outros fatores estão relacionados com a variação da composição bacteriana entre os indivíduos. Apesar de grande parte dessa diversidade ainda permanecer inexplicada, a genética do hospedeiro, os hábitos alimentares e o ambiente (antibióticos, envelhecimento, infecção, estresse e tipo de parto) podem estar relacionados. Portanto, vários fatores extrínsecos contribuem para o desenvolvimento da impressão microbiana digital única de cada indivíduo e, como resultado a susceptibilidade a várias doenças (BROWN et al., 2012; HUTTENHOWER et al., 2012).

Estudos têm demonstrado que os microrganismos do intestino estão relacionados com o desenvolvimento da obesidade, doenças cardiovasculares e síndromes metabólicas (CHASSAING et al., 2015; MILLION et al., 2012; PALAU-RODRIGUES et al., 2015).

Um possível mecanismo para o surgimento dessas doenças se deve a um desequilíbrio na microbiota intestinal. Qualquer mudança na composição da comunidade comensal residente comparada à comunidade encontrada em indivíduos saudáveis é denominada de disbiose. Estas alterações podem levar a um aumento da permeabilidade intestinal, resultando numa passagem crescente de lipopolissacarídeo (LPS) para a circulação sistêmica. A subsequente ativação do sistema imunológico, causando uma endotoxemia metabólica, são fatores que desempenham um papel no desenvolvimento de um estado inflamatório crônico de baixo grau, gerando alterações metabólicas (FRAZIER; DiBAISE; MCCLAIN, 2011; SCHIPPA & CONTE, 2014; TEIXEIRA et al., 2012;).

Os métodos indiretos como a determinação dos AGCC, a cor, forma e consistência das fezes são importantes para ajudar avaliar a composição da microbiota intestinal, pois os principais benefícios observados na saúde da microbiota intestinal conferem uma melhoria na qualidade das fezes (SIERRA et al., 2015). Alguns estudos mostram que o uso de prebióticos gera maior frequência e amolecimento das fezes, isso se deve provavelmente a um resultado da estimulação osmótica provocada por AGCC durante a fermentação das fibras por bactérias do cólon (FANARO et al., 2005; VIVATVAKIN et al., 2010).

2.2 O PROCESSO INFLAMATÓRIO E CITOCINAS

A inflamação é uma resposta natural do organismo, ocorre como um resultado da exposição de tecidos e órgãos a estímulos nocivos, tais como agentes patogênicos ou

componentes celulares tóxicos. As principais manifestações físicas da inflamação são o rubor, dor, calor, edema e perda de função da área afetada (TURNER et al., 2014).

A resposta inflamatória inclui a participação de diferentes tipos celulares, tais como neutrófilos, macrófagos, mastócitos, basófilos, plaquetas, células dendríticas, células endoteliais, fibroblastos, entre outras. Geralmente as respostas de defesa são benéficas ao organismo, apresentam como finalidade limitar a sobrevivência e proliferação dos patógenos invasores, promover a sobrevivência do tecido, reparo e recuperação, e conservar a energia do organismo. No entanto, uma inflamação extensiva, prolongada ou não regulada é bastante prejudicial ao organismo (LIMA et al., 2007).

O processo inflamatório é o elo entre as doenças cardiovasculares, a obesidade e as síndromes metabólicas. Portanto, os marcadores de inflamação são alvos potenciais na prevenção ou tratamento dessas doenças (RUBIO-RUIZ et al., 2015; VOLP et al., 2008).

Entre os marcadores de inflamação, podem-se destacar as citocinas. Grupo heterogêneo de proteínas, glicosiladas ou não, que enviam sinais estimulatórios, modulatórios ou mesmo inibitórios para as diversas células do sistema imunológico (VARELLA & FORTE, 2001). Podem agir no local que são produzidas, em células próximas, ou à distância. Iniciam a ação por meio da ligação a receptores específicos, causando alteração da síntese do RNA e de diversas proteínas das células do organismo (KRAYCHETE; CALASANS; VALENTE, 2006).

As citocinas podem receber denominações específicas, que se refere ao tipo celular que as sintetizam e aos seus mecanismos de ação. Se forem produzidas principalmente por fagócitos mononucleares costumam ser chamadas de monocinas, enquanto as produzidas principalmente por linfócitos são linfocinas. Citocinas que agem em outros leucócitos são denominadas interleucinas (IL) (ALVES & RIBEIRO, 2004; VIANNA et al., 2011).

As IL podem ser classificadas como pró ou anti-inflamatórias. Citocinas pró-inflamatórias atraem células imunes, que respondem aos agentes invasores. Entre essas citocinas pode-se destacar a IL-1, IL-2, IL-6, IL-17 e o TNF- α (BERTELLI et al., 2011; HATANKA & CURI, 2007;).

As citocinas anti-inflamatórias incluem a interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10), interferon alfa (IFN- α) e fator de transformação do crescimento (TGF- β) (SPRAGUE & KHALIL, 2009).

Os linfócitos T e os macrófagos são as principais células sintetizadoras de interleucinas, apresentando muitas funções, como a ativação dos linfócitos B, a indução do crescimento e da diferenciação celular, a resposta da fase aguda e inflamação (FERREIRA, 2008).

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

O organismo humano sofre ação constante de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), gerados naturalmente ou por alguma disfunção biológica. As principais espécies ERO distribuem-se em dois grupos, os radicalares: hidroxila (HO^\bullet), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peroxila (ROO^\bullet) e alcoxila (RO^\bullet); e os não-radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso, estes podem facilmente conduzir a reações de radicais livres em organismos vivos. Dentre as ERN incluem-se o óxido nítrico (NO^\bullet), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (POLJSAK & FINK, 2014).

Essas espécies reativas (ER) estão relacionadas na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. Entretanto, seu excesso apresenta efeitos prejudiciais, tais como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Dessa forma, os radicais livres estão relacionados com mais de 50 doenças, tais como artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas, câncer, AIDS e obesidade, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). O estresse oxidativo é um potencial fator desencadeante para o desenvolvimento do processo inflamatório. Esta inflamação crônica de baixo grau está associada com a liberação de citocinas pró-inflamatórias e a migração de macrófagos concomitantes para a zona de inflamação. E, então, um feedback positivo para sinais pró-inflamatórios é perpetuado no tecido que pode estar relacionado para posteriores distúrbios metabólicos (GIUSEPPE et al., 2015).

A modulação do estresse oxidativo pode ser obtida por três maneiras: por meio da redução à exposição a poluentes ambientais que apresentem propriedades oxidantes; baixando a geração de estresse oxidativo, estabilizando a produção e eficiência da energia mitocondrial; ou aumentando os níveis de antioxidantes endógenos e exógenos (Figura 2) (POLJSAK, 2011).

Os antioxidantes podem neutralizar os radicais livres por aceitar ou doar elétrons. Podem reagir diretamente com os radicais reativos e destruí-los; ou podem tornar-se novos radicais livres que são menos ativos, de vida mais longa e menos perigosos do que aqueles radicais neutralizados (LU et al., 2010).

O sistema de defesa antioxidante normalmente, é dividido em enzimático (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e não-enzimático (ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenoides, compostos fenólicos, entre outros) (BARBOSA et al., 2010).

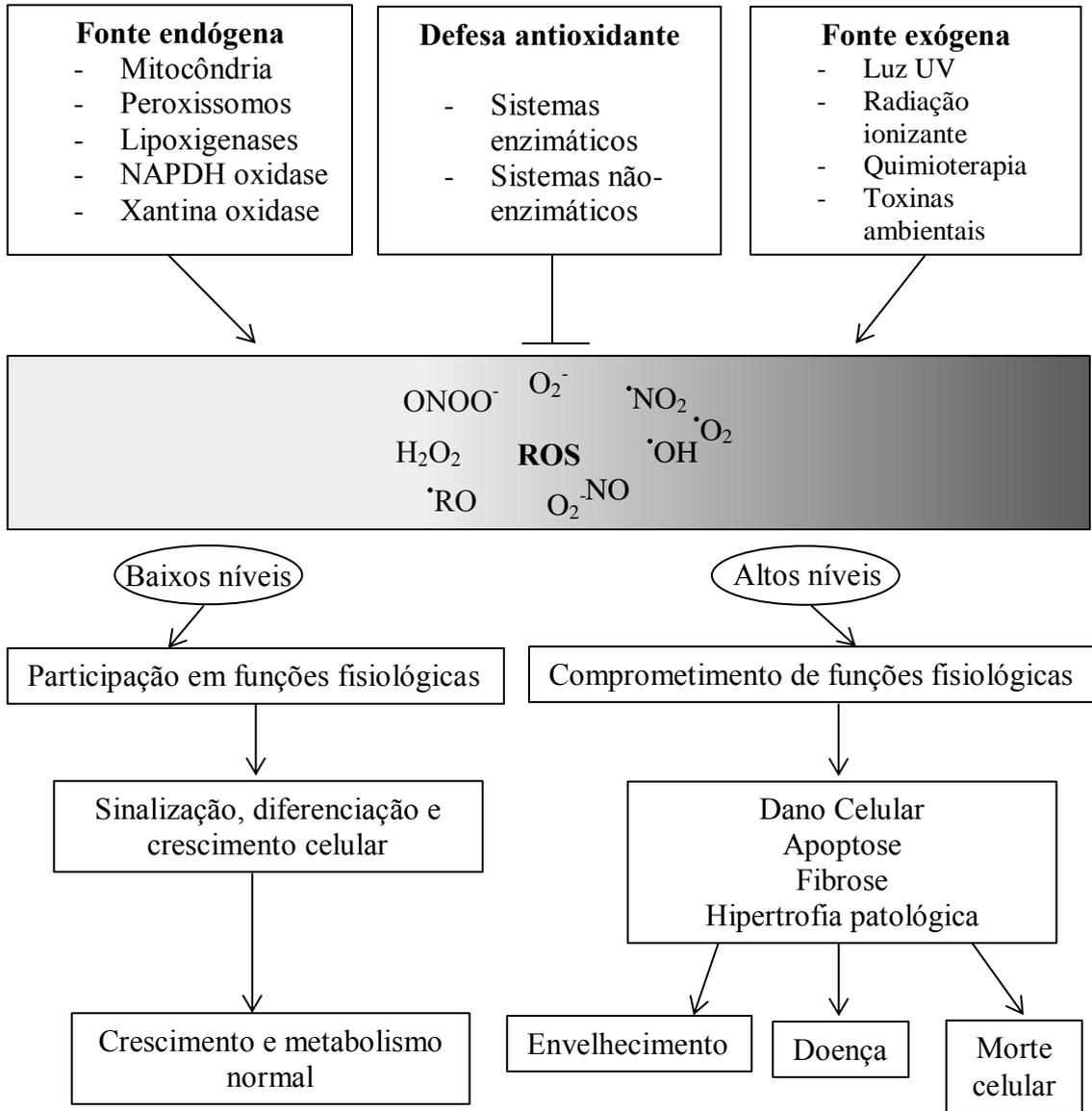


Figura 2 - Equilíbrio fisiológico do estresse oxidativo.
Fonte: Adaptado de Finkel (2000).

A suplementação da dieta com antioxidantes isolados tem se tornado cada vez mais popular. Entretanto, seus mecanismos bioquímicos de proteção contra o estresse oxidativo não são completamente compreendidos e os dados são contraditórios (SADOWSKA-BARTOSZ & BARTOSZ, 2014).

Bjelakovic et al. (2012) analisaram 67 ensaios clínicos randomizados placebo-controlados publicados entre 1975 e 2005 (total = 232.550 participantes), e não encontraram evidências de que os suplementos antioxidantes sejam benéficos na prevenção da mortalidade primária ou secundária. Ainda ressaltaram que o B-caroteno e a vitamina E isolados pareceram aumentar a mortalidade.

Myung et al. (2013) revisaram 2240 artigos e 50 ensaios clínicos randomizados para avaliar os benefícios dos suplementos antioxidantes na prevenção de doenças cardiovasculares e não encontraram nenhuma evidência para apoiar a utilização dos mesmos.

Liu (2004) acredita que as ações dos nutrientes antioxidantes por si só não explica os benefícios à saúde observados em muitos alimentos, como nas frutas e vegetais. Porque ingeridos sozinhos, os antioxidantes individuais não parecem ter efeitos preventivos consistentes. Este mesmo autor ressaltou que os efeitos aditivos e sinérgicos dos fitoquímicos em alimentos integrais são responsáveis por essas potentes atividades antioxidantes e anticancerígenas e que o benefício é atribuído à mistura complexa de fitoquímicos presentes nesses alimentos. Isso explica por que nenhum antioxidante único pode substituir a combinação de fitoquímicos naturais presentes nos alimentos.

Os alimentos, principalmente as frutas e os vegetais, sintetizam uma grande variedade de produtos químicos com propriedades antioxidantes poderosas, e estudos clínicos apoiam que o aumento do consumo destes alimentos tem efeitos benéficos no que diz respeito a vários marcadores de doença cardiovascular (DAMASCENO et al., 2013; GOSZCZ et al., 2015).

2.4 PREBIÓTICOS

Os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro. A ingestão desses ingredientes funcionais pode modular significativamente a microbiota do cólon, aumentando o número de bactérias específicas e, assim, alterar a composição da microflora (BLAUT, 2002; BOUHNİK et al, 1997; GIBSON & ROBERFROID, 1995; KLEESSEN et al., 1997).

Embora todos os prebióticos são considerados fibras, nem todas as fibras são conceituadas como prebióticos. Para um ingrediente alimentar ser classificado dessa forma deve atender aos seguintes critérios: 1) Resistir à acidez gástrica, a hidrólise por enzimas e a absorção no trato gastrointestinal; 2) Ser fermentado pela microbiota intestinal; 3) Estimular o

crescimento e/ou atividade de bactérias intestinais potencialmente associados com a saúde e bem-estar (SLAVIN, 2013).

Os fruto-oligossacarídeos, inulina, oligofrutose, lactulose, galacto-oligossacarídeos, isomalto oligossacarídeos e polissacarídeos (amido modificado e amido resistente) têm sido identificados como prebióticos (OOI & LIONG, 2010).

Os prebióticos além de estimular o crescimento de bactérias benéficas (como os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*), (BIELECKA; BIEDRYCKA; MAJKOWSKA, 2002; BUNSER et al., 2006; GIBSON et al., 2004) proporciona aumento da produção de AGCC, proveniente da fermentação no intestino grosso (CUMMINGS; MACFARLANE, 2002; GIBSON & ROBERFROID, 1995).

Dessa forma, também estão relacionados com a liberação de citocinas inflamatórias. Pois estudos apontam que bifidobactérias inibem a secreção das citocinas pró-inflamatórias (CANDELA et al, 2008; OUWEHAND et al, 2008) e os AGCC, como o butirato, atuam inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e aumenta a liberação de citocinas com ações anti-inflamatórias (VINOLO, 2010).

Van Hoffen et al. (2009) em um estudo randomizado duplo-cego, realizado com crianças, observaram que o uso de prebióticos levou a uma redução significativa no nível de IgE total, IgG1, IgG2 e IgG3, modulou a resposta imune e reduziu o risco do aparecimento de manifestações alérgicas.

Alguns estudos ainda relataram que os prebióticos são eficazes em melhorar o perfil lipídico, incluindo a redução do colesterol total, LDL-colesterol e triglicérides (ABHARI et al., 2015; BRIGHENTI et al., 1999; PARNELL & REIMER, 2010).

2.5 AMIDO RESISTENTE

O amido resistente é a somatória do amido ou de seus produtos de degradação que não são digeridos ou absorvidos no trato digestivo superior. Dessa forma é um bom substrato para a fermentação pela microbiota intestinal, e como consequência aumentar os AGCC e diminuir o pH intestinal (HIGGINS, 2014).

Pode ser classificado em 4 tipos principais (BIRT et al., 2013; LOBO & SILVA, 2003):

Tipo 1: o grânulo de amido é fisicamente inacessível na matriz do alimento. São encontrados nos grãos inteiros ou parcialmente moídos de cereais, leguminosas e outros

materiais contendo amido nos quais o tamanho ou a sua composição impede ou retarda a ação das enzimas digestivas.

Tipo 2: Refere-se aos grânulos de amido nativo, encontrados no interior da célula vegetal. As plantas podem apresentar três tipos de grânulos de amido, dependendo da sua forma e estrutura cristalina. O polimorfo tipo A, é caracterizado por cadeias externas curtas de amilopectina; O tipo B apresenta cadeias externas maiores das moléculas de amilopectina; O tipo C é considerado um intermediário entre os tipos A e B. O amido resistente tipo 2 exibem o polimorfo tipo B ou tipo C. São encontrados, por exemplo, na batata crua ou banana verde, sendo altamente resistentes à hidrólise enzimática.

Tipo 3: É caracterizado por polímeros de amido retrogradado. Como as moléculas de amilose apresenta estruturas lineares, elas têm uma grande tendência para formar duplas hélices, particularmente perto de temperaturas de refrigeração (4-5°C) e com teor de umidade adequado. As duplas hélices do amido não são quebradas pela amilase e, assim, não podem ser digeridas por essa enzima. O reaquecimento reduz o conteúdo deste tipo de amido, mostrando que a retrogradação é um fenômeno reversível. São exemplos de amido resistente tipo 3 o amido cozido e refrigerado (batata e arroz).

Tipo 4: É um amido quimicamente modificado, formados por ligações cruzadas ou por adição de derivados químicos, a fim de impedir o acesso as enzimas digestivas (LOBO & SILVA, 2003; BIRT et al., 2013).

O amido resistente apresenta um grande potencial como prebiótico. Porque quando fermentado pela microbiota colônica, têm demonstrado diversos benefícios, tanto sistêmicos como locais (FUENTES-ZARAGOZA et al, 2011; TOPPING; FUKUSHIMA; BIRD, 2002).

Haenen et al. (2013) investigou os efeitos de uma dieta rica em amido resistente na microbiota intestinal de porcos e concluíram que o amido resistente modula a composição da microbiota e aumenta as concentrações de AGCC. Alguns estudos com humanos também avaliaram esses efeitos do amido resistente e relataram que esse ingrediente funcional apresenta um impacto significativo na saúde do cólon, pois ocorre um aumento do volume fecal e AGCC (CUMMINGS et al, 1996; JEKINS et al., 1998; PHELLIPS et al., 1995; SANTOS, 2010).

Estudos com animais têm demonstrado que o amido resistente também atua, reduzindo os níveis plasmáticos de colesterol, atuando como promotor da redução do risco de doença cardiovascular (CARDENETTTE, 2006; FREITAS, 2001; FUENTES-ZARAGOZA et al., 2010; HAN et al., 2003; PERUCHA, 2005). Há relatos de ação também na redução dos

triglicerídeos e gordura corporal em animais, porém os dados são escassos e controversos (KEENAN et al., 2006).

Os ingredientes funcionais como o amido resistente ocorre naturalmente em muitas plantas e o consumo dessas fontes naturais são de baixo custo. O uso destes produtos melhora a tolerância gastrointestinal e aumenta a ingestão de vitaminas e minerais (MITSOU et al., 2011).

2.6 FARINHA DE BANANA VERDE

A banana é a quarta colheita mais importante em todo o mundo (SASIPRIYA; LINTU MARIA; SIDDHURAJU, 2014). Dessa forma, assume importância econômica e social, sendo cultivada em mais de 80 países tropicais, especialmente por pequenos agricultores (GONÇALVES et al., 2008). No Brasil, é uma das frutas mais consumidas, o que garante emprego e renda para muitos brasileiros (OLIVEIRA; SOUZA, 2003).

A banana possui um elevado valor nutricional, pois se apresenta como uma boa fonte energética e contém vitaminas e sais minerais como potássio, fósforo, cálcio, sódio, magnésio, e outros em menor quantidade. É utilizada amplamente por não apresentar efeitos tóxicos aparentes. E ainda é uma boa fonte de antioxidantes naturais, contém em sua composição compostos bioativos, como flavonoides, ácidos fenólicos e catecolaminas (MOKBEL; HASHINAGA, 2005; SOMEYA; YOSHIKI; OKUBO, 2002). Sua importância está ligada às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo (PEREIRA, 2012).

A produção de farinha de banana verde (FBV) é uma das maneiras de preservar as bananas, obtida por meio de técnicas de processamento baseadas na secagem (BEZERRA et al., 2013). Tem sido utilizada e bem aceita na preparação de diversos produtos como pães, biscoitos e macarrão (AGAMA-ACEVEDO et al., 2009; FASOLIN et al., 2007; JUAREZ-GARCIA et al., 2006).

A FBV possui alta concentração de amido resistente, cujos valores variam em média de 10% a 40% (PEREIRA, 2007; RAMOS; LEONEL; LEONEL, 2009; SANTOS, 2010).

A presença do amido resistente contribui para a redução do índice glicêmico da FBV, proporcionando uma menor resposta glicêmica e, conseqüentemente, uma menor liberação de insulina, auxiliando na prevenção e tratamento do DM2 (FUENTES-ZARAGOZA et al., 2010; HAUB et al., 2010; MOREIRA et al., 2011). A inibição da resposta glicêmica

exacerbada contribui para menor exposição das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) à glicosilação, o que as tornariam mais lesivas ao endotélio. Da mesma forma, a redução da resposta insulinêmica também é considerada um fator protetor, pois a elevação da insulina predispõe ao desenvolvimento de DM2, dislipidemias, hipertensão arterial e disfunção endotelial, promovendo o incremento das doenças cardiovasculares (CARVALHO; ALFENAS, 2008; MOREIRA et al., 2011).

Alguns estudos têm relatado que o amido resistente da polpa da banana verde tem sido utilizado em humanos para tratamento de diarreia aguda e crônica tanto em hospitais como no tratamento domiciliar e têm apresentado resultados importantes e mais rápidos que o tratamento convencional (RABBANI et al., 2009; RABBANI et al., 2010; ZANDONADI, 2009).

Negrini et al. (2013), avaliou o funcionamento intestinal após consumo regular da FBV, e encontrou uma melhora significativa na consistência das fezes e redução de dores abdominais e de sensação de esvaziamento incompleto do intestino no final da intervenção.

2.7 CACAU

O cacau (*Theobroma cacao*) é um fruto extremamente popular, pois a partir de suas sementes é obtido o chocolate, um dos alimentos mais conhecidos e apreciados em todo o mundo (EFRAIM et al., 2010). A origem do cacau remonta a mais de três mil anos, era utilizado para fins nutricionais e medicinais pelas civilizações maias e astecas (SCAPAGNINI et al., 2014). O fruto é cultivado na África Ocidental, América Central, Extremo Oriente e na América do Sul (BORDIGA et al., 2015).

Na década de 70, o Brasil ocupava o posto de segundo maior produtor de cacau do mundo. Após a entrada de um fungo popularmente conhecido como “vassoura de bruxa”, o país despencou no *ranking* da produção mundial. Após anos de estudos e pesquisas sobre a melhor forma de manejar a lavoura, o país tem recuperado e atualmente ocupa a sexta posição. A Bahia ainda é o maior produtor de cacau no Brasil, seguido por Pará, Rondônia e Espírito Santo (SEBRAE, 2014).

Estudos têm associado vários efeitos benéficos à saúde com o consumo de produtos do cacau. Pode-se destacar a melhora da sensibilidade à insulina, função vascular, redução da pressão arterial, melhora do humor, no desempenho cognitivo, efeitos anti-inflamatórios e

neuroprotetores (GRASSI et al., 2008; FLAMMER et al., 2012; LAMPORT et al., 2015; MARTIN et al., 2009).

Os efeitos deste fruto são atribuídos aos seus compostos bioativos. O cacau contém alto teor de flavonoides. Dependendo das origens geográficas, o teor de polifenóis totais pode variar de 40,0 mg EAG/g (EAG; equivalentes de ácido gálico) para 84,2 mg EAG/g (KHAN et al., 2014).

Três grupos de polifenóis podem ser identificados nos grãos de cacau: catequinas, que constituem cerca de 37% do teor de polifenóis, antocianidinas (cerca de 4%), e proantocianidinas (cerca de 58%). Das catequinas, (-) - epicatequina é a mais abundante (até 35%), enquanto (+) - catequina, (+) - galocatequina, e (-) - epigalocatequina estão presentes em menores quantidades (ANDÚJAR et al., 2012).

2.8 BEBIDAS FUNCIONAIS

Leite e produtos lácteos são importantes componentes de uma dieta saudável, e seu consumo é recomendado por inúmeros guias alimentares e organizações profissionais (REHM; DREWNOWSKI; MONSIVAIS, 2015). Este alimento é rico em minerais (cálcio, potássio e magnésio), proteínas (caseína e soro de leite), e vitaminas (riboflavina e vitamina B-12) (SOEDAMAH-MUTHU et al., 2011). Dessa forma, exerce vários benefícios à saúde, os quais foram apreciados desde a Idade Média. Desempenha um papel importante na nutrição humana, abrangendo toda a faixa etária de crianças a idosos, especialmente nos países ocidentais, mas também cada vez mais na Ásia e África (ZHENG et al., 2015).

O leite é um componente presente na dieta de seis bilhões de pessoas. A produção mundial de leite atinge 730 milhões de toneladas ao ano. Além do leite, vários produtos lácteos, como creme, manteiga, iogurte, kefir e queijo foram produzidos e consumidos em todo o mundo por milênios. Portanto, o impacto do leite e produtos lácteos na saúde humana é quantitativamente relevante e tem sido objeto de várias investigações e desenvolvimento de novos produtos (VISIOLI & STRATA, 2014).

As bebidas lácteas apresentaram um crescimento de 2,5% entre 2008 e 2011, sendo a América Latina responsável por 0,8% do total registrado. Quando se analisa a quantidade de pedidos de patentes entre os países da América do Sul, verifica-se que o Brasil foi o segundo maior depositante, sendo a maioria relacionada à pro e prebióticos (PIRES et al., 2015).

A demanda dos consumidores por alimentos funcionais impulsionou a expansão de produtos como iogurtes líquidos e outras bebidas lácteas. Esse crescimento é influenciado pela conveniência, praticidade, saúde e segurança. Dessa forma, têm se intensificado as pesquisas relacionadas às bebidas funcionais (THAMER & PENNA, 2006).

Muitas bebidas funcionais foram desenvolvidas para proporcionar diversos benefícios à saúde, como promoção da saúde vascular, melhora da imunidade e da digestão, e aumento da energia. Os produtos são frequentemente adaptados para determinados mercados-alvo, de acordo com idade e sexo, com um foco crescente em crianças, mulheres e idosos (KREGIEL, 2015).

Alguns estudos desenvolveram bebidas funcionais, com características prebióticas e obtiveram boa aceitabilidade (BARROSO & RUBERT, 2011; BORTOLOZO & QUADROS, 2007; SILVEIRA et al., 2008).

3 OBJETIVOS

Este capítulo apresenta o objetivo geral e os objetivos específicos do trabalho.

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de uma bebida funcional à base de farinha de banana verde na microbiota intestinal, níveis de citocinas e capacidade antioxidante total em mulheres com sobrepeso e adiposidade abdominal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar o teor de fibras, amido resistente e compostos fenólicos presentes na bebida à base de FBV;
- b) Avaliar o efeito da bebida à base de FBV na consistência e cor das fezes;
- c) Avaliar o efeito do consumo regular de bebida à base de FBV nos AGCC;
- d) Avaliar o efeito da bebida à base de FBV nos sintomas gastrointestinais;
- e) Avaliar o efeito da bebida à base de FBV nos níveis de citocinas;
- f) Avaliar o efeito da bebida à base de FBV sobre a capacidade antioxidante total no plasma;
- g) Avaliar o efeito do consumo das bebidas no perfil bioquímico de lipídios;
- h) Avaliar o efeito da ingestão das bebidas no controle de peso e composição corporal;
- i) Avaliar alterações no consumo alimentar das voluntárias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este capítulo aborda as etapas e os materiais e métodos utilizados no estudo. A primeira etapa do estudo consta com a produção das bebidas utilizadas para o ensaio clínico e a composição centesimal das mesmas. A segunda etapa consta com o ensaio clínico, seguido das análises da caracterização das fezes, determinação dos AGCC, aplicação do questionário para avaliar os sintomas gastrointestinais, análise das citocinas, análise da capacidade antioxidante total do plasma, análise dos parâmetros antropométricos e bioquímicos e análise da alteração do consumo alimentar das voluntárias.

4.1 PRODUTO UTILIZADO NO ENSAIO CLÍNICO

Os produtos utilizados no ensaio clínico já haviam sido desenvolvidos anteriormente pelo grupo da pesquisa (LOMEU, 2015). Para a elaboração das bebidas utilizou-se: leite em pó integral da marca Indulac, FBV (Relva Verde Produtos Naturais, Londrina - PR), sucralose (Línea – Nova Sagra Food Service, Contagem - MG), goma xantana (Importada da China pela Nutrifarm, São Paulo - SP) e cacau em pó (Armazém São Vitto Comércio de Produtos Alimentícios, São Paulo - SP). A bebida desenvolvida no Grupo Controle continha todos os ingredientes do Grupo teste, exceto a FBV. As quantidades dos ingredientes não podem ser reveladas, por causa de registro de patente do produto desenvolvido.

O grupo de pesquisa, já havia realizado as análises microbiológica e sensorial das bebidas desenvolvidas (LOMEU, 2015). Em relação à análise microbiológica foram realizadas análises da farinha de banana verde, do pó para a bebida funcional a base de FBV (bebida teste) e do pó para a bebida funcional sem a FBV (bebida controle). A pesquisa microbiológica consistiu da contagem de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Cereus*, bolores e leveduras, coliformes a 45°C/g e presença de *Salmonella* sp. (ANEXO A). E a análise sensorial foi realizada com 88 voluntários da comunidade universitária da UNIFAL-MG, com idades entre 20 e 50 anos, no Laboratório de Avaliação Sensorial da FANUT, em cabines individuais (ANEXO B).

4.2 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA FBV E DOS PRODUTOS DESENVOLVIDOS

A FBV e o pó para preparo da bebida à base de FBV (bebida teste) e o pó para o preparo da bebida do grupo controle (bebida controle) foram submetidos à avaliação da composição química.

O conteúdo de lipídios totais foi determinado por extração utilizando o aparelho extrator de Soxhlet. As proteínas totais foram determinadas pelo método de Kjeldhal (AOAC, 2000).

Os teores de fibra alimentar total e frações solúvel e insolúvel foram determinados pelo método enzimático-gravimétrico (AOAC, 2000), utilizando-se para a hidrólise enzimática a amilase termo resistente, protease e amiloglicosidase. A fibra solúvel foi calculada pela diferença entre fibra alimentar total e fibra insolúvel.

O teor de umidade foi realizado segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005). O teor de cinzas foi determinado pela diferença de peso antes e após a calcinação (AOAC, 2000).

O conteúdo de carboidratos foi determinado por diferença percentual entre os teores de proteínas, lipídios, umidade, cinzas e fibras totais (AOAC, 2000).

As análises para determinação do conteúdo de umidade, cinzas, proteínas foram realizadas em triplicata; as análises para lipídeos e fibras foram realizadas em duplicata.

4.2.1 Determinação do teor de amido resistente

A determinação do teor de amido resistente na FBV e no produto desenvolvido para o grupo teste foi realizada pelo método direto AOAC (2002.02), por meio do kit comercial Resistant Starch Assay Kit (Megazyme K-RSTAR 08/11).

4.2.2 Determinação da concentração de fenólicos totais

A concentração de fenólicos totais na FBV e no produto desenvolvido para o grupo teste foi determinada em triplicata de acordo com metodologia descrita por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. A leitura da absorbância em 726 nm foi feita em equipamento para ELISA (Thermo Scientific[®], modelo Multiskan GO). Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico, utilizando-se a equação de regressão a partir de uma curva padrão de ácido gálico com concentrações variando de 0 a 250 ppm.

4.2.3 Determinação da capacidade antioxidante das bebidas

A atividade antioxidante foi determinada em triplicata por meio da capacidade antioxidante presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) (YEN et al., 2005). Foi preparada uma solução metanólica de DPPH, de forma a apresentar absorbância em 517 nm. As leituras das absorbâncias foram realizadas após 30 min de reação. A capacidade em sequestrar o radical foi expressa em percentual, calculada de acordo com a expressão abaixo:

$$\% \text{sequestro} = \frac{[1 - (\text{Absorbância da amostra} - \text{Absorbância do branco})]}{\text{Absorbância do controle}} \times 100$$

4.3 PRODUÇÃO DAS BEBIDAS PARA O ENSAIO CLÍNICO

Para o ensaio clínico, as duas bebidas foram produzidas, porcionadas, embaladas e identificadas, quinzenalmente, no Laboratório de Técnica Dietética FANUT, de acordo com as boas práticas de fabricação e manipulação de alimentos.

As pesagens de FBV e leite em pó integral foram realizadas em balança eletrônica de mesa, capacidade máxima 30 kg e mínima de 40 gramas, precisão de 2g. Já os ingredientes

cacau em pó, sucralose e goma xantana foram pesados em balança semi-analítica Marte, modelo AL 500C, precisão de 0,001g. Nesta mesma balança foram porcionadas as doses diárias das bebidas entregues às voluntárias. Os produtos foram selados em seladora manual com pedal.

Cada embalagem semanal do produto era acompanhada das instruções de preparo e armazenamento conforme Figura 3.

<p>PÓ PARA PREPARO DE SHAKE Sabor Chocolate / Contém Leite</p> <p>Conservar em geladeira, ao abrigo da luz.</p> <p>Modo de Preparo:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Colocar no liquidificador 150 ml de água filtrada e adicionar todo o conteúdo de uma embalagem individualizada de pó para preparo do shake. 2. Bater no liquidificador por 2 minutos, observando para que não fique pó sem misturar nas bordas. 3. Beber todo o shake produzido em uma única refeição. <p><u>Sugestão de consumo:</u> ingerir no café da manhã, complementando com outros alimentos, se julgar necessário. Usar água na temperatura de fria para gelada.</p>

Figura 3 - Orientações de armazenamento e preparo diário das bebidas desenvolvidas.

Fonte: Do autor.

4.5 ENSAIO CLÍNICO

Este capítulo aborda o ensaio clínico, questões éticas do estudo, critérios de inclusão e exclusão e delineamento experimental.

4.5.1 Questões éticas

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética, nº 778.562 (APÊNDICE A). Todos os voluntários foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo e só participaram do mesmo após a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE B). O estudo foi acompanhado pelo médico do CIAS, Dr. Evandro Monteiro de Sá Magalhães.

4.5.2 Amostra de participantes

O estudo foi conduzido com voluntárias cadastradas no Projeto Nutrir Vidas, integrante do Programa de Qualidade de Vida do Servidor da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG, aberto à participação de toda a comunidade universitária (servidores, funcionários terceirizados e alunos). Foi realizado em parceria com a Faculdade de Nutrição (FANUT) e o Centro Integrado de Atenção à Saúde do Servidor (CIAS).

O dimensionamento amostral de 30 indivíduos por grupo foi realizado conforme descrito por Hulley et al. (2008), com nível de confiança da ordem de 95% e margens absolutas de erro de 5%.

Os indivíduos participantes foram orientados a não iniciar ou alterar a prática de exercícios físicos ou programas de dieta durante o período do estudo, bem como não ingerir esteroides, anti-inflamatórios, polivitamínicos e antioxidantes durante o estudo.

Os critérios de inclusão foram:

- a) mulheres, com idade entre 20 e 50 anos;
- b) índice de massa corporal maior ou igual a 25 kg/m² e menor que 35 kg/m²;
- c) circunferência da cintura maior ou igual a 80 cm (XAVIER et al., 2013).

E os critérios de exclusão foram:

- a) diagnóstico de doenças autoimunes, endócrinas, cardíacas, cerebrovasculares, renais, hepáticas, gota, gastrointestinais, inflamatórias e/ou infecciosas;
- b) medicação instável nos últimos seis meses;
- c) ter feito uso de insulina no último ano;
- d) ter feito uso de hipolipemiantes nos últimos seis meses;
- e) ter feito uso de imunossupressor nos últimos cinco anos;
- f) ter feito uso de suplementos dietéticos, laxantes e antibióticos nos últimos seis meses;
- g) ter passado por procedimento cirúrgico nos últimos seis meses;
- h) fazer uso de probióticos;
- i) ter participado de programa de perda de peso nos últimos seis meses;
- j) estar em uso de remédios ou preparações a base de plantas que possam alterar o peso (diuréticos, antiobesidade, antidepressivos, glicocorticoides);
- k) apresentar reações alérgicas aos componentes da bebida.

4.5.3 Desenho Experimental

Trata-se de um ensaio clínico prospectivo randomizado duplo-cego. Os indivíduos foram distribuídos randomicamente em dois grupos de 30 voluntários cada. O Grupo Teste recebeu uma bebida funcional com adição de FBV e o Grupo Controle recebeu uma bebida funcional com os mesmos ingredientes, porém sem adição de FBV. O estudo apresentou duração de seis semanas.

Primeiramente, foi realizada a divulgação do estudo na Sede e nos três campus da UNIFAL-MG, em todos os setores e unidades acadêmicas, pessoalmente com material impresso e por meios de divulgação eletrônica como e-mails e redes sociais.

O estudo apresentou as seguintes etapas (Figura 4):

1ª Etapa – Recrutamento: os voluntários interessados em participar do estudo agendaram uma avaliação de triagem, quando foram verificados os critérios de inclusão e exclusão; quando o indivíduo preenchia os critérios de elegibilidade, era esclarecido as informações do estudo constantes no TCLE e, em caso de concordância, era feita a assinatura do mesmo. Em seguida foi realizada a coleta de dados pessoais, avaliação do perfil de atividade física e ingestão alimentar habitual. Neste momento foram entregues ao voluntário os formulários para preenchimento do Registro Alimentar. Foram entregues também os protocolos para coleta da amostra das fezes, bem como o pedido médico para a coleta do exame de sangue.

2ª Etapa – Baseline: Foi realizada no máximo cinco dias após o recrutamento. Os voluntários compareceram no Laboratório Central de Análises Clínicas “Professor Afrânio Caiafa de Mesquita” (LACEN – UNIFAL-MG) no dia previamente agendado. Após a realização dos exames, foram entregues os Registros Alimentares devidamente preenchidos. Cada pessoa recebeu os produtos do estudo correspondentes a sete dias de uso, bem como foram orientadas a anotar sinais e sintomas relacionados ao consumo da farinha que porventura viessem a ocorrer, bem como alterações no hábito intestinal, na prática de atividade física e na alimentação. Foi aplicado o Questionário baseado no Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) e coletado a primeira amostra de fezes.

3ª Etapa – Acompanhamento: Os indivíduos compareceram semanalmente no Laboratório de Avaliação Nutricional da FANUT para retirar o suplemento utilizado nas semanas seguintes, repetindo este procedimento durante as 06 semanas de estudo. Este

momento foi oportuno para verificar a adesão à suplementação e esclarecer possíveis dúvidas e dificuldades (APÊNDICE C).

4ª Etapa – Avaliação final: Após 06 semanas completas de ingestão do produto, foram realizadas novamente o Questionário baseado no GSRS. Foram entregues os protocolos para a coleta do sangue, bem como novo pedido médico dos mesmos com seu respectivo agendamento de realização para no máximo três dias após a ingestão da última dose da 6ª semana. Foram dadas as instruções para a coleta da amostra das fezes. Da mesma forma que na segunda etapa, após comparecerem no LACEN para colher as amostras de sangue, foram dirigidos ao Laboratório de Avaliação Nutricional para a entrega dos registros alimentares da semana anterior.

Ao término do estudo, foi disponibilizado a eles acompanhamento médico e nutricional no CIAS e FANUT, respectivamente, até a regularização das condições de saúde de todos os voluntários que assim o desejarem.

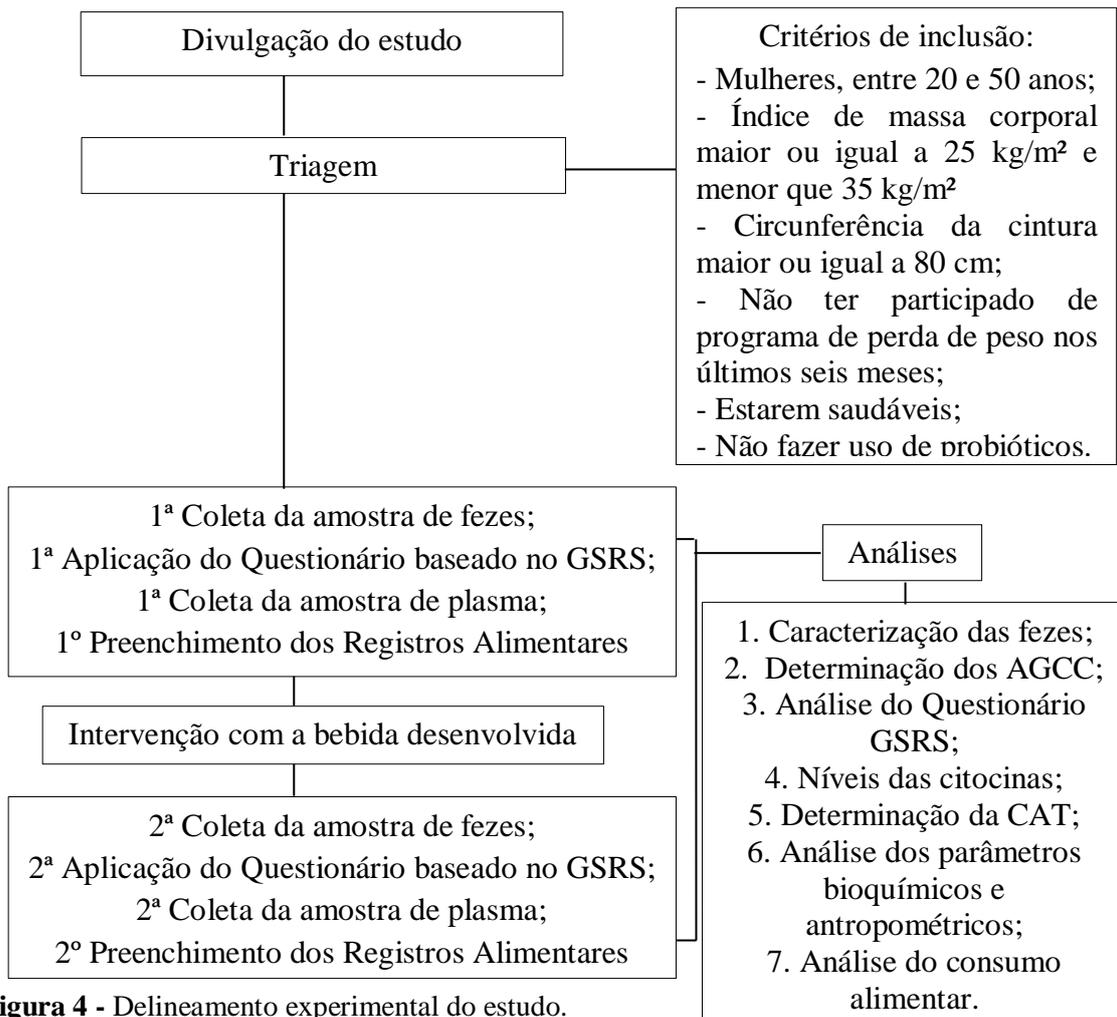


Figura 4 - Delineamento experimental do estudo.

Fonte: Do autor

4.6 MICROBIOTA INTESTINAL

Este capítulo aborda a caracterização das fezes, a análise dos AGCC e aplicação do questionário GSRS.

4.6.1 Caracterização das fezes

Este tópico aborda a consistência, forma e cor das fezes.

4.6.1.1 Coleta de amostra

Os indivíduos foram instruídos a coletar uma pequena parte de suas fezes frescas (aproximadamente 10g) em um copo de amostra selado esterilizado. Estas amostras de fezes foram rotuladas como linha de base (semana 0). Após o período de intervenção as amostras de fezes foram novamente coletadas e rotuladas como semana 6.

4.6.1.2 Consistência

A consistência das fezes foi avaliada através de um sistema de pontuação como descrito por Canani et al. (2007), as fezes foram classificadas como 1 (normal), 2 (moles), 3 (semi-líquidas), 4 (líquidas). E também foi utilizada a Escala de Bristol validada para o Brasil (Martinez & Azevedo, 2012) como outro método de classificação das características das fezes (ANEXO C).

4.6.1.3 Cor

A coloração foi determinada por meio de observação macroscópica e classificada como castanho escuro, castanho claro, amarelada, fezes descoradas, preta, vermelha ou esverdeada (SILVEIRA JÚNIOR, 1988).

4.6.2 Análise dos ácidos graxos de cadeia curta

O conteúdo de AGCC foi determinado de acordo com Smiricky-Tjardes e colaboradores (2003), com algumas modificações. Resumidamente, a amostra fecal (500 mg) foi armazenada a -80°C até à análise. No momento da extração de ácidos graxos de cadeia curta foi adicionado 900 μl de ácido meta-fosfórico a 25% no tubo de eppendorf. Em seguida, a amostra foi agitada em um vortex e mantida em repouso por 30 minutos a temperatura ambiente. A solução fecal foi centrifugada a 17720G, durante 30 minutos a 4°C e o sobrenadante foi transferido para outro eppendorf. Foi adicionado 400 μl de ácido meta-fosfórico a 25% e a solução fecal foi centrifugada novamente a 17.720g durante 20 min a 4°C . Por fim, esta solução foi filtrada em membrana de 0,45 μl e o sobrenadante correspondente de cada amostra foi transferido para vials individuais.

As análises por HPLC foram efetuadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu. Foi utilizado um detector ultravioleta, à temperatura de 32°C , com um fluxo de 0,6 ml/min, coluna C_{18} (30 x 7,9 mm). O comprimento de onda foi fixado em 210 nm.

Para preparo da fase móvel foi utilizada água ultra pura e ácido fosfórico 1% ultra filtrado. Os padrões utilizados foram o ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico do Sigma®.

4.6.3 Aplicação do Questionário Gastrointestinal Symptom Rating Scale

Também foi utilizado um questionário baseado no Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) – composto por 15 questões que abordam sintomas gastrintestinais (ANEXO D). Apresentando uma escala do tipo *Likert*, onde 0 significa ausência de sintomas e 3 significa extremo grau do sintoma. A escala pode ser agrupada em blocos, como dor abdominal, refluxo, diarreia, constipação e indigestão. (SVEDLUND; SJODIN; DOTEVALL, 1988). Esse questionário foi aplicado nas semanas 0 e 6.

4.7 ANÁLISE DAS CITOCINAS

Para esta finalidade, durante a coleta de sangue, uma alíquota de 1 ml do plasma de cada voluntário foi armazenada a -80°C até o momento das análises. A centrífuga utilizada para a separação do plasma foi a Sigma 3K15[®]. O tempo de centrifugação foi 15 minutos a 3000 rpm, em uma temperatura de 4°C .

A quantificação das citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no plasma das voluntárias foram realizados por meio do Kit cytometric beads array (CBA) da marca BD[®] (CA, USA). Seis populações de beads com distintas intensidades de fluorescência foram conjugadas com um anticorpo de captura específico para cada citocina, que foram misturadas para formar o CBA. As populações de beads foram visualizadas de acordo com as suas respectivas intensidades de fluorescência: da menos brilhante para a mais brilhante. No CBA, as beads de captura das citocinas foram misturadas com o anticorpo de detecção conjugado com o fluorocromo PE, e depois incubadas com as amostras para formar o ensaio "em sanduíche". Os tubos de ensaio utilizados na análise foram preparados com 50 μL de amostra, 50 μL da mistura de beads e 50 μL do reagente de detecção. O mesmo procedimento foi realizado para a obtenção da curva-padrão. Os tubos foram homogeneizados e incubados por três horas, em temperatura ambiente, no escuro e lidas no canal FL3 do citômetro de fluxo FACScalibur (BD[®]). Os resultados foram obtidos com auxílio do software CellQuest (BD[®]).

4.8 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO PLASMA

Durante a coleta de sangue, uma alíquota de 1 ml do plasma de cada voluntário também foi armazenada a -80°C até o momento das análises. A centrifuga e o tempo de centrifugação utilizado para a separação do plasma foram os mesmos usados para a análise das citocinas.

As análises foram realizadas por meio de um kit enzimático Sigma (Sigma-Aldrich). O kit fornece todos os reagentes necessários para medir a eficiência da capacidade antioxidante total do plasma. O ensaio é baseado na capacidade de antioxidantes presentes na amostra para inibir a oxidação do radical ABTS (2,2' – azino-bis) (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) a ABTS- pela metamioglobina. A quantidade de ABTS- produzida pode ser monitorada por meio da leitura da absorvância a 750 ou 405 nm. Nessas condições, os antioxidantes presentes provocam uma supressão na absorvância em 750 nm ou 405 nm de forma proporcional à sua concentração na amostra. A capacidade dos antioxidantes presentes na amostra para evitar a oxidação de ABTS é comparado com o Trolox, análogo hidrossolúvel da vitamina E.

Os resultados são expressos em milimolar equivalentes de Trolox. O Trolox é utilizado como controle positivo, em razão da sua comprovada elevada capacidade antioxidante.

4.9 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

A coleta do sangue e as dosagens de colesterol total, LDL-c, HDL-c, VLDL-c e triglicerídeos foram realizadas no LACEN – UNIFAL-MG. Os níveis plasmáticos de colesterol foram analisados nas amostras de sangue, sendo colesterol total pelo método enzimático colorimétrico automatizado, HDL colesterol pelo método direto automatizado e triglicérides por meio do método cinético enzimático automatizado. Os níveis sanguíneos de LDL-c e VLDL-c foram obtidos por cálculo, utilizando-se a fórmula de Friedewald, Levi e Fredrickson (1972): $LDL-c = CT - HDL-c - (TG/5)$, para amostras com níveis de triglicerídeos inferiores a 400 mg/dL.

4.10 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

As medidas antropométricas foram aferidas conforme Duarte (2007). As voluntárias foram orientadas a retirar calçados, meias, blusas de frios, adornos (brincos, colares, alianças, anéis, relógios, prendedores de cabelos), carteiras e bonés. Foram orientadas previamente a comparecer com roupas leves, preferencialmente biquínis.

O peso corporal foi avaliado por meio de balança de plataforma eletrônica digital portátil, calibrada pelo INMETRO, marca Kratos (capacidade máxima de 150 kg, mínima de 1,25 kg e precisão de 50 g). A altura foi aferida no estadiômetro portátil Altorexata (alcance máximo de 213 cm e precisão de 1 mm). As circunferências corporais (quadril, cintura e braquial) foram obtidas utilizando-se fita métrica inelástica e inextensível, 1 mm, para comparação de seus valores absolutos.

Foram utilizados os pontos de corte preconizados pela OMS (2000) para classificação do estado nutricional, segundo o IMC.

As medidas de bioimpedância (BIA) foram realizadas por meio do aparelho tetrapolar RJL Systems Quantum BIA-101Q, com a voluntária em decúbito dorsal.

Antes da realização da BIA, para evitar que a alteração do estado de hidratação do indivíduo interferisse nos resultados, o seguinte preparo foi solicitado: jejum de no mínimo 2 horas (em caso de grandes refeições), não consumir bebida alcoólica 48 horas antes do teste, não praticar atividade física extenuante 72 horas antes, urinar pelo menos 30 minutos antes, permanecer de 5 a 10 minutos em decúbito dorsal e não utilizar diuréticos nos sete dias que antecediam o teste.

4.11 ANÁLISE DO CONSUMO ALIMENTAR

O inquérito de consumo alimentar foi realizado por meio do Registro Alimentar. As voluntárias preencheram três dias antes de iniciar a intervenção, e também três dias durante a última semana do consumo da bebida desenvolvida no estudo. Nos dois momentos foram recomendadas as voluntárias em preencherem dois dias durante a semana e um dia durante o final de semana.

A análise da composição nutricional da dieta de cada participante foi feita no Software Avanutri® *Revolution*, versão 4.0. A partir da mensuração do consumo dos nutrientes, os dados obtidos foram comparados aos valores propostos pelas *Dietary Reference Intakes* (DRI'S) (PADOVANI et al., 2006).

Foi realizado o cálculo da “adequação aparente” dos micronutrientes, utilizou-se uma abordagem estatística que permite estimar o grau de confiança com o qual a ingestão do nutriente alcança a necessidade do indivíduo. Essa abordagem compara a diferença entre a ingestão relatada (a melhor estimativa da ingestão habitual) e a *Estimated Average Requirement* (EAR). O resultado é um escore Z pelo qual é determinada a probabilidade da dieta estar adequada. Considerou-se “ingestão aparente” individual adequada quando a probabilidade era maior que 70%. Quando somente o valor de *Adequate Intakes* (AI) estava disponível, inviabilizou o cálculo do nível de confiabilidade de adequação, por isso, foi determinado quantitativamente se a ingestão habitual estava acima ou abaixo da AI (COZZOLINO & COLLI, 2001; MURPHY & BARR, 2011).

Para avaliar os macronutrientes foram utilizados os valores de referência do *Acceptable Macronutrient Distribution Range* (AMDR).

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos no estudo foram analisados utilizando o software SPSS versão 19. Para análise dos fenólicos totais e capacidade antioxidante das bebidas aplicou-se ANOVA e teste de Tukey. Para a consistência e cor das fezes foi utilizado o Teste exato de Fisher. Foi aplicado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para AGCC, capacidade antioxidante total do plasma, dados bioquímicos, antropométricos, perfil dos participantes, variáveis do questionário GSRS, citocinas e análise do consumo alimentar. Foi utilizado o *Teste-T* pareado para análises dos AGCC, capacidade antioxidante total do plasma, dados bioquímicos e antropométricos. O *Teste t de Student* foi utilizado para comparação do efeito entre os tratamentos. Para o perfil dos participantes, questionário GSRS, citocinas e análise do consumo alimentar utilizou-se o Teste de *Wilcoxon* para as variáveis não-paramétricas e *Teste Mann-Whitney* para comparar o efeito entre os tratamentos. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Este capítulo aborda os resultados encontrados no estudo.

5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS BEBIDAS

A FBV e a bebida teste apresentaram alto teor de carboidratos e fibras; e a bebida controle maior quantidade de proteínas e lipídeos totais (Tabela 1). As bebidas apresentaram praticamente o mesmo valor calórico (Tabela 2).

Tabela 1 - Composição centesimal do pó para o preparo das bebidas desenvolvidas e da FBV.

Variáveis	Pó da bebida Controle	Pó da bebida Teste	FBV
Valor energético (kcal.100 ⁻¹)	467,96 ± 0,96	393,23 ± 1,88	333,47 ± 0,94
Carboidratos totais (g.100 ⁻¹)	28,54 ± 0,95	57,71 ± 0,40	78,87 ± 2,82
Proteínas (g.100 ⁻¹)	20,79 ± 0,82	10,15 ± 0,15	3,04 ± 0,11
Lipídeos totais (g.100 ⁻¹)	30,07 ± 0,25	13,49 ± 0,04	0,64 ± 0,04
Fibras totais (g.100 ⁻¹)	7,80 ± 0,69	8,08 ± 0,16	5,99 ± 0,74
Fibras insolúveis (g.100 ⁻¹)	4,7 ± 0,91	5,64 ± 0,19	4,03 ± 0,36
Fibras solúveis (g.100 ⁻¹)	3,18 ± 1,60	2,44 ± 0,34	1,96 ± 0,38
Cinzas (g.100 ⁻¹)	5,49 ± 0,13	3,43 ± 0,03	2,03 ± 0,03
Umidade (g.100 ⁻¹)	7,21 ± 0,16	7,27 ± 0,20	9,41 ± 0,04

Fonte: Do autor.

Tabela 2 - Composição química por porção do pó para o preparo das bebidas desenvolvidas e da FBV.

Variáveis	Pó da bebida Controle	Pó da bebida Teste	FBV
Valor energético (kcal/porção)	184,37	212,73	100,04
Carboidratos totais (g/porção)	11,24	31,15	23,66
Proteínas (g/porção)	8,19	5,49	0,91
Lipídeos totais (g/porção)	11,84	7,29	0,19
Fibras totais (g/porção)	3,07	4,37	1,79
Fibras insolúveis (g/porção)	1,85	3,05	1,2
Fibras solúveis (g/porção)	1,25	1,32	0,58
Cinzas (g/porção)	2,16	1,85	0,61
Umidade (g/porção)	2,84	3,93	2,82

Fonte: Do autor.

5.1.2 Teor de Amido Resistente

A FBV apresentou $13,02 \pm 1,22$ g/100g de amido resistente e a bebida teste possuiu $8,48 \pm 3,32$ g/100g ($p=0,036$).

5.1.3 Teor de Compostos fenólicos

A concentração de fenólicos totais encontrados na bebida teste e do controle mostraram teores de 128,5 e 75,0 mg EAG/100g, respectivamente, apresentando diferenças significativas ($p=0,000$).

A bebida à base de FBV não apresentou diferença estatística em relação à FBV isolada ($p=0,313$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Concentração de fenólicos totais das bebidas desenvolvidas e da FBV expressa em mg de equivalente de ácido gálico/grama (mg EAG/g).

AMOSTRA	mg EAG/g	mg EAG/100g	mg EAG/porção
Bebida Controle	0,75 ± 0,01 ^b	75,0	29,55
Bebida Teste	1,28 ± 0,02 ^a	128,5	69,24
FBV	1,21 ± 0,02 ^a	121,5	36,30

Fonte: Do autor.

Notas: As médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pela ANOVA/ Teste de Tukey (P>0,05).

5.1.4 Capacidade antioxidante das bebidas e da FBV

Levando-se em consideração a análise estatística dos dados de atividade antioxidante, verificou-se que as bebidas não apresentaram diferenças significativas (p=0,067), apenas a bebida teste apresentou aumento significativo em relação à FBV isolada (p=0,017) (Figura 5).

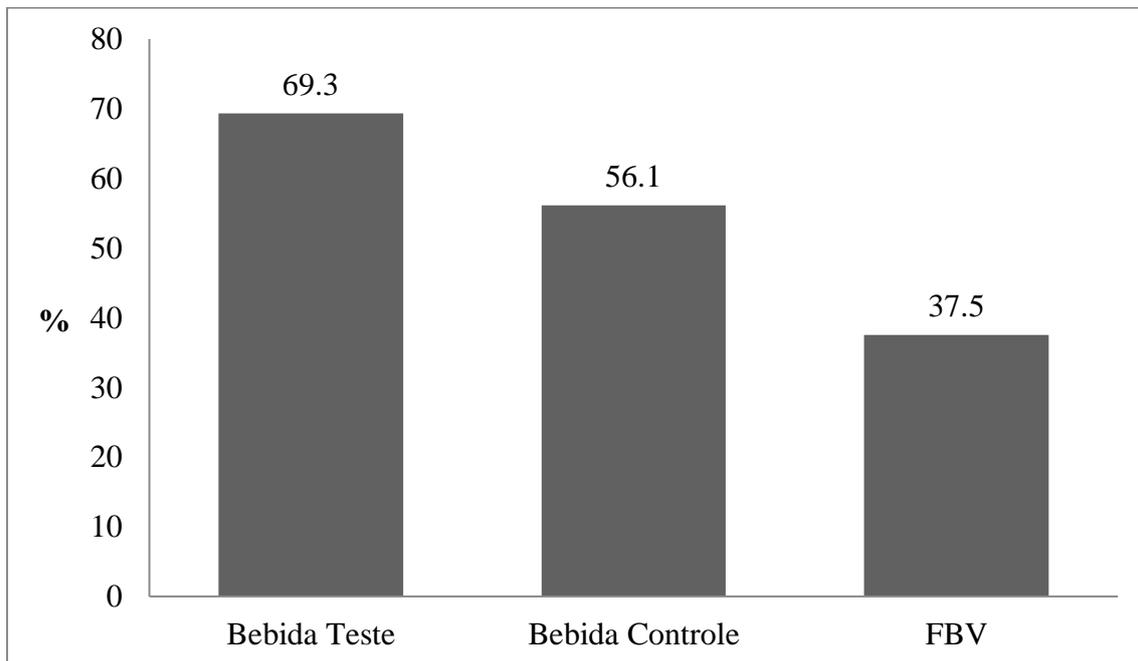


Figura 5 - Atividade antioxidante expressa pela porcentagem de sequestro de radicais DPPH (%).

Fonte: Do autor.

5.2 ENSAIO CLÍNICO

Este tópico aborda os resultados encontrados no ensaio clínico, assim como o perfil dos participantes.

5.2.1 Amostras do ensaio clínico

Após a divulgação do estudo na comunidade universitária, 151 mulheres entraram em contato para realização da avaliação de triagem. Dessas, 62 foram selecionadas para iniciar o estudo, sendo que 54 ingeriram o produto até a sexta semana. Entretanto houve perdas para as análises da capacidade antioxidante total (CAT) no plasma, análise das citocinas e análise dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Figura 6). Essas perdas ocorreram por desistência das voluntárias em realizarem algumas etapas do estudo, ou porque não conseguiram coletar todo sangue necessário para realização das análises do plasma.

Dessa forma, a amostra para a caracterização das fezes e a determinação dos AGCC foi composta por 22 participantes. Análise das citocinas (CIT) composta por 25 voluntárias. E a CAT composta por 38. O perfil das voluntárias que realizaram essas etapas se encontra nos Apêndices D e E.

As 54 voluntárias que ingeriram a bebida até a sexta semana tinham idade média de $35,1 \pm 8,82$ anos (de 22 a 50 anos), sendo 55,5 % casadas. Em relação ao tabagismo, 5,5% eram tabagistas e 11,1% ex-tabagistas. Sobre o hábito intestinal, 5,5% apontaram ter fezes pastosas e 22,2% fezes ressecadas. Apenas 11,1% das voluntárias ingeriam mais de 8 copos de água por dia. Somente 14,8% praticavam atividade física pelo menos 2 vezes por semana (Tabela 4).

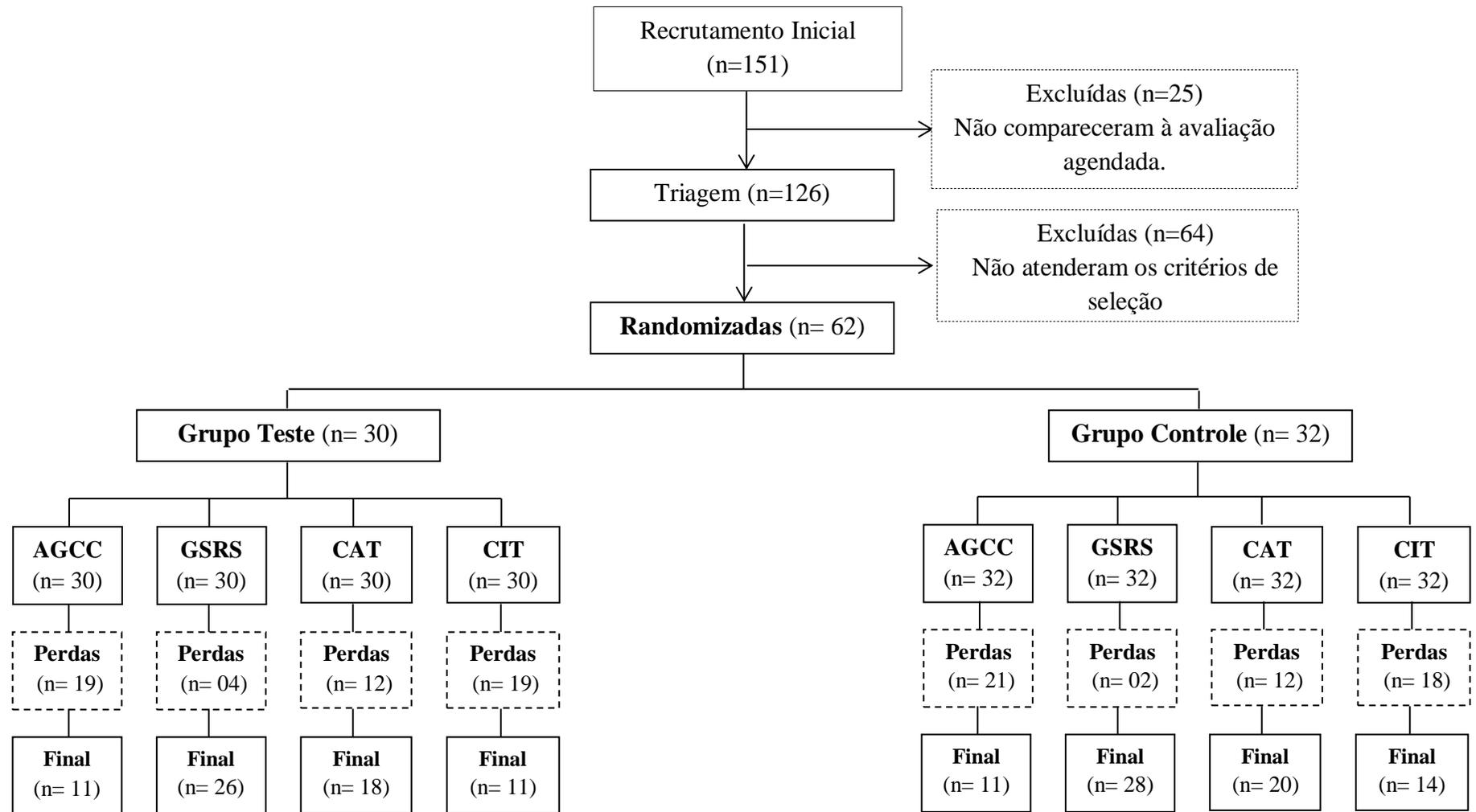


Figura 6 - Fluxograma do ensaio clínico, com as três etapas do estudo. (n: Número de voluntárias; AGCC: Análise dos ácidos graxos de cadeia curta presente nas fezes; GSRs: Questionário Gastrointestinal Symptom Rating Scale aplicado; CAT: Análise da capacidade antioxidante total no plasma; CIT: Análise das Citocinas).

Fonte: Do autor.

Tabela 4. Perfil das voluntárias que ingeriram as bebidas até a sexta semana.

	Grupo Controle (n=28)	Grupo Teste (n=26)	p
Idade (anos)	32,7 ± 8,4	37,7 ± 8,57	0,018
Peso (Kg)	76,31 ± 11,44	77,32 ± 13,42	0,678
IMC (Kg/m²)	29,22 ± 3,73	29,78 ± 5,04	0,897
Hábito intestinal (%)			
1 – 3x/dia	71,42	76,92	0,456
3 – 4x/sem	0	11,53	
1- 2x/sem	28,57	11,53	
Consistência das fezes (%)			
Consistência Normal	71,42	73,07	0,152
Consistência Pastosa	0	11,5	
Consistência ressecada	28,57	15,38	
Ingestão hídrica (%)			
>2 L/dia	7,14	15,38	0,401
2 -1,5 L/dia	25,0	15,38	
1,5 a 1 L/dia	42,85	34,61	
< 1 L/dia	24,99	34,61	
Atividade física (%)			
Diária	3,57	3,84	1,000
1-3x /semana	21,42	15,38	
4 x ou mais /seman	7,14	7,69	
Nenhuma	67,85	73,07	

Fonte: Do autor.

Notas: Resultados obtidos por meio do Teste de Wilcoxon ou Teste Exato de Fisher (P<0,05).

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FEZES

A consistência e a forma das fezes não apresentou diferença estatística em nenhum dos grupos após a intervenção (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 – Análise da consistência das fezes antes e após a intervenção.

Consistência	Grupo Controle (n=11)		p	Grupo Teste (n=11)		p
	Antes da Intervenção (%)	Depois da Intervenção (%)		Antes da Intervenção (%)	Depois da Intervenção (%)	
Normal	45,45	72,72		90,9	45,45	
Mole	45,45	27,27	1,000	0	45,45	0,091
Semi-líquida	9,09	0		9,09	9,09	

Fonte: Do autor.

Notas: Resultados obtidos por meio do Teste Exato de Fisher (P<0,05).

Tabela 6 – Análise das formas das fezes, segundo Escala de Bristol validada para o Brasil, antes e após a intervenção.

Tipos	Grupo Controle (n=11)		p	Grupo Teste (n=11)		p
	Antes da Intervenção (%)	Depois da Intervenção (%)		Antes da Intervenção (%)	Depois da Intervenção (%)	
1 e 2	0	9,09		0	0	
3 e 4	45,45	81,81	0,714	90,90	72,72	0,455
5 e 6	54,54	9,09		9,09	27,27	

Fonte: Do autor.

Notas: Resultados obtidos por meio do Teste Exato de Fisher (P<0,05).

A coloração das fezes também não apresentou diferença estatisticamente significativa após a intervenção (Tabela 7, Apêndice F).

Tabela 7 – Análise da cor das fezes, antes e após a intervenção.

Coloração	Grupo Controle (n=11)		P	Grupo Teste (n=11)		P
	Antes da Intervenção (%)	Depois da Intervenção (%)		Antes da Intervenção (%)	Depois da Intervenção (%)	
	Castanho Escuro	81,81		81,81		
Castanho Claro	18,18	18,18	0,655	18,18	18,18	0,109
Amarelada	0	0		0	18,18	

Fonte: Do autor.

Notas: Resultados obtidos por meio do Teste Exato de Fisher ($P < 0,05$).

5.4 DETERMINAÇÃO DOS AGCC

Em relação aos AGCC, pode-se observar que apenas o ácido propiônico aumentou significativamente em ambos os grupos após a intervenção (Tabelas 8).

Tabela 8 – Determinação dos ácidos graxos de cadeia curta antes e após a intervenção.

AGCC (umol/g de fezes)	Grupo Controle (n=11)		p ¹	Grupo Teste (n=11)		p ¹	p ²
	AI (Média± DP)	DI (Média± DP)		AI (Média± DP)	DI (Média± DP)		
Ácido Acético	7,34 ± 1,61	6,66 ± 1,37	0,179	6,42 ± 1,45	6,76± 1,74	0,523	0,879
Ácido Propiônico	5,58 ± 1,40	6,45 ± 1,75	0,017	5,41 ± 0,97	7,15± 2,33	0,012	0,434
Ácido Butírico	4,44 ± 0,92	4,53 ± 1,10	0,739	4,68 ± 0,82	4,88± 1,10	0,572	0,459

Fonte: Do Autor.

Legenda: (1) Comparação no baseline (antes da ingestão das bebidas) e após 6 semanas de ingestão em cada intervenção, resultados obtidos por meio do Teste *t de Student* pareado ($P < 0,05$).

(2) Comparação do efeito entre os tratamentos – comparação do Δ das alterações entre as duas intervenções por meio do Teste *t de Student*.

DP: desvio padrão; AI: Antes da intervenção; DI: Depois da Intervenção

5.5 QUESTIONÁRIO GASTROINTESTINAL SYMPTOM RATING SCALE

Pode-se observar que tanto o grupo teste como o grupo controle houve uma melhora significativa na síndrome dispéptica, aumento da frequência das fezes e redução do escore total (Tabela 9). E no grupo controle também ocorreu uma melhora significativa da indigestão.

Tabela 9 - Análise do questionário GSRS antes e após a intervenção.

Sintomas	Grupo Controle (n=28)					p ¹	Grupo Teste (n=26)					p ¹	p ²
	Antes da Intervenção		Após a Intervenção				Antes da Intervenção		Após a Intervenção				
	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	DM		Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média± DP	Mediana (P25; P75)	DM		
Síndrome Dispéptica	1,32±1,7	1 (0; 2)	0,32±0,7	0 (0; 0)	- 1,0	0,004	1,65±1,5	1,5 (0; 2)	0,27±0,6	0 (0; 0)	-1,38	0,000	0,810
Indigestão	0,85±1,1	0 (0; 1)	0,25±0,5	0 (0; 0)	- 0,6	0,027	1,19±1,6	1 (0; 2)	0,69±0,8	0 (0; 2)	-0,50	0,183	0,040
Disfunção Intestinal	1,35±1,6	1 (0; 2)	0,75±0,9	0 (0; 2)	- 0,6	0,021	1,19±1,7	1 (0; 1)	0,88±1,1	1 (0; 1)	-0,31	0,804	0,651
Constipação	0,96±1,3	0 (0; 2)	0,28±0,6	0 (0; 0)	- 0,6	0,002	0,5±1,5	0 (0; 0)	0,34±0,7	0 (0; 0)	-0,15	0,672	0,684
Fezes mais soltas	0,07±0,2	0 (0; 0)	0,35±0,6	0 (0; 0,5)	0,31	0,038	0,03±0,1	0 (0; 0)	0,38±0,7	0 (0; 1)	0,35	0,024	0,910
Escore Total	3,53±3,1	2,5 (1; 6)	1,28±1,6	0 (0; 2,5)	- 2,2	0,001	4,03±3,6	4 (0; 5)	1,84±1,8	1,5 (0; 3)	-2,19	0,003	0,195

Fonte: Do autor.

Legenda: (1) Comparação no baseline (antes da ingestão das bebidas) e após 6 semanas de ingestão dos produtos em cada intervenção, resultados obtidos por meio do Teste de Wilcoxon (P<0,05).

(2) Comparação do efeito entre os tratamentos – por meio do Teste *Mann-Whitney*

DP: desvio padrão; DM: diferença das média

5.6 NÍVEIS DAS CITOCINAS

A respeito das citocinas, houve um aumento significativo apenas da IL-2 nos dois grupos e uma redução da IL-17 no grupo controle (Tabela 10).

Tabela 10 - Níveis das citocinas antes e após a intervenção.

Citocinas (pg.mL ⁻¹)	Grupo Controle (n=14)		P ¹	Grupo Teste (n=11)		P ¹	P ²
	Antes da Intervenção	Depois da Intervenção		Antes da Intervenção	Depois da Intervenção		
IL-17	49,71±34,2	22,15±15,0	0,004	41,81±32,8	27,16±17,85	0,110	0,826
INF- γ	2,17±3,24	1,26±2,55	0,249	2,17±4,35	1,29±3,02	0,499	0,552
TNF- α	0,57±1,80	1,21±2,40	0,176	3,07±5,90	2,61±4,14	0,484	0,092
IL-10	0,57±2,02	0,61±1,36	0,463	0,82±2,00	0,52±1,28	0,500	0,660
IL-6	2,00±1,67	3,08±1,35	0,101	2,13±1,82	2,83±1,35	0,286	0,709
IL-4	0,42±1,57	0,78±1,45	0,144	0,59±2,23	0,74±2,09	0,465	0,392
IL-2	0,75±1,69	2,29±1,95	0,000	1,25±3,80	3,16±3,21	0,022	0,079

Fonte: Do autor.

Legenda: (1) Comparação no baseline (antes da ingestão das bebidas) e após 6 semanas de ingestão dos produtos em cada intervenção, resultados obtidos por meio do Teste *de Wilcoxon* ($P < 0,05$).

(2) Comparação do efeito entre os tratamentos – por meio do Teste *Mann-Whitney*

5.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO PLASMA

Em relação à capacidade antioxidante total do plasma não ocorreu diferença estatística em nenhum dos grupos. O grupo controle apresentou antes da intervenção $0,13 \pm 0,06$ mmol equiv. de Trolox/L e após a intervenção $0,11 \pm 0,01$ mmol equiv. de Trolox/L ($p = 0,353$). E o grupo teste apresentou $0,13 \pm 0,10$ e $0,09 \pm 0,06$ mmol equiv. de Trolox/L antes e após a intervenção respectivamente ($p=0,076$) (Figura 7).

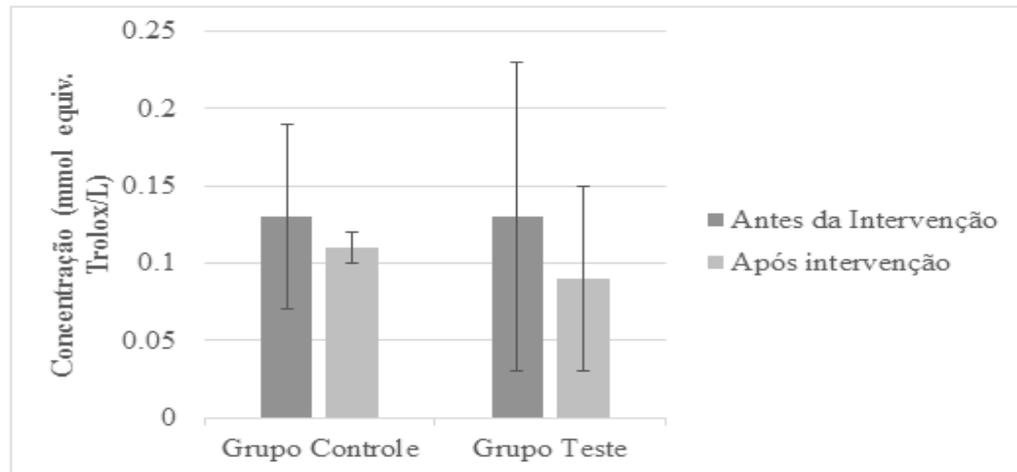


Figura 7 - Capacidade antioxidante total do plasma antes e após a intervenção.
Fonte: Do autor

5.8 MARCADORES BIOQUÍMICOS

No grupo controle houve uma redução significativa nos níveis de colesterol total e LDL (Tabela 11, Apêndice G).

Tabela 11 – Marcadores bioquímicos antes e após a intervenção.

Variáveis	Grupo Controle (n=20)		p ¹	Grupo Teste (n=18)		p ¹	p ²
	AI	DI		AI	DI		
CT (mg/dl)	211,3±32,4	195,2±31,2	0,008	224,3±30,7	215,9±41,5	0,173	0,149
HDL-c (mg/dl)	54,05±9,53	55,1±12,4	0,547	61,66±4,27	60,8±4,32	0,551	0,443
LDL-c (mg/dl)	127,7±28,3	113,5±24,6	0,008	134,9±24,0	126,5±34,8	0,162	0,393
VLDL-c (mg/dl)	29,5±14,66	26,5±14,52	0,064	27,7±13,41	28,4±15,68	0,625	0,443
TAG (mg/dl)	147,5±73,3	132,9±72,6	0,064	138,6±67,0	142,3±78,4	0,625	0,443
LDL/HDL	2,47±0,82	2,16±0,16	0,003	2,40±0,85	2,3±1,00	0,434	0,306

Fonte: Do autor

Legenda: (1) Comparação no baseline (antes da ingestão das bebidas) e após 6 semanas de ingestão dos produtos em cada intervenção, resultados obtidos por meio do Teste *t de Student* pareado ($P < 0,05$).

(2) Comparação do efeito entre os tratamentos – comparação do Δ das alterações entre as duas intervenções por meio do Teste *t de Student*.

CT: colesterol total; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; TAG: triacilgliceróis.

5.9 MARCADORES ANTROPOMÉTRICOS

O peso e IMC das voluntárias não apresentaram diferença estatística em nenhum dos grupos. Porém, houve uma redução significativa da gordura corporal e um aumento significativo da massa magra tanto no grupo controle quanto no grupo teste. No grupo teste ainda ocorreu uma diminuição significativa da circunferência da cintura e relação cintura/quadril (Tabela 12).

Resultados semelhantes também foram encontrados com as voluntárias que entregaram as amostras de fezes (Apêndice H).

Tabela 12 - Marcadores antropométricos antes e após a intervenção.

Variáveis	Grupo Controle (n=20)		P ¹	Grupo Teste (n=18)		P ¹	P ²
	AI	DI		AI	DI		
Peso (Kg)	76,05±10,4	76,25±11,1	0,628	74,70±11,9	74,55±12,5	0,584	0,661
IMC (Kg/m ²)	29,05±3,63	29,11±3,79	0,710	28,69±4,54	28,64±4,54	0,596	0,730
CC (cm)	92,88±8,92	91,85±8,07	0,122	91,12±10,0	89,21±10,8	0,007	0,572
CQ (cm)	109,33±9,2	108,61±9,2	0,017	108,56±10,0	108,2±10,1	0,354	0,897
RCQ (cm)	0,85±0,049	0,84±0,042	0,574	0,84±0,07	0,82±0,07	0,008	0,270
RCEst (cm)	57,47±5,74	56,80±4,89	0,109	56,56±6,69	55,39±7,25	0,006	0,483
GC (%)	35,3 ± 3,55	34,15±4,39	0,002	34,61±4,48	32,38±6,12	0,007	0,331
MG (Kg)	27,2 ± 5,99	26,55±6,73	0,049	26,16±7,55	24,72±8,41	0,004	0,517
MM (Kg)	48,9 ± 5,03	50,1 ± 5,23	0,001	48,5±5,15	49,94±5,28	0,009	0,957

Fonte: Do autor.

Legenda: (1) Comparação no baseline (antes da ingestão das bebidas) e após 6 semanas de ingestão dos produtos em cada intervenção, resultados obtidos por meio do Teste *t de Student* pareado ($P < 0,05$).

(2) Comparação do efeito entre os tratamentos – comparação do Δ das alterações entre as duas intervenções por meio do Teste *t de Student*.

CC: circunferência da cintura; CQ: circunferência do quadril; RCQ: relação circunferência/quadril; RCEst: Relação cintura/estatura; GC: gordura corporal; MG: massa gorda; MM: massa magra

5.10 CONSUMO ALIMENTAR

Este tópico aborda os resultados das alterações do consumo alimentar das voluntárias.

5.10.1 Pré-intervenção

Em ambos os grupos, os valores dos carboidratos, proteínas e lipídeos apresentaram alta probabilidade de adequação na maioria dos indivíduos, conforme recomendado pelas DRI's, enquanto o consumo dos micronutrientes apresentava-se com uma grande probabilidade de inadequação na maioria das voluntárias (Tabela 13).

Tabela 13 - Avaliação da ingestão dos macronutrientes, fibras, vitaminas e minerais antes da intervenção do estudo.

Nutrientes	Critérios para Probabilidade de Adequação	(Continua)	
		Grupo Controle (N=20) Indivíduos Adequados (%)	Grupo Teste (N=18) Indivíduos Adequados (%)
Carboidratos (% Kcal)	45-65%	17 (85,00)	14 (77,77)
Proteínas (% Kcal)	10-35%	19 (95,00)	18 (100,00)
Lipídeos (% Kcal)	20-35%	17 (100,00)	14 (100,00)
Fibras	≥ 25g	0 (0,00)	0 (0,00)
Vit. A	≥70% Ingestão Aparente	6 (30,00)	1 (5,55)
Vit. B12	≥70% Ingestão Aparente	2 (10,00)	1 (5,55)
Vit. C	≥70% Ingestão Aparente	3 (15,00)	5 (27,77)
Vit. E	≥70% Ingestão Aparente	6 (30,00)	6 (33,33)
Vit. D	Acima do AI (5mcg)	19 (95,00)	17 (94,44)

(Conclusão)			
Nutrientes	Critérios para Probabilidade de Adequação	Grupo Controle (N=20)	Grupo Teste (N=18)
		Indivíduos Adequados (%)	Indivíduos Adequados (%)
Vit. B1	≥70% Ingestão Aparente	8 (40,00)	8 (44,44)
Vit. B2	≥70% Ingestão Aparente	11 (55,00)	4 (22,22)
Vit. B3	≥70% Ingestão Aparente	16 (80,00)	8 (44,44)
Vit. B5	Acima do AI (5mg)	0 (0,00)	0 (0,00)
Vit. B6	≥70% Ingestão Aparente	4 (20,00)	0 (0,00)
Folato	≥70% Ingestão Aparente	0 (0,00)	0 (0,00)
Zinco	≥70% Ingestão Aparente	3 (15,00)	2 (11,11)
Cobre	≥70% Ingestão Aparente	5 (25,00)	1 (5,55)
Ferro	≥70% Ingestão Aparente	6 (30,00)	7 (38,88)
Magnésio	≥70% Ingestão Aparente	1 (5,00)	0 (0,00)
Cálcio	Acima do AI (1000mg)	0 (0,00)	0 (0,00)
Fósforo	≥70% Ingestão Aparente	11 (55,00)	9 (50,00)
Manganês	Acima do AI (1,8mg)	1 (5,00)	0 (0,00)
Sódio	Acima do AI (1500mg)	17 (85,00)	15 (83,33)
Potássio	Acima do AI (4700mg)	0 (0,00)	0 (0,00)

Fonte: Do autor.

5.10.2 Pós-intervenção

Em ambos os grupos os macronutrientes mantiveram-se alta probabilidade de adequação, de acordo com os valores recomendados pelas DRI's e a maioria dos micronutrientes abaixo da probabilidade de adequação de 70%, na maioria dos voluntários (Tabela 14).

Tabela 14 - Avaliação da ingestão dos macronutrientes, fibras, vitaminas e minerais após a intervenção do estudo.

Nutrientes	Critérios para Probabilidade de Adequação	(Continua)	
		Grupo Controle (N=20)	Grupo Teste (N=18)
		Indivíduos Adequados (%)	Indivíduos Adequados (%)
Carboidratos (% Kcal)	45-65%	18 (90,00)	18 (100,00)
Proteínas (% Kcal)	10-35%	20 (100,00)	18 (100,00)
Lipídeos (% Kcal)	20-35%	16 (80,00)	14 (77,77)
Fibras	≥ 25g	0 (0,00)	0 (0,00)
Vit. A	≥70% Ingestão Aparente	0 (0,00)	1 (5,55)
Vit. B12	≥70% Ingestão Aparente	0 (0,00)	2 (11,11)
Vit. C	≥70% Ingestão Aparente	1 (5,00)	1 (5,55)
Vit. E	≥70% Ingestão Aparente	4 (20,0)	3 (16,66)
Vit. D	Acima do AI (5mcg)	0 (0,00)	0 (0,00)
Vit. B1	≥70% Ingestão Aparente	4 (20,0)	4 (22,22)
Vit. B2	≥70% Ingestão Aparente	1 (5,00)	4 (22,22)
Vit. B3	≥70% Ingestão Aparente	8 (40,0)	6 (33,33)
Vit. B5	Acima do AI (5mg)	0 (0,00)	0 (0,00)
Vit. B6	≥70% Ingestão Aparente	0 (0,00)	1 (5,55)
Folato	≥70% Ingestão Aparente	0 (0,00)	0 (0,00)
Zinco	≥70% Ingestão Aparente	1 (5,00)	3 (16,66)
Cobre	≥70% Ingestão Aparente	1 (5,00)	1 (5,55)
Ferro	≥70% Ingestão Aparente	6 (30,0)	5 (27,7)
Magnésio	≥70% Ingestão Aparente	1 (5,00)	0 (0,00)
Cálcio	Acima do AI (1000mg)	0 (0,00)	0 (0,00)

(Conclusão)

Nutrientes	Critérios para Probabilidade de Adequação	Grupo Controle (N=20)	Grupo Teste (N=18)
		Indivíduos Adequados (%)	Indivíduos Adequados (%)
Fósforo	≥70% Ingestão Aparente	9 (45,0)	7 (38,88)
Manganês	Acima do AI (1,8mg)	1 (5,00)	1 (5,55)
Sódio	Acima do AI (1500mg)	16 (80,00)	14 (77,77)
Potássio	Acima do AI (4700mg)	0 (0,00)	0 (0,00)

Fonte: Do autor.

Com a inclusão das bebidas desenvolvidas na dieta, observa-se que não houve diferença significativa nos níveis dos macronutrientes. Em relação aos micronutrientes, no grupo teste houve um aumento significativo nos níveis de fibras, riboflavina (vitamina B2), cálcio, fósforo, magnésio e potássio. No grupo controle ocorreu um aumento significativo de cálcio e fósforo. Houve ainda uma redução significativa nos níveis de niacina, ácido pantotênico, piridoxina, folato, cobre e selênio após a intervenção (Tabela 15).

Tabela 15. Comparação dos macro e micronutrientes presentes na dieta das voluntárias antes e após a intervenção do estudo.

(Continua)

	Grupo Controle (n=20)		p ¹	Grupo Teste (n=18)		p ¹	p ²
	Antes da Intervenção	Após a Intervenção		Antes da Intervenção	Após a Intervenção		
Calorias (Kcal)	1672,7±386,0	1522,1±365,9	0,102	1560,2±233,2	1587,0±289,0	0,574	0,478
Proteína (g)	72,9±20,60	68,18±21,4	0,297	65,8±17,2	64,61±2,69	0,671	0,578
Carboidratos (g)	217,66±61,42	195,69±65,5	0,07	216,7±45,7	205,79±37,88	0,329	0,430
Lipídio (g)	57,18±17,98	51,04±12,65	0,175	55,9±13,99	56,15±17,98	0,965	0,651
Fibras (g)	10,04±4,13	9,68±3,90	0,122	11,15±4,63	13,85±3,53	0,002	0,470
Vit. A (RE)	733,23±844,0	494,92±189,2	0,210	437,06±194,2	443,25±177,2	0,886	0,321
Vit. C (mg)	37,24±37,55	26,37±20,89	0,180	50,74±54,19	34,39±28,04	0,189	0,278
Vit. E (mg)	11,63±4,91	9,11±4,91	0,104	12,16±6,89	10,19±5,10	0,142	0,549
Vit. D (mcg)	2,45±1,43	1,59±1,06	0,002	2,15±2,05	1,61±1,68	0,307	0,9549
Vit . B12 (mcg)	4,43±8,12	1,55±0,88	0,123	1,87±1,58	3,68±8,43	0,344	0,267
Vit. B1 (mg)	1,21±0,47	1,15±0,69	0,656	1,07±0,49	1,06±0,37	0,937	0,511
Vit. B2 (mg)	1,04±0,50	1,09±0,30	0,664	0,79±0,39	1,08±0,39	0,006	0,535

(Continuação)

	Grupo Controle (n=20)		p ¹	Grupo Teste (n=18)		p ¹	p ²
	Antes da Intervenção	Após a Intervenção		Antes da Intervenção	Após a Intervenção		
Vit. B3 (mg)	20,31±9,61	15,35±8,47	0,047	15,62±9,45	13,52±5,29	0,277	0,248
Vit. B5 (mg)	2,33±1,00	1,74±0,61	0,007	1,76±0,68	1,76±0,74	0,990	0,919
Vit. B6 (mg)	0,94±0,52	0,62±0,29	0,004	0,63±0,25	0,64±0,30	0,891	0,035
Folato (mcg)	87,44±51,77	49,23±19,73	0,002	76,24±32,39	69,11±37,13	0,473	0,050
Zinco (mg)	6,43±2,90	6,29±1,95	0,842	5,70±2,36	6,16±2,15	0,480	0,760
Cobre (mcg)	0,76±0,41	0,54±0,24	0,039	0,58±0,21	0,73±0,35	0,074	0,562
Selênio (mcg)	53,37±27,2	35,54±18,93	0,001	36,96±21,73	38,17±27,58	0,763	0,672
Iodo (mcg)	39,91±37,60	27,61±25,43	0,110	27,65±25,59	21,18±15,73	0,163	0,396
Ferro (mg)	9,06±2,19	8,11±2,22	0,150	9,15±2,71	9,80±4,43	0,582	0,222
Magnésio (mg)	154,07±61,39	148,58±61,39	0,641	121,23±41,24	161,12±24,55	0,000	0,589
Cálcio (mg)	484,20±165,2	735,1±212,4	0,001	448,38±233,5	579,8±185,7	0,000	0,740
Fósforo (mg)	857,27±270,7	1126,4±267,3	0,001	706,82±235,8	909,65±152,4	0,001	0,498

(Conclusão)

	Grupo Controle (n=20)		p ¹	Grupo Teste (n=18)		p ¹	p ²
	Antes da Intervenção	Após a Intervenção		Antes da Intervenção	Após a Intervenção		
Manganês (mg)	1,32±0,55	1,08±0,59	0,144	1,45±0,80	1,13±0,38	0,139	0,870
Sódio (mg)	1911,7±643,8	1914,8±631,1	0,985	1705,1±509,6	1600,6±508,4	0,167	0,163
Potássio (mg)	1570,8±596,2	1599,4±548,2	0,811	1305,7±451,4	1792,5±280,6	0,000	0,553

Fonte: Do autor.

Legenda: (1) Comparação no baseline (antes da ingestão das bebidas) e após 6 semanas de ingestão dos produtos em cada intervenção, resultados obtidos por meio do Teste *de Wilcoxon* ($P < 0,05$).

(2) Comparação do efeito entre os tratamentos – por meio do Teste *Mann-Whitney*.

6 DISCUSSÃO

A quantidade de carboidratos apresentado pela bebida teste se atribui à presença da FBV (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009; BORGES; PEREIRA; LUCENA, 2009; TORRES et al., 2005;). Apesar da bebida controle não conter FBV, a mesma possuía maior proporção de leite que a bebida teste, e por isso apresentou maior teor de proteínas e lipídeos. A caracterização nutricional das bebidas desenvolvidas permitiu observar que tanto a bebida controle como a teste apresentaram valores calóricos bem semelhantes, com uma diferença de apenas 28,36 Kcal/porção.

Pode-se observar que a bebida teste apresentou valor nutricional considerável, devido aos demais ingredientes presentes (leite e cacau). Além disso, apresentou boa aceitação tanto por parte das voluntárias que participaram do ensaio clínico, quanto dos indivíduos que participaram da análise sensorial realizada pelo nosso grupo de pesquisa (LOMEU, 2015). O produto possivelmente apresenta potencial de mercado, à medida que os consumidores tornam-se mais exigentes por produtos saudáveis. No contexto das doenças crônicas não transmissíveis, o desenvolvimento de novos produtos, com características funcionais e fisiológicas é extremamente relevante.

Em 2008, a ANVISA liberou uma lista com alegações de propriedades funcionais aprovadas. Na qual inclui as fibras alimentares e define que esta alegação pode ser utilizada desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3g de fibras se o alimento for sólido ou 1,5g de fibras se o alimento for líquido. Dessa maneira, a bebida à base de FBV pode ser considerada um alimento com propriedades funcionais, devido à quantidade de fibras presentes (4,37 g/porção). Leite (2011) listou o grau de preferência dos consumidores em relação aos benefícios oferecidos pelos ingredientes funcionais e as fibras apareceram em primeiro lugar, seguidos pelos carotenoides, ômega-3 e probiótico.

O teor de amido resistente presente na bebida desenvolvida no trabalho ($8,48 \pm 3,32$ g/100g) mostrou-se mais elevado do que outros produtos contendo FBV. Ornemese (2010) desenvolveu pães contendo 10 e 20% de FBV e encontrou $6,03 \pm 0,13$ g/100g e $6,96 \pm 0,21$ g/100g respectivamente na concentração de amido resistente. Menezes et al. (2011) desenvolveram barras de cereais elaboradas com FBV e encontraram 7,22 g/100g.

O produto desenvolvido ainda apresentou alta concentração de polifenóis (128,5 mg/100g) comparado com outros estudos. Dionísio et al. (2013) desenvolveram uma bebida prebiótica de Caju e Yacon e encontraram 66,52 mg/100g. Abreu et al. (2011) desenvolveram

bebidas mistas à base de manga, maracujá e caju adicionadas de prebióticos e dentre as formulações apresentadas por eles, a que apresentou maior conteúdo de polifenóis continha 62,59 mg/100g.

Esse alto teor de polifenóis se atribui a FBV, já que a bebida do grupo controle apresentou apenas 75,0 mg EAG/100g. Com isso, ao observar às concentrações de polifenóis presentes na FBV, a mesma apresentou concentrações superiores da encontrada por Menezes et al. (2011) que relataram um teor de 50,65 mg EAG/100g. Já Someya, Yoshikib e Okubob (2002) encontraram 907mg EAG/100g na casca da banana e 232 mg EAG/100g em sua polpa. Desta forma, concluíram que o teor de fenólicos totais normalmente é maior na casca da banana do que na polpa. Entretanto Rebello et al. (2014) ressaltam que o conteúdo fenólico na FBV provavelmente deverá ser menor, devido ao processo de secagem que causa degradação térmica nos compostos fenólicos.

Assim, pode haver diferenças na concentração de polifenóis entre as FBV encontradas no mercado. Com isso, para determinar o teor de compostos fenólicos se devem considerar os fatores intrínsecos, como gênero, espécie e cultivares e também os fatores extrínsecos, como manuseio e condições de armazenamento (PEREIRA, 2012).

Como o estudo utilizou FBV comercializada por uma empresa atacadista que revende o produto, apesar de vários contatos com a empresa e o produtor, ainda não foi possível identificar o gênero e espécie utilizada para a produção desta farinha. Entretanto, pode-se deduzir que tenha sido banana nanica ou banana prata, devido a grande produção dessas espécies na região onde foi comprada a farinha.

Observa-se que o cacau também contribuiu com a concentração de polifenóis na bebida teste. Vários estudos têm apontado o cacau como sendo fonte de polifenóis (ALBERTINI et al., 2015; FERNÁNDEZ-MILLÁN et al., 2015; SARRIÁ et al., 2015; TODOROVIC et al., 2015; ZACHARY et al., 2015).

Na bebida teste, segundo Efraim, Alves, Jardim (2011) e Rebello et al. (2014) os principais polifenóis que poderiam ser encontrados devido a presença da FBV e do cacau são: flavonoides, os quais incluem flavanóis, flavonóis, antocianinas, flavonas e flavanonas. Entre estes, os flavanóis são os mais abundantes, sendo a (+)-catequina, a (-)-epicatequina e (-) galocatequina, os principais representantes. Também contém uma série complexa de procianidinas, formadas a partir da condensação de unidades individuais de catequinas ou epicatequinas, chamadas monômeros, assim, são também conhecidas como taninos condensados.

A atividade antioxidante tem sido frequentemente associada com os compostos fenólicos (SHODEHINDE & OBOH, 2013). Entretanto, apesar da bebida teste ter apresentado uma diferença significativa a respeito dos polifenóis em relação à bebida controle, o mesmo não foi observado com sua capacidade em sequestrar radicais livres. Melo e colaboradores (2008) ressaltam que capacidade antioxidante de um extrato não pode ser explicada somente com base em seu teor de fenólicos totais, a caracterização da estrutura do composto ativo, também, é necessária.

A presença do cacau em ambas as bebidas pode ter contribuído para não terem apresentado diferença significativa entre si. Ramirez-Sanchez et al. (2013) relatam que a catequina e a epicatequina apresentam alta capacidade antioxidante e o cacau é riquíssimo nesses compostos. Lee et al. (2003) ainda relatou que o cacau apresentou maior atividade antioxidante que o vinho tinto, chá verde e chá preto, em ensaios de DPPH. O cacau também é fonte de vários micronutrientes considerados antioxidantes como o zinco, selênio, magnésio e vitamina E (KHAWAJA; GAZIANO; DJOUSSE, 2011).

A FBV isolada obteve 37,5% na capacidade em sequestrar radicais livres. Pereira (2012), ao analisar a capacidade antioxidante com o radical DPPH de variedades de banana, obteve valores mínimos e máximos de 28,72% e 89,35%.

Diante das características nutricionais presentes na bebida à base de FBV foram observados que a mesma apresenta propriedades funcionais consideráveis, entretanto a bebida controle também apresentou essas características, provavelmente pela presença do cacau. Os benefícios de ambas as bebidas foram encontrados na microbiota intestinal, com o aumento do AGCC, a alteração nas características das fezes e redução nos sintomas gastrointestinais.

Dessa forma, algumas hipóteses devem ser consideradas. A primeira hipótese se deve a dieta das voluntárias que era pobre em fibras. Dessa maneira, a quantidade de amido resistente presente na bebida à base de FBV pode não ter sido o suficiente para causar grandes alterações, mas sim para suprir as necessidades fisiológicas. Além disso, Mitsou et al. (2011) avaliaram o efeito do consumo regular de banana na microbiota intestinal de mulheres com idade entre 19 e 45 anos e não encontraram diferenças significativas de AGCC após a intervenção dietética. Simpson e Campbell (2015) observaram que embora existam evidências convincentes para sugerir que o amido resistente possa modular a microbiota intestinal, o efeito parece ser altamente variável entre espécies e indivíduos.

A segunda hipótese se deve a presença do cacau nas duas bebidas, visto que alguns autores relatam que este alimento poderia atuar como um prebiótico e alterar a microbiota intestinal (MASSOT – CLADERA 2012; TZOUNIS et al., 2011). Os compostos fenólicos

presentes no cacau apresentam diversos efeitos benéficos aos indivíduos, como a ação antioxidante, ação anti-inflamatória, modulação da microbiota intestinal e redução das doenças cardiovasculares (LEE et al., 2006; SCALBERT; JOHNSON; SALTMARSH, 2005).

O que reforça essa hipótese é a redução nos níveis de colesterol total, LDL-c e VLDL-c encontrados no grupo controle. Mursu et al. (2004) relataram que os polifenóis do cacau podem aumentar a concentração de colesterol HDL e ainda modificar a composição de LDL e torná-lo mais resistente a danos oxidativos.

A melhora dos sintomas gastrointestinais observada em ambos os grupos, pode estar associada a um possível efeito placebo. Estudos tem observado a interferência deste efeito nos desfechos (KALIL et al., 2010; WECKX et al., 2009). Geers et al. (2006) relatam que há uma correlação entre as expectativas criadas pelos indivíduos e o efeito placebo. Dessa maneira, pode ter ocorrido um viés de expectativa nas participantes do estudo.

O efeito regular do consumo das bebidas funcionais sobre a microbiota intestinal pode acarretar diversos benefícios à saúde. De acordo com Licht, Ebersbach e Frokiaer (2012) os AGCC podem estimular o crescimento e diferenciação das células epiteliais, regular a formação dos “tight junctions” entre as células epiteliais do intestino e regular as células pró-inflamatórias do sistema imune.

Apesar de não ter ocorrido diferença estatística na consistência das fezes, as voluntárias relataram gostar de consumir as bebidas, pois estavam se sentindo menos constipadas e suas fezes aparentavam estar menos ressecadas, o que lhes causavam uma sensação de bem estar. Foi observado ainda um aumento na frequência de fezes macias como descritos por Canani et al. (2007) e pela Escala de Bristol (Martinez & Azevedo, 2012).

Esse aumento na frequência das fezes macias pode ter ocorrido em função da presença das fibras em ambas as bebidas, pois as mesmas podem alterar as características das fezes por meio dos seguintes mecanismos: Em primeiro lugar, a fermentação dos prebióticos pode aumentar o teor de água nas fezes, o que pode alterar a consistência das fezes. Em segundo lugar, a fermentação seletiva e o crescimento das espécies de *Lactobacillus* e bifidobactéria e a subsequente produção de AGCC podem aumentar o teor de água da massa fecal, o que resultaria em fezes mais moles (SCHOLTENS, GOOSENS E STAIANO, 2014).

Em relação à cor ocorreu uma diminuição visível na frequência da cor castanha e um aumento da amarelada nas fezes dos voluntários do grupo teste. Tateyama et al. (2005) realizaram um estudo com gestantes constipadas que usaram prebióticos e observaram aumento na frequência da cor amarelada, bem como maciez das fezes.

Foi observado ainda no grupo teste que a bebida à base de FBV também promoveu diminuição significativa da circunferência da cintura, relação cintura/estatura, relação cintura quadril. Silva et al. (2014) avaliaram os efeitos do consumo de 20g de FBV por dia sobre os parâmetros antropométricos e encontraram uma redução na circunferência do quadril.

Outra questão a ser levantada é a respeito da idade dos participantes, pois o grupo teste apresentou uma média de idade maior comparada ao grupo controle. Considerando que o processo de envelhecimento influencia em todo o organismo, como no esvaziamento gástrico e na absorção intestinal (SANTOS, 2011), a idade pode ter representado um fator de influência nos achados.

Ressalta-se ainda que no grupo teste os compostos bioativos do cacau podem ter interagido com os da FBV. Entretanto, o conhecimento sobre a biodisponibilidade desses compostos ainda é restrito e muitos fatores podem interferir nessa ação, tais como: a complexidade da matriz do alimento, a forma química de cada substância, a estrutura e a quantidade de outros compostos presentes na dieta, a taxa de esvaziamento gástrico e o metabolismo de cada indivíduo (OLIVEIRA & BASTOS, 2011).

Estudos apontam que estes compostos bioativos presentes na FBV e cacau também exercem efeito na modulação do processo inflamatório (DI GIUSEPPE et al, 2008; MONAGAS et al., 2009). Assim, o aumento da IL-2 pode ser atribuído a alguns fatores, como a presença dos compostos funcionais presente na bebida funcional à base de FBV. Estudos in vitro demonstraram que os polifenóis do cacau exercem uma regulação negativa no efeito da ativação de linfócitos, macrófagos e IL-2 (RAMIRO et al., 2005; SAMBONGI; SUZUKI; SAKANE, 1997). Entretanto, ainda há uma inconsistência e dados contraditórios em estudos in vivo (MATHUR et al., 2002).

Os estudos in vitro empregam padrões puros em concentrações muito superiores às aquelas observadas in vivo; e o período de exposição do “alvo biológico” aos compostos bioativos ocorre em curto-prazo. Nos estudos in vivo há uma possível interação entre os diversos compostos químicos da dieta. Ressalta-se ainda que estes compostos bioativos são altamente metabolizados antes e depois da absorção, e dessa forma os produtos finais do metabolismo não são os mesmos que no produto original (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

Ramiro-Puig et al. (2007) realizaram um estudo com ratos que receberam cacau, contendo 32 mg de flavonoides/g durante 3 semanas, e encontraram resultados semelhantes com o que aconteceu no presente estudo. Observaram que interferon-gama (IFN- γ) e interleucina-10 (IL-10) não foram significativamente afetados, já a IL-2 apresentou um aumento. Assim, estes autores se atentaram que há outros compostos imunologicamente

ativos contidos no cacau, tais como metilxantinas e ácidos graxos, o que pode contribuir para os efeitos do cacau *in vivo* se diferirem dos efeitos *in vitro*.

O aumento da IL-2 também pode estar associado com o aumento do ácido propiônico. Este ácido graxo está relacionado com a estimulação da secreção da leptina, responsável por regular o metabolismo, apetite e peso corporal (ZAIBI et al., 2010). Alguns estudos relatam que a leptina pode ter um papel fundamental na produção e manutenção do sistema imune. Ela desempenha um papel importante na ativação de células Th1 e níveis elevados de IL-2, IFN- γ , TNF- α (BALTACI & MOGULKOC, 2012; MARUNA; GURLICH; FRASKO, 2001). Entretanto, não foi avaliado no presente estudo os níveis séricos da leptina.

É importante ressaltar as dietas das voluntárias (grupos teste e controle) que são pobres em fibras, vitaminas e minerais. Alguns micronutrientes, como as vitaminas A, C, D, E, B6, folato e os minerais, zinco, selênio e ferro apresentam uma grande influência na resposta imune (CHANDRA, 2002) e dessa forma pode influenciar nos achados do estudo.

Garbe, Buck, Hammerling (1992) constataram que a deficiência de vitamina A, observada em ambos os grupos, pode causar um aumento da IL-2, pois o ácido retinóico é uma substância derivada da vitamina A, e tem como função aumentar a expressão de receptores de interleucina-2. Já entre os efeitos imunomoduladores da vitamina D, destaca-se a redução da produção de interleucina-2, IFN- γ e do fator de necrose tumoral (TNF) (LINKER-ISRAELI et al., 2001). No presente estudo, ocorreu uma baixa ingestão alimentar desse nutriente, porém é o sol o responsável por 80 a 90% da vitamina D que o corpo recebe. Mas, deve-se ressaltar que atualmente a deficiência de vitamina D tem sido considerada uma epidemia (KURIACOSE & OLIVE, 2014).

A redução da IL-17 no grupo controle pode estar relacionada com a biodisponibilidade dos compostos bioativos, como também a presença do cacau. Cai et al. (2015) realizou um estudo em ratos, o qual avaliava o efeito da epigalocatequina-3-galato, presente no chá verde, e constatou que com a ingestão deste composto, há uma regulação negativa da IL-17 no processo inflamatório. Como o cacau é riquíssimo em polifenóis, contém epicatequina, epigalocatequina, catequina, entre outros, talvez também pudesse estar associado a este achado.

A respeito da capacidade antioxidante total do plasma, não foi observado diferença estatística em ambos os grupos. Diante disso algumas hipóteses podem ser levantadas.

A primeira hipótese se deve ao fato das diferenças individuais relacionadas à constituição genética de cada indivíduo, as quais podem influenciar em todas as etapas

envolvidas na biodisponibilidade dos compostos bioativos (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009; SIMPSON & CAMPBELL, 2015).

A segunda hipótese seria ao fato de ocorrer uma interação direta entre polifenol e as proteínas do leite, o que pode impedir a absorção do polifenol e com isso reduzir os efeitos esperados na capacidade antioxidante (D’L-REI & MEDEIROS, 2011). Serafini Ghiselli e Ferro-luzzi (1996) observaram em humanos que o chá verde aumenta significativamente a CAT do plasma, mas que adição do leite em chá verde neutraliza esse efeito. Atribuíram esses resultados à complexação dos polifenóis do chá por proteínas do leite.

No entanto, Zampieri (2009) em um estudo sobre as influências da proteína do leite na ação antioxidante de flavanóis em chocolate, não observou diferença significativa entre o chocolate amargo e o chocolate com leite, por isso concluíram que ambos são benéficos à saúde e apresentam equivalentes atividades antioxidantes. Assim, a bebida com leite contendo cacau era uma boa opção, pois é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo. Suas características sensoriais, assim como sua conveniência e praticidade fazem com que o produto seja bem aceito pelo consumidor (EDUARDO & LANNES, 2004).

A terceira hipótese se deve a dieta das voluntárias, que apresenta baixo teor de fibras e alimentos fontes de antioxidante. Esses dados corroboram com os resultados de Silva et al. (2012) que avaliaram o consumo de nutrientes antioxidantes em mulheres fisicamente ativas e observaram que um alto percentual enquadrava-se em um consumo abaixo do recomendado. E de Lopes et al. (2012) que também relataram altas prevalências de consumo insuficiente de cálcio, ferro, zinco, vitaminas A e C em um estudo realizado em mulheres ativas.

Possivelmente se os indivíduos possuísem uma dieta balanceada, com maiores quantidades de alimentos fontes de antioxidantes, a bebida teste talvez pudesse promover maior capacidade antioxidante total do plasma. Assim, o baixo consumo de nutrientes na dieta das voluntárias pode ter influenciado nos achados. Sahade e Montera (2009) observaram que o consumo alimentar rico em micronutrientes, como o selênio, zinco, manganês, cobre, riboflavina, ácido ascórbico e tocoferol funcionam como potentes antioxidantes na redução do estresse oxidativo e dos danos provocados pelo mesmo.

Algumas limitações do estudo devem ser consideradas. Como as perdas das amostras, pois além de limitar o poder estatístico do estudo, também pode induzir alguns vieses, o que pode comprometer o efeito dos resultados.

A utilização de apenas uma metodologia, para avaliar o efeito da bebida funcional a base de FBV, na capacidade antioxidante das voluntárias também limitou as conclusões. Não foram analisados outros marcadores importantes na ação antioxidante. Visto que, a bebida

desenvolvida não apresentou ação direta na capacidade antioxidante total do plasma, mas pode indiretamente ter interagido em outros mecanismos, como na indução de enzimas antioxidantes, na regulação da transcrição de genes ou na proliferação celular.

7 CONCLUSÃO

- a) As bebidas funcionais não apresentaram diferença significativa na microbiota intestinal, capacidade antioxidante total do plasma e nos níveis de citocinas, exceto a IL-17 no grupo controle;
- b) No entanto, a bebida teste promoveu diminuição da circunferência da cintura, relação cintura/quadril e relação cintura/estatura e a bebida controle promoveu redução do colesterol total e LDL.

REFERÊNCIAS

- ABHARI, K. et al. The effects of prebiotic, probiotic and synbiotic diets containing *Bacillus coagulans* and inulin on serum lipid profile in the rat. **Veterinary Science development**, v. 5, n. 2, 2015.
- ABREU, D. A. et al. Desenvolvimento de bebidas mistas à base de manga, maracujá e caju adicionadas de prebióticos. **Alim. Nutr.**, v. 22, n. 2, p. 197-203, 2011.
- AGAMA-ACEVEDO, E. et al. Pasta with unripe banana flour: physical, texture, and preference study. **J Food Sci.**, v. 74, n. 6, p. S263-7, 2009.
- ALBERTINI, B. et al. Effect of Fermentation and Drying on Cocoa Polyphenols. **J. Agric. Food Chem.**, jun., 2015.
- ALMEIDA, L. B. et al. Disbiose intestinal. **Rev. Bras Nutr Clin.**, v. 24, n. 1, p. 58-65, 2009.
- ALVES, A. L.; RIBEIRO, F. A. Q. O papel das citocinas no colesteatoma adquirido da orelha média: revisão da literatura. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 70, n. 6, 2004.
- ANDÚJAR, I. et al. Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health. **Oxid Med Cell Longev.**, v. 2012, p. 906252, 2012.
- ANVISA. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos / Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, Atualizado em julho de 2008. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 19 jul. 2015.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 17 ed. Washington: AOAC – Association of Official Analytical Chemists – International, 2000.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 17 ed. Washington: AOAC – Association of Official Analytical Chemists - Washington, 2002.
- AUORE, G.; PARFAIT, B.; FAHRASMANE, L. Bananas, raw materials for making processed food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 78-91, 2009.

BALTACI, A. K.; MOGULKOC, R. Leptin and zinc relation: In regulation of food intake and immunity. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 16, n. 3, p. S611-S616, 2012.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações, e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.**, v. 23, n. 4, p. 629-643, jul./ago., 2010.

BARCZYNSKA, R. et al. Intestinal Microbiota, Obesity and Prebiotics. **Poulish Journal of Microbiology**, v. 64, n. 2, p. 93-100, 2015.

BARREIROS, A. L. B. S; DAVID, J. M; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BARROSO, R. R.; RUBERT, S. **Elaboração e caracterização de uma bebida láctea acrescida de farinha de quinoa e inulina**. 2011. 75f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 53, n. 5, 2009.

BERTELLI, R. et al. Associação entre a actividade física, envelhecimento e demência. **Acta Med Port**, v. 24, p. 771-774, 2011.

BEZERRA, C. V. et al. Green banana (*Musa cavendishii*) flour obtained in spouted bed – Effect of drying on physico-chemical, functional and morphological characteristics of the starch. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 241-249, 2013.

BLAUT, M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. **European Journal of Nutrition**, v. 41, n. 1, out., 2002.

BIELECKA, M; BIEDRYCKA, E; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, v. 35, n. 2, p. 125-131, 2002.

BINDER, H. J. et al. Oral Rehydration Therapy in the Second Decade of the Twenty-first Century. **Curr Gastroenterol Rep**, v. 16, n. 376, 2014.

BIRT, D. F. et al. Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. **Advances in Nutrition**, v. 4, n. 6, p. 587-601, 2013.

BJELAKOVIC, G. et al. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. **Cochrane Database Syst Rev.**, v. 14, n. 3, 2012.

BOETS, E. et al. Quantification of *in Vivo* Colonic Short Chain Fatty Acid Production from Inulin. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 8916-8929, 2015.

BORCHERS, A. T. et al. Probiotics and immunity. **J Gastroenterol**, v. 44, n. 1, p. 26-46, 2009.

BORDIGA, M. et al. Evaluation of the effect of processing on cocoa polyphenols: antiradical activity, anthocyanins and procyanidins profiling from raw beans to chocolate. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 840-848, 2015.

BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; LUCENA, E. M. P. Caracterização da farinha de banana verde. **Ciênc. e Tecnologia de alimentos**, v. 29, n. 2, p. 333-339, 2009.

BORTOLOZO, E. Q.; QUADROS, M. H. R. Aplicação de inulina e sucralose em iogurte. **Rev. Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 1, n. 1, p. 37-47, 2007.

BOUHNİK, Y. et al. Administration of transgalacto oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation 72papplication in healthy humans. **J. Nutr.**, v. 127, n. 3, p. 444-448, 1997.

BOZZETTO, M. E. S. **Efeito do Licopeno e do Extrato de Tomate Sobre os Níveis Séricos de PSA Total e Livre, Testosterona, IGF-1 e Sintomas Prostáticos em Pacientes com Hiperplasia Prostática Benigna: Um Ensaio Clínico Randomizado Controlado.** 2009. 111f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

BRIGHENTI, F. et al. Effect of consumption of a ready-to-eat breakfast cereal containing inulin on the intestinal milieu and blood lipids in healthy male volunteers. **Eur J Clin Nutr.**, v. 53, n. 9, p. 726-733, 1999.

BROWN, K. et al. Diet-Induced Dysbiosis of the Intestinal Microbiota and the Effects on Immunity and Disease. **Nutrients**, v. 4, n. 8, p. 1095, 1119, 2012.

BUNSER, O. et al. Effect of a milk formula with prebiotics on the intestinal microbiota of infants after ver antibiotic treatment. **Pediatr. Res.**, v. 59, n. 3, p. 451-456, mar., 2006.

CAI, Y. et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate alleviates Porphyromonas gingivalis-induced periodontitis in mice. **Int Immunopharmacol**, v. 29, n. 2, p. 839-845, 2015.

CANANI, R. B. et al. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five applicati preparations. **BMJ**, p. 335-340, ago., 2007.

CANFORA, E. E.; JOCKEN, J. W.; BLAACK, E. E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 11, n. 10, p. 577-591, 2015.

CARDENETTE, G.H. L. **Produtos derivados de banana verde (Musa ssp.) e sua influência na tolerância à glicose e na fermentação colônica.** 2006. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos Área de Nutrição Experimental) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CARVALHO, G. Q.; ALFENAS, R. C. G. Índice glicêmico: uma abordagem crítica acerca de sua utilização na prevenção e no tratamento de fatores de risco cardiovasculares. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 21, n. 5, p. 577-587, set./out. 2008.

CHAMBERS, E. S. et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. **Gut**, v. 64, n. 11, p. 1744-1754, 2015.

CHANDRA, R. K. Nutrition and the immune system from birth to old age. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 3, p. S73-S76, 2002.

CHASSAING, B. et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. **Nature**, v. 5, n. 519, p. 92-96, 2015.

COZZOLINO, S. M. F.; COLLI, C. **Usos e aplicações das "Dietary Reference Intake" DRIs.** São Paulo: ILSI Brasil, 2001.

CUMMINGS, J. H.; ENGLYST, H. N. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. **Am J Clin Nutr**, v. 45, p. 1243-1255, 1987.

CUMMINGS, J. H. et al. Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. **British Journal of Nutrition**, v. 75, n. 5, p. 733-747, mai., 1996.

CUMMINGS, J. H; MACFARLANE, G. T; ENGLYST, H. N. Gastrointestinal effects of prebiotics. **Br. J. Nutr.**, v. 87, mai, 2002.

DAMASCENO, N. R. et al. Medieterranean diet supplemented with nuts reduces waist circumference and shifts lipoprotein subfracions to a less atherogenic pattern in subjects at high cardiovascular risk. **Atherosclerosis**, v. 230, n. 2, p. 347-353, 2013.

DIONÍSIO, A. P. et al. Desenvolvimento de Bebida Prebiótica de Caju e Yacon. **Embrapa Agroindústria Tropical**, Fortaleza, 2013.

DI GIUSEPPE, R. et al. Regular consumption of dark chocolate is associated with low sérum concentrations of C-reactive protein in a healthy Italian population. **J Nutr**; v. 138, p. 1939-1945, 2008.

D'L-REI, J.; MEDEIROS, F. Chocolate e os benefícios cardiovasculares. **Hipertensão Arterial**, v. 10, n. 3, 2011.

DUARTE, A. C. G. **Avaliação nutricional: aspectos clínicos e laboratoriais**. São Paulo: Atheneu, 2007. 607p.

EFRAIM, P; ALVES, A. B; JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of food Technology**, v. 14, n. 3, p. 181-201, 2011.

EFRAIM, P. et al. Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n. 1, 2010.

EDUARDO, M. F.; LANNES, S. C. S. Achocolatados: análise química. **Rev. Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, jul./set., 2004.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Rev. de Saúde Pública**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 211-218, 2009.

FANARO, S. et al. Acidic oligosaccharides from pectin hydrolysate as new component for infant formulae: effect on intestinal flora, stool characteristics, and pH. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 41, p. 186-190, 2005.

FASOLIN, L. H. et al. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 3, p. 524-529, 2007.

FERNÁNDEZ-MILLÁN, E. et al. Cocoa-rich diet attenuates beta cell mass loss and function in young Zucker diabetic fatty rats by preventing oxidative stress and beta cell apoptosis. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, n. 4, p. 820-824, 2015.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, K. A. S. L. **Dor e qualidade de vida relacionada à saúde de pacientes com câncer: influência das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-6, IL-8, e IL-1 β** . 251 f. 2008. Tese (Doutorado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FILIPPO, C. et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 107, n. 33, p. 14691-14696, 2010.

FINKEL, T. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 9, n. 408, p. 239-247, 2000.

FLAMMER, A. J. et al. Cardiovascular effects of flavonol-rich chocolate in patients with heart failure. **European Heart Journal**, v. 33, p. 2172-2180, 2012.

FRAZIER, T. H.; DiBAISE, J. K.; MCCLAIN, C. J. Gut Microbiota, Intestinal Permeability, Obesity-Induced Inflammation, and Liver Injury. **JPEN**, v. 35, n. 5, p 14S-20S, 2011.

FREITAS, M. C. J. **Dietas ricas em amido resistente de bananas verdes (Musa AAA-Nanicão e musa AAB-Terra) promovem alterações na função intestinal, no metabolismo lipídico e glicídico e na microbiota intestinal**. 2001. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVI, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. **Clin. Chem.**, v. 18, p. 499-502. 1972.

FROST, G. et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. **Nature Communications**, v. 29, n. 5, p. 3611, 2014.

FUENTES-ZARAGOZA, E. et al. Resistant starch as functional ingredient: A review. **Food Research International**, v. 43, p. 931–942. 2010.

FUENTES-ZARAGOZA, E. et al. Resistant starch as prebiotic: A review. **Starch-Starke**, v. 63, n. 7, p. 406-415, jul., 2011.

GARBE, A.; BUCK, J.; HAMMERLING, U. Retinoids are important cofactors in T cell activation. **J Exp Med**, v. 176: 109-17, 1992.

GEERS, A. L. et al. Expectations and placebo response: A laboratory investigation into the role of somatic focus. **Journal of Behavioral Medicine**, v. 29, p. 171-178, 2006.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the applicatio prebiotics. **J. Nutr.**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, jun., 1995.

GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the applicatio prebiotics. **Nutr. Res. Ver.**, v. 17, n. 2, p. 259-275, dez., 2004.

GIUSEPPE, V. et al. Inflammation and Oxidative Stress: The Molecular Connectivity between Insulin Resistance, Obesity, and Alzheimer's Disease. **Mediators Inflamm.**, v. 2015, p. 105828, 2015.

GOSZCZ, K. et al. Antioxidants in Cardiovascular Therapy: Panacea or False Hope? **Front Cardiovasc Med.**, v. 6, n. 2, p. 29, 2015.

GONÇALVES, V. D. et al. Avaliação das cultivares de bananeira Prata-Anã, Thap Maeo e Caipira em diferentes sistemas de plantio no norte de Minas Gerais. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, jun., 2008.

GRASSI, D. et al. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. **J Nutr.**, p. 138, n. 9, p. 1671-1676, 2008.

HAENEN, D. et al. A Diet High in Resistant Starch Modulates Microbiota Composition, SCFA Concentrations, and Gene Expression in Pig Intestine. **Journal of Nutrition**, v. 143, n. 3, p. 274-283, 2013.

HAN, K. H. et al. Sterol excretions and hepatic mRNA levels in rats. **Lipids**, v. 38, n. 9, p. 919-924. 2003.

HANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

HAUB, M. D. et al. Different types of resistant starch elicit different glucose responses in humans. **J. Nutr. & Metabol.**, v. 2010, p. 1-4. 2010.

HEVIA, A. et al. Molecular Players Involved in the Interaction Between Beneficial Bacteria and the Immune System. **Front Microbiol.**, v. 6, p. 1285, 2015.

HIGGINS, J. A. Resistant starch and energy balance: impact on weight loss and maintenance. **Crit Rev Food Sci Nutr.**, v. 54, n. 9, p. 1158-1166, 2014.

HULLEY, S. B. et al. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 3. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 384p.

HUTTENHOWER, C. et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 207-214, 2012.

INAN, M. S. The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF- κ B activity in a human colonic epithelial cell line. **Gastroenterology**, v. 118, n. 4, p. 724-734, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 1018 p. (Série A – Normas e Manuais Técnicos).

JEKINS, D. J. et al. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 17, n. 6, p. 609-616, 1998.

JUAREZ-GARCIA, E. et al. Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. **Plant Food Human Nutr.**, v. 61, p. 131-137, 2006.

KALIL, R. A. K. et al. Terapia gênica com VEGF para angiogênese na angina refratária: ensaio clínico fase I/II. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, v. 25, n. 3, p. 311-321, 2010.

KHAN, N. et al. Cocoa Polyphenols and Inflammatory Markers of Cardiovascular Disease. **Nutrients**, v. 6, n. 2, p. 844-880, 2014.

KHAWAJA, O.; GAZIANO, J. M; DJOUSSE, L. Chocolate and coronary heart disease: a systematic review. **Curr Atheroscler Rep**, v. 13, n. 6, p. 447-452, 2011.

KLEESSEN, B. et al. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 65, n. 5, p. 1397-1402, 1997.

KEENAN, M. J. et al. Effects of Resistant Starch, A Non-digestible Fermentable Fiber, on Reducing Body Fat. **Obesity**, v. 14, n. 9, p. 1523-1534, set., 2006.

KRAYCHETE, D. C.; CALASANS, M. T. A.; VALENTE, C. M. L. Citocinas pró-inflamatórias e dor. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 46, n. 3, 2006.

KREGIEL, D. Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers, and Microorganisms. **Biomed Res**, v. 2015, p. 128697, 2015.

KURIACOSE, R.; OLIVE, K. E. Vitamin D insufficiency/deficiency management. **South Med J.**, v. 107, n. 2, p. 66-70, 2014.

LAMPORT, D. J. et al. The effect of flavanol-rich cocoa on cerebral perfusion in healthy older adults during conscious resting state: a placebo controlled, crossover, acute trial. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 232, n. 17, p. 3227-3234, 2015.

LEE, K. W. et al. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **J Agric Food Chem**, v. 51, n. 25, p. 7292-7295, 2003.

LEE, H. C. et al. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. **Research in Microbiology**, v. 157, n. 9, p. 876, 884, 2006.

LEITE, R. C. **O comportamento do consumidor de nível superior de produtos lácteos funcionais**. 2011. 90f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Agronegócios), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

LICHT, T. R; EBERSBACH, T; FROKIAER, H. Prebiotics for prevention of gut infections. **Food Science & Technology**, v. 23, p. 70-82, 2012.

LIMA, R. R. et al. Inflamação em doenças neurodegenerativas. **Rev. Paraense de Medicina**, v. 21, n. 2, 2007.

LINKER-ISRAELI et al. Vitamin D3 and Its Synthetic Analogs Inhibit the Spontaneous in Vitro Immunoglobulin Production by SLE-Derived PBMC. **Clinical Immunology**, v. 99, n. 1, p. 82-93, 2001.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J Nutr**, v. 134, n. 12 suppl, p. 3479S-3485S, 2004.

LIU, Z. et al. Prebiotic effects of almonds and almond skins on intestinal microbiota in healthy adult humans. **Anaerobe**, v. 26, p. 1- 6, 2014.

LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Rev. Nutr.**, v. 16, n. 2, 2003.

LOMEU, F. R. O. **Desenvolvimento de bebida láctea funcional tipo “shake” a base de farinha de banana (Musa spp.) verde e avaliação do efeito sobre marcadores antropométricos, metabólicos e dietéticos de mulheres com excesso de peso e adiposidade abdominal.** 2015. 70f. Dissertação (Mestrado em Biociências aplicadas à saúde), Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2015.

LOPES, A. C. S. et al. Fatores associados ao excesso de peso entre mulheres. **Esc. Anna Nery**, v. 16, n. 3, p. 451-458, 2012.

LU, J. et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **J Cell Mol Med.**, v. 14, n. 4, p. 840-860, 2010.

MARTINEZ, A. P; AZEVEDO, G. R. Tradução, adaptação cultural e validação da Bristol Stool Form Scale para a população brasileira. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 20, n. 3, mai./jun., 2012.

MARTIN, F. J. et al. Metabolic effects of dark chocolate consumption on energy, gut microbiota, and stress-related metabolism in free-living subjects. **Journal of Proteome Research**, v. 8, p. 5568-5579, 2009.

MARUNA, P.; GURLICH, R.; FRASKO, R. Leptin--a new acute phase reactant. **Vnitr Lek.**, v. 47, n. 7, p. 478-483, 2001.

MASSOT-CLADERA, M. et al. Cocoa modulatory effect on rat faecal microbiota and colonic crosstalk. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 527, n. 2, p. 105-112, 2012.

MATHUR, S. et al. Cocoa Products Decrease Low Density Lipoprotein Oxidative Susceptibility but Do Not Affect Biomarkers of Inflammation in Humans. **J Nutr.**, v. 132, p.3663-3667, 2002.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Rev. Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, 2008.

MENEZES, E. W. et al. Chemical Composition and Nutritional Value of Unripe Banana Flour (*Musa acuminata*, var. Nanicão). **Plant Foods Hum Nutr**, v. 66, p. 231–237, 2011.

MENEZES, E. W. et al. Avaliação das propriedades nutricionais de barras de cereais elaboradas com farinha de banana verde. **Rev. Nutrire**, v. 40, n. 1, 2011.

MILLION, M. et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. **Int J Obes (Lond)**, v. 36, n. 6, p. 817-825, 2012.

MITSOU, E. K. et al. Effect of banana consumption on faecal microbiota: A randomised, controlled trial. **Anaerobe**, v. 17, p. 384-387, 2011.

MYUNG, S. et al. Efficacy of vitamin and antioxidant supplements in prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ**, v. 346, 2013.

MOKBEL, S. M.; HASHINAGA, F. Antibacterial and Antioxidant Activities of Banana (*Musa*, AAA cv. Cavendish) Fruits Peel. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 125-131, 2005.

MONAGAS, M. et al. Effect of cocoa powder on the modulation of inflammatory biomarkers in patients at high risk of cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr**; v. 90, p. 1144-1150, 2009.

MONTALTO, M.; GALLO, F. D. O.; GASBARRINI, C. G. Intestinal microbiota and its functions. **Digestive and Liver Disease**, v. 3, p. 30-34, 2009.

MORAES, A. C. F. et al. Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arq. Bras. Endocrinol. Bras.**, v. 58, n. 4, 2014.

MOREIRA, A. P. B. et al. Efeito do processamento e armazenamento de alimentos ricos em amido sobre o índice glicêmico e resposta glicêmica. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 29, n. 2, p. 281-292, jul./dez. 2011.

MURPHY, S. P.; BARR, S. I. Practice paper of the American Dietetic Association: using the Dietary Reference Intakes. **J Am Diet Assoc.**, v. 111, n. 5, p. 762-770, 2011.

MURSU, J. et al. Dark Chocolate Consumption Increases HDL Cholesterol Concentration and Chocolate Fatty Acids May Inhibit Lipid Peroxidation in Healthy Humans. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 9, p. 1351-1359, 2004.

NEGRINI, J. A. E. et al. Impacto do consumo regular da farinha de banana verde sobre o funcionamento intestinal, avaliado através do questionário Gastrointestinal Symptom Rating Scale. In CONGRESSO NACIONAL DA SBAN, 12, 2013, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: 2013. P. 49.

OLIVEIRA, A. P.; SOUZA, C. M. Influência da cobertura morta na umidade, incidência de plantas daninhas e de broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*) em um pomar de bananeiras (*Musa spp.*). **Rev. Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 345-347, 2003.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade dos ácidos fenólicos. **Quim. Nova**, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

OOI, L.; LIONG, M. Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings. **Int J Mol Sci.**, v. 11, n. 6, p. 2499-2522, 2010.

ORNEMESE, R. C. S. C. **Obtenção de farinha de banana verde por diferentes processos de secagem e aplicação em produtos alimentícios.** 2010. 87f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

PADOVANI, R. M. et al. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Rev. Nutr.**, v. 19, n. 6, p. 741-760, nov./dez., 2006.

PALAU-RODRIGUEZ, M. et al. Metabolomic insights into the intricate gut microbial–host interaction in the development of obesity and type 2 diabetes. **Front Microbiol**, v. 6, p. 1151, 2015.

PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Effect of prebiotic fibre supplementation on hepatic gene expression and serum lipids: a dose–response study in JCR:LA-cp rats. **Br J Nut.**, v. 103, n. 11, 2010.

- PEREIRA, G. P. **Compostos Bioativos e atividade antioxidante em bananas (Musa sp.)**. 2012. 63f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2012.
- PEREIRA, M. C. A. **Influência do consumo de farinhas da polpa e casca de banana e do fermentado de quefir nos níveis glicêmicos e lipidêmicos de ratos**. 2007. 136f. Dissertação de mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- PERUCHA, V. P. As propriedades funcionais da banana verde. **Revista Nutrição Funcional, Anuário Alimentos Funcionais**, ano 6, ed. 26, jun. 2005.
- PIRES, E. A. et al. Perfil dos documentos de patente referentes a tecnologias e produtos probióticos, prebióticos e simbióticos na América Latina. **Cadernos de Prospecção**, v. 8, n. 1, p. 142-149, 2015.
- PHILLIPS, J. et al. Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation-dependent events in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 62, n. 1, p. 121-130, jul., 1995.
- POLJSAK, B. Strategies for Reducing or Preventing the Generation of Oxidative Stress. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2011, p. 194586, 2011.
- POLJSAK, B.; FINK, R. The Protective Role of Antioxidants in the Defence against ROS/RNS-Mediated Environmental Pollution. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2014, p. 671539, 2014.
- QIN, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. **Nature**, v. 464, p. 59-65, 2010.
- RABBANI, G. H. et al. Green banana reduces clinical severity of childhood shigellosis: a double-blind, randomized, controlled clinical trial. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 28, n. 5, maio. 2009.
- RABBANI, G. H. Green banana-supplemented diet in the home management of acute and prolonged diarrhoea in children: a community-based trial in rural Bangladesh. **TM&IH**, v. 15, n. 10, p. 1132-1139, out., 2010.
- RAMIREZ-SANCHEZ, I. et al. (-)-Epicatechin rich cocoa mediated modulation of oxidative stress regulators in skeletal muscle of heart failure and type 2 diabetes patients. **Int J Cardiol.**, v. 168, n. 4, p. 3982-3990, 2013.

RAMIRO, E. et al. Effect of Theobroma cacao flavonoids on immune activation of a lymphoid cell line. **Br J Nutr.**, v. 93, n. 6, p. 859-866, 2005.

RAMIRO-PUIG, E. et al. Spleen lymphocyte function modulated by a cocoa-enriched diet. **Clin Exp Immunol.**, v. 149, n. 3, p. 535-542, 2007.

RAMOS, D. P.; LEONEL, M.; LEONEL, S. Amido resistente em farinhas de banana verde. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 479-483, jul./set. 2009.

REBELLO, L.P.G et al. Flour of banana (Musa AAA) peel as a source of antioxidante phenolic compounds. **Food Research International**, v. 55, p. 397-403, 2014.

REHM, C. D.; DREWNOWSKI, A.; MONSIVAIS, P. Potential Population-Level Nutritional Impact of Replacing Whole and Reduced-Fat Milk With Low-Fat and Skim Milk Among US Children Aged 2–19 Years. **J Nutr Educ Behav.**, v. 47, n. 1, p. 61-68, 2015.

RUBIO-RUIZ, M. E. et al. An Evolutionary Perspective of Nutrition and Inflammation as Mechanisms of Cardiovascular Disease. **Int J Evol Biol.**, v. 2015, p. 179791, 2015.

SADOWSKA-BARTOSZ, I.; BARTOSZ, G. Effect of Antioxidants Supplementation on Aging and Longevity. **Bio Med Research International**, 2014.

SANBONGI, C.; SUZUKI, N.; SAKANE, T. Polyphenols in Chocolate, Which Have Antioxidant Activity, Modulate Immune Functions in Humans *in Vitro*. **Cellular Immunology**, v. 177, n. 2, p. 129-136, 1997.

SANTOS, H. J. X. **Envelhecimento feminino: aspectos nutricionais e qualidade de vida**. 2011. 86 f. Dissertação de Mestrado em Saúde e Ambiente – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2011.

SANTOS, J. F. S. **Avaliação das propriedades nutricionais de barras de cereais elaboradas com farinha de banana verde**. 2010. 70f. Dissertação de Mestrado em Ciência dos alimentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

SAHADE, V.; MONTERA, V. S. P. Tratamento nutricional em pacientes com insuficiência cardíaca. **Rev. Nutrição**, v. 22, n. 3, 2009.

SALGADO, S. M. et al. Aspectos físico-químicos e fisiológicos do amido resistente. **B.CEPPA**, v. 23, n. 1, jan./jun., 2005.

SARRIÁ, B. et al. Effects of bioactive constituents in functional cocoa products on cardiovascular health in humans. **Food Chemistry**, v. 174, p. 214-218, mai., 2015.

SASIPRIYA, G.; LINTU MARIA, C.; SIDDHURAJU, P. Influence of pressure cooking on antioxidant activity of wild (*Ensete superbum*) and commercial banana (*Musa paradisiaca* var. Monthan) unripe fruit and flower. **J Food Sci Technol.**, v. 51, n. 10, p. 2517-2525, 2014.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T.; SALTMARSH, M. Polyphenols: antioxidants and beyond. **Am J Clin Nutr**, v. 81, p. 215S-217S, 2005.

SCAPAGNINI, G. et al. Cocoa Bioactive Compounds: Significance and Potential for the Maintenance of Skin Health. **Nutrients**, v. 6, n. 8, p. 3202-3213, 2014.

SCHIPPA, S.; CONTE, M. P. Dysbiotic Events in Gut Microbiota: Impact on Human Health. **Nutrients**, v. 6, n. 12, p. 5786-5805, 2014.

SCHOLTENS, P. A. M. J; GOOSSENS, D. A. M; STAIANO, A. Stool characteristics of infants receiving short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides: A review. **World J. Gastroenterol.**, v. 20, n. 37, p. 13446-13452, out., 2014.

SERAFINI, M.; GHISELLI, A.; FERRO-LUZZI, A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 50, n. 1, p. 28-32, 1996.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresa. O mercado do cacau como oportunidade para os pequenos negócios. 2014. Disponível em: <<http://www.sebraemercados.com.br/>> Acesso em: 05 de jan 2016.

SHODEHINDE, S. A.; OBOH, G. Antioxidant properties of aqueous extracts of unripe *Musa paradisiaca* on sodium nitroprusside induced lipid peroxidation in rat pancreas in vitro. **Asian Pac J Trop Biomed.**, v. 3, n. 6, p. 449-457, 2013.

SIERRA, C. et al. Prebiotic effect during the first year of life in healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial. **Eur J Nutr**, v. 54, p. 89-99, 2015.

SILVA, J. V. F. P. et al. Avaliação do consumo de nutrientes antioxidantes por mulheres fisicamente ativas. **Brazilian Journal of Sports Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 30-36, 2012.

SILVA, S. T. et al. Women with metabolic syndrome improve anthropometric and biochemical parameters with green banana flour consumption. **Nutrición Hospitalaria**, v. 29, n. 5, p. 1070-1080, 2014.

SILVEIRA JÚNIOR, A. O. **O Exame Coprológico e as Funções Digestivas**. 1 Ed Santos: São Paulo, 1988.

SILVEIRA, K. C. et al. Bebida à base de flocos de abóbora com inulina: características prebióticas e aceitabilidade. **Rev. Nutr.**, v. 21, n. 3, 2008.

SIMPSON, H.L.; CAMPBELL, B.J. Review article: dietary fibre–microbiota interactions. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, mai., 2015.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: Packer, L. (Ed.), Oxidants and Antioxidants, Part A. **Meth Enzymol**, v. 299, p. 299:152-178. 1999.

SLAVIN, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1417-1435, 2013.

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. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2535-2545, 2003.

SOMEYA, S.; YOSHIKI, Y.; OKUBO, K. Antioxidant compounds from bananas (Musa Cavendish). **Food Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 351-354, nov., 2002.

SOEDAMAH-MUTHU, S. S. et al. Milk and dairy consumption and incidence of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. **Am J Clin Nutr.**, v. 93, n. 1, p. 158-171, 2011.

SPRAGUE, A. H.; KHALIL, R. A. Inflammatory Cytokines in Vascular Dysfunction and Vascular Disease. **Biochem Pharmacol**, v. 78, n. 6, p. 539-552, 2009.

SVEDLUND, J; SJODIN, I; DOTEVALL, G. GSRS—a clinical rating scale for gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome and peptic ulcer disease. **Dig Dis Sci**, v. 33, p. 129–134, 1988.

TATEYAMA, I. et al. Effect of Xylooligosaccharide Intake on Severe Constipation in Pregnant Women. **J Nutr Sci Vitaminol.**, v. 55, p. 445-448, 2005.

TEIXEIRA, T. F. S.; Potential mechanisms for the emerging link between obesity and increased intestinal permeability. **Nutrition Research**, v. 32, p. 637-647, 2012.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

TODOROVIC, V. et al. Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 137-143, ago., 2015.

TOPPING, D. L; FUKUSHIMA, M; BIRD, A. R. Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art. **Journal Cambridge**, v. 62, n. 1, p. 171-176, 2003.

TORRES, L. L. G. et al. Efeito da umidade e da temperatura no processamento de farinha de banana verde (*Musa acuminata*, grupo aaa) por extrusão termoplástica. **B.CEPPA**, v. 23, n. 2, p. 273-290, jul/dez., 2005.

TURNER, M. D. et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1843, n. 11, p. 2563-2582, 2014.

TZOUNIS, X. et al. Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. **Am J Clin Nutr**, v. 93, n. 1, p. 62-72, 2011.

VAN HOFFEN, E. A specific mixture of short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides induces a beneficial immunoglobulin profile in infants at high risk for allergy. **Allergy**, v. 64, n. 3, p. 484-487, 2009.

VARELLA, P. P. V.; FORTE, W. C. N. Citocinas: revisão. **Rev. bras. Alerg. Immunopatol.**, v. 24, n. 4, p. 146-154, 2001.

VIANNA, H. R. et al. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. **J. Bras. Nefrol.**, v. 33, n. 3, 2011.

VISIOLI, F.; STRATA, A. Milk, Dairy Products, and Their Functional Effects in Humans: A Narrative Review of Recent Evidence. **Adv Nutr.**, v. 5, n. 2, p. 131-143, 2014.

VIVATVAKIN, B. et al. Effect of a whey-predominant starter formula containing LCPUFAs and oligosaccharides (FOS/GOS) on gastrointestinal comfort in infants. **Asia Pac J Clin Nutr.**, v. 19, n. 4, p. 473-480, 2010.

VOLP, A. C. P. et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 52, n. 3, 2008.

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiologia**, v. 101, n. 4, supl. 1, out., 2013.

WECKX, L. L. M. et al. Levamisol não previne lesões de estomatite aftosa recorrente: um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 55, n. 2, 2009.

YAMASHITA, H. et al. Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. **Biosci Biotechnol Biochem.**, v. 71, n. 5, p. 1236-1243, 2007.

YEN, W. J. et al. Antioxidant activity of peanut seed testa and its antioxidative component, ethyl protocatechuate. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 193-200, 2005.

ZACHARY, T. et al. Cocoa procyanidins with different degrees of polymerization possess distinct activities in models of colonic inflammation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 8, ago., 2015.

ZAIBI, M. S. et al. Roles of GPR41 and GPR43 in leptin secretory responses of murine adipocytes to short chain fatty acids. **FEBS Letters**, v. 584, n. 11, p. 2381-2386, 2010.

ZALESKI, A.; BANASZKIEWICZ, A.; WALKOWIAK, J. Butyric acid in irritable bowel syndrome. **Prz Gastroenterol.**, v. 8, n. 6, p. 350-353, 2013.

ZAMPIERI, D. F. **Influência de proteínas do leite na ação antioxidantes de flavanóis em chocolate.** 2009. 88f. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

ZANDONADI, R. P. **Massa de banana verde: uma alternativa para exclusão do glúten.** 2009. 105f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

ZHENG, H. et al. Metabolomics to Explore Impact of Dairy Intake. **Nutrients**, v. 7, n. 6, p. 4875-4896, 2015.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da farinha de banana verde sob a microbiota intestinal e na capacidade antioxidante.

Pesquisador: Camilla Ribeiro Vieira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 33253114.1.0000.5142

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 778.562

Data da Relatoria: 29/08/2014

Apresentação do Projeto:

a banana verde é um alimento facilmente obtido no Brasil e, na forma de farinha, atua melhorando a consistência das fezes, redução de dores abdominais e de sensação de esvaziamento incompleto do intestino, melhora do perfil lipídico. Sua ingestão não apresenta efeitos colaterais. Torna-se importante o estudo dos efeitos dos alimentos ricos em amido resistente, como a farinha de banana verde, em indivíduos com excesso de peso e gordura abdominal, buscando-se identificar os benefícios funcionais deste alimento.

Objetivo da Pesquisa:

avaliar os efeitos do consumo diário de farinha de banana verde na microbiota intestinal e na capacidade antioxidante, por meio do exame de fezes, aplicação do questionário Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS), e avaliação da concentração de produtos da oxidação de lipídeos no plasma.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS E DESCONFORTOS: Este estudo oferece risco mínimo para os voluntários, no entanto, não se espera efeitos adversos. Ao longo do estudo os participantes serão acompanhados pelo médico da equipe.

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700
Bairro: centro **CEP:** 37.130-000
UF: MG **Município:** ALFENAS
Telefone: (35)3299-1318 **Fax:** (35)3299-1318 **E-mail:** comite.etica@unifal-mg.edu.br

APÊNDICE A - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



Continuação do Parecer: 778.562

BENEFÍCIOS: espera-se que a ingestão regular da farinha de banana verde proporcione melhora na glicemia, insulinemia, perfil lipídico, na consistência das fezes e na capacidade antioxidante.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa com caráter relevante e de importância quando se trata de alternativas de consumo de alimentos com efeitos antioxidantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto apresentou todos os documentos necessários.

Recomendações:

Modificar a menção do risco mínimo uma vez que terá a utilização de uma técnica invasiva, mas o projeto demonstra que os benefícios superam os riscos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há. Projeto aprovado sem ressalvas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado do CEP acata o parecer do relator.

ALFENAS, 04 de Setembro de 2014

Assinado por:
Cristiane da Silva Marciano Grasselli
(Coordenador)

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700
Bairro: centro CEP: 37.130-000
UF: MG Município: ALFENAS
Telefone: (35)3299-1318 Fax: (35)3299-1318 E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____
portador(a) do CPF _____ declaro participar livre e consciente do projeto “**Efeito da farinha de banana verde sob a microbiota intestinal e na capacidade antioxidante**”. Disponho-me a disponibilizar amostras de fezes e a responder o questionário baseado no Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS). Tenho consciência que meu nome não será divulgado e que os dados obtidos serão utilizados somente para fins de pesquisa. Estou ciente de que minha participação é voluntária, ou seja, a qualquer momento posso recusar a responder qualquer pergunta ou desistir de participar e retirar meu consentimento, observando os itens abaixo:

*Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição que forneceu os seus dados.

*Não há nenhum custo ou quaisquer compensações financeiras.

Por ser verdade, firmo o presente.

Alfenas, ____ de _____ de 2014.

Camilla Ribeiro Vieira - Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714. Tel (35) 3299 – 1110
Dra. Roberta Ribeiro Silva - Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714. Tel (35) 3299 - 1110

Assinatura da participante

APÊNDICE C – Controle semanal do consumo das bebidas

ACOMPANHAMENTO SEMANAL DE CONSUMO

Nome: _____ N°: _____

Semana de Consumo: _____^a Período de Consumo: ____/____ a ____/____/2014

	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
Você bebeu o shake todos os dias esta semana? Se não, quantos dias bebeu?			
Você conseguiu beber toda a quantidade necessária? Se não, quanto conseguiu?			
Seu intestino está funcionando normalmente? Se não, descreva o que mudou esta semana (frequência).			
A consistência das suas fezes está alterada? Se sim, em que aspecto?			
Sua ingestão de líquido mudou esta semana? Se sim, em que aspecto?			
Você notou alguma alteração na sua sensação de fome? Se sim, o que mudou?			
Você notou alguma alteração na sua sensação de saciedade? Se sim, o que mudou?			
Você tem alguma observação em relação ao consumo do shake nesta semana que você considera importante?			
Você apresentou algum problema de saúde esta semana? Se sim, qual?			
Você ingeriu algum medicamento diferente do habitual esta semana? Se sim, qual?			
Você alterou sua prática de atividade física esta semana? Se sim, o que mudou?			

APÊNDICE D - Perfil das voluntárias (n=22)

Tabela 16 - Perfil das voluntárias que participaram com amostra das fezes.

	Grupo Controle (n=11)	Grupo Teste (n=11)	P
Idade (anos)	33,6 ± 9,2	41 ± 7,9	0,041
Peso (Kg)	75,72 ± 10,43	74,42 ± 11,76	0,613
IMC (Kg/m²)	28,59 ± 3,17	28,66 ± 3,03	0,478
Hábito intestinal (%)			
1 – 3x/dia	63,63	90,9	
3 – 4x/sem	27,27	0	0,496
1- 2x/sem	9,09	9,09	
Consistência das fezes			
(%)	90,9	72,72	
Consistência Normal	0	27,27	0,898
Consistência Pastosa	9,09	0	
Consistência ressecada			
Ingestão hídrica (%)			
>2 L/dia	9,09	27,27	
2 -1,5 L/dia	36,36	9,09	0,748
1,5 a 1 L/dia	36,36	27,27	
< 1 L/dia	18,18	36,36	
Atividade física (%)			
Diária	9,09	9,09	
1-3x /sem	9,09	27,27	0,928
4 x ou mais /sem	9,09	0	
Nenhuma	72,72	63,63	

Fonte: Do autor.

APÊNDICE E - Perfil das voluntárias (n=38)

Tabela 17 - Perfil das voluntárias que participaram com amostras para análise da capacidade antioxidante total do plasma

	Grupo Controle (n=20)	Grupo Teste (n=18)	p
Idade (anos)	34,3 ± 8,29	36,38 ± 8,54	0,449
Peso (Kg)	76,06 ± 10,41	74,71 ± 11,91	0,711
IMC (Kg/m²)	29,05 ± 3,63	28,69 ± 4,27	0,781
Hábito intestinal (%)			
1 – 3x/dia	60,0	77,77	0,565
3 – 4x/sem	30,0	5,55	
1- 2x/sem	10,0	16,66	
Consistência das fezes (%)			
Consistência Normal	75,0	66,66	0,468
Consistência Pastosa	0	11,11	
Consistência ressecada	25,0	22,22	
Ingestão hídrica (%)			
>2 L/dia	5,0	16,66	0,188
2 -1,5 L/dia	30,0	11,11	
1,5 a 1 L/dia	45,0	33,33	
< 1 L/dia	20,0	38,88	
Atividade física (%)			
Diária	30,0	38,88	0,926
1-3x /sem	0	0	
4 x ou mais /sem	0	0	
Nenhuma	70,0	61,11	

Fonte: Do autor

APÊNDICE F – Análise das fezes



Figura 8 - Análise das fezes.

APÊNDICE G – Marcadores bioquímicos (n=22)

Tabela 18 – Dados bioquímicos das voluntárias que participaram da etapa de caracterização das fezes e determinação dos AGCC

Variáveis	Grupo Controle (n=11)		P	Grupo Teste (n=11)		P
	Antes da Intervenção	Após a Intervenção		Antes da Intervenção	Após a Intervenção	
Colesterol Total (mg/dl)	202,09±29,68	186,63±30,62	0,008	216,09±35,33	206,81±44,57	0,240
HDL (mg/dl)	52±7,49	51,18±9,31	0,718	50,09±14,87	52,54±17,47	0,122
LDL (mg/dl)	120,45±26,72	109,76±25,08	0,001	136,54±23,97	124,61±30,42	0,164
VLDL (mg/dl)	29,63±15,86	25,69±13,26	0,044	30,27±18,24	29,65±20,32	0,809
Triglicérides (mg/dl)	148,18±79,32	128,45±66,31	0,044	151,36±91,20	148,27±101,6	0,809

Fonte: Do autor.

APÊNDICE H – Marcadores Antropométricos (n=22)

Tabela 19 - Marcadores antropométricos antes e após a intervenção das voluntárias que participaram da etapa de caracterização das fezes e determinação dos AGCC.

Variáveis	Grupo Controle (n=11)		P	Grupo Teste (n=11)		P
	Antes da Intervenção	Após a Intervenção		Antes da Intervenção	Após a Intervenção	
Peso (Kg)	75,72±10,43	75,61±11,23	0,763	74,42±11,76	74,29±12,22	0,587
IMC (Kg/m ²)	28,59±3,17	28,51±3,26	0,613	28,66±3,03	28,60±3,23	0,547
CC (cm)	92,01±10,41	91,06±9,70	0,369	92,52±8,31	91,0±8,12	0,020
CQ (cm)	108,52±8,41	107,86±8,59	0,146	106,2±9,79	106,0±9,74	0,679
RCQ (cm)	0,84±0,05	0,84±0,042	0,638	0,87±0,06	0,86±0,06	0,086
RCEst (cm)	56,66±6,67	56,02±5,73	0,337	57,56±4,78	56,61±4,73	0,019
GC (%)	35,15 ± 3,29	34,13 ± 4,02	0,037	34,45±3,41	33,23±3,53	0,000
MG (Kg)	26,86 ± 5,87	26,16 ± 6,65	0,08	25,91±6,52	24,99±6,65	0,000
MM (Kg)	48,8 ± 5,00	49,44 ± 5,21	0,127	48,46±5,60	49,27±6,02	0,003

Fonte: Do autor.

Legenda: CC: circunferência da cintura; CQ: circunferência do quadril; RCQ: relação circunferência/quadril; RCEst: Relação cintura/estatura; GC: gordura corporal; MG: massa gorda; MM: massa magra

ANEXOS

ANEXO A - Análise microbiológica da FBV e das bebidas controle e teste

Tabela - Análises microbiológicas de farinha de banana verde, pó para preparo de shake com farinha de banana verde e pó para preparo de shake sem farinha de banana verde, comparadas com a Legislação RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001.

Microorganismo	Farinha de banana verde	Pó para preparo de shake com farinha de banana verde (SBV)	Pó para preparo de shake sem farinha de banana verde (SP)	Recomendado pela RDC nº12/2001, tolerância para amostra indicativa
<i>Salmonella</i> sp/25g	ausência	Ausência	Ausência	ausência
<i>B. cereus</i> /g	ausência	Ausência	Ausência	10 ³
Coliformes a 45°C/g	ausência	Ausência	Ausência	10
Estafilococos coagulase positiva/g	ausência	Ausência	Ausência	10 ²
Bolores e Leveduras UFC.g ⁻¹	7,3 x 10 ²	2,63 x 10 ²	2,96 x 10 ²	-

Fonte: Lomeu, 2015.

ANEXO B – Análise sensorial das bebidas controle e teste

Tabela. Médias do teste sensorial afetivo realizado para as formulações do shake.

Formulações / Atributos	SBV1	SBV2	SBV3	SBV4	SP1	SP2
Aparência	7,23	6,68	6,75	6,66	7,46	7,41
Aroma	5,77	5,40	5,53	5,62	6,92	6,96
Sabor	5,12	4,67	4,79	4,69	7,07	7,17
Doçura	5,27	4,91	4,77	4,74	6,80	6,91
Consistência	5,92	5,62	5,64	5,51	7,39	7,39
Impressão Global	5,38	5,14	5,15	5,02	7,21	7,10

SBV - shake com farinha de banana verde: SBV1 – amostra 1; SBV2 – amostra 2; SBV3 – amostra 3; SBV4 – amostra 4; SP – shake placebo: SP1 – amostra 1; SP2 – amostra 2.

Fonte: Lomeu, 2015.

ANEXO C - Escala de Bristol

Escala de Bristol de Consistência de Fezes

Tipo 1		Pequenas bolinhas duras, separadas como coquinhos (difícil para sair).
Tipo 2		Formato de linguiça encaroçada, com pequenas bolinhas grudadas.
Tipo 3		Formato de linguiça com rachaduras na superfície.
Tipo 4		Alongada com formato de salsicha ou cobra, lisa e macia.
Tipo 5		Pedaços macios e separados, com bordas bem definidas (fáceis de sair).
Tipo 6		Massa pastosa e fofa, com bordas irregulares.
Tipo 7		Totalmente líquida, sem pedaços sólidos.

Traduzido e validado com o consentimento da empresa Merges Lda.

Fonte: Martinez & Azevedo, 2012.

ANEXO D - Questionário baseado no Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS)

Nome: _____

Data: _____ Semana de Aplicação: _____

Questionário baseado no Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS)**1. Dor epigástrica**

- (1) 0 Nenhuma dor ou dor transitória
- (2) 1 Dor ocasional sem interferir com atividade social
- (3) 2 Dor prolongada necessitando de medicamento e/ou interferindo com algumas atividades sociais
- (4) 3 Dor grave com impacto em todas as atividades sociais

2. Pirose – Representando desconforto retroesternal ou sensação de queimação.

- (1) 0 Nenhuma dor ou dor transitória
- (2) 1 Desconforto ocasional de curta duração
- (3) 2 Desconforto prolongado necessitando de medicamento e/ou interferindo com alguma atividade.
- (4) 3 Desconforto contínuo com alívio apenas temporário por antiácidos.

3. Regurgitação ácida

- (1) 0 Nenhuma regurgitação ou regurgitação transitória
- (2) 1 Episódio ocasional incômodo
- (3) 2 Regurgitação uma ou duas vezes por dia
- (4) 3 Regurgitação várias vezes ao dia, alívio temporário apenas por antiácidos.

4. Desconforto na região epigástrica

- (1) 0 Sem desconforto
- (2) 1 Episódios ocasionais e de curta duração
- (3) 2 Episódios frequentes e prolongados
- (4) 3 Episódios contínuos severos, interferindo com o desempenho social.

5. Náuseas e vômitos

- (1) 0 Ausência de náuseas
- (2) 1 Episódios ocasionais e de curta duração

(3) 2 Episódios freqüentes e prolongados de náusea, sem vômitos

(4) 3 Náuseas contínuas e vômitos frequentes.

6. Rugido estomacal

(1) 0 Sem rugido estomacal

(2) 1 Episódios ocasionais e de curta duração

(3) 2 Episódios frequentes e prolongados

(4) 3 Episódios contínuos severos, interferindo com o desempenho social.

7. Distensão abdominal – Representando inchaço com gás abdominal

(1) 0 Não ou distensão abdominal transitória

(2) 1 Desconforto ocasional de curta duração

(3) 2 Episódios frequentes e prolongados

(4) 3 Desconforto contínuo interferindo seriamente com o desempenho social

8. Eructação

(1) 0 Não ou eructação transitória

(2) 1 Desconforto ocasional de curta duração

(3) 2 Episódios frequentes e prolongados

(4) 3 Desconforto contínuo interferindo seriamente com o desempenho social

9. Aumento de flatulência

(1) 0 Sem aumentos

(2) 1 Desconforto ocasional de curta duração

(3) 2 Episódios frequentes e prolongados

(4) 3 Desconforto contínuo interferindo seriamente com o desempenho social

10. Diminuição da passagem das fezes

(1) 0 Uma vez por dia

(2) 1 A cada três dias

(3) 2 A cada cinco dias

(4) 3 A cada sete dias ou menos

11. Aumento da passagem de fezes

(1) 0 Uma vez ao dia

- (2) 1 Três vezes ao dia
- (3) 2 Cinco vezes ao dia
- (4) 3 Sete vezes ao dia ou mais

12. Fezes amolecidas

- (1) 0 consistência normal
- (2) 1 Um pouco solto
- (3) 2 Escorrendo
- (4) 3 aguado

13. Fezes duras

- (1) 0 consistência normal
- (2) 1 Um pouco difícil
- (3) 2 Rígido
- (4) Rígido e fragmentado, às vezes em combinação com diarreia

14. Necessidade de defecar

- (1) 0 Controle normal
- (2) 1 Sentimentos ocasionais de urgência para defecação
- (3) 2 Sentimentos frequentes de urgência para defecação com súbita necessidade de um banheiro, interferindo com o desempenho social.
- (4) 3 Incapacidade de controlar a defecação

15. Sensação de evacuação incompleta

- (1) 0 Sensação de evacuação completa , sem sobrecarregar
- (2) 1 Defecação um pouco difícil, sentimentos ocasionais de evacuação incompleta
- (3) 2 Defecação definitivamente difícil; muitas vezes, sensação de evacuação incompleta
- (4) 3 Defecação extremamente difícil; sentimentos regulares de evacuação incompleta.