



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FLÁVIA IMANISHI RUZON

**DESENVOLVIMENTO DE INGREDIENTE ALIMENTAR EM
PÓ À BASE DE CÚRCUMA, CANELA, MANOPROTEÍNA E
PROTEÍNA ISOLADA DE SORO DE LEITE COM
Bifidobacterium lactis HN019**

FLÁVIA IMANISHI RUZON

**DESENVOLVIMENTO DE INGREDIENTE ALIMENTAR EM
PÓ À BASE DE CÚRCUMA, CANELA, MANOPROTEÍNA E
PROTEÍNA ISOLADA DE SORO DE LEITE COM
Bifidobacterium lactis HN019**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Doutorado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez.

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Ruzon, Flávia Imanishi.

Desenvolvimento de ingrediente alimentar em pó à base de cúrcuma, canela, manoproteína e proteína isolada de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019 / Flávia Imanishi Ruzon. - Londrina, 2017.
112 f. : il.

Orientador: Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2017.
Inclui bibliografia.

1. Alimento funcional - Tese. 2. Dieta - Tese. 3. Saúde - Tese. I. Castro-Gómez, Raúl Jorge Hernan. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . III. Título.

FLÁVIA IMANISHI RUZON

**DESENVOLVIMENTO DE INGREDIENTE ALIMENTAR EM PÓ À
BASE DE CÚRCUMA, CANELA, MANOPROTEÍNA E PROTEÍNA
ISOLADA DE SORO DE LEITE COM *Bifidobacterium lactis* HN019**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Doutorado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Raúl Jorge Hernan Castro-
Gómez
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof.a Dr.a Carla Cristiane da Silva
Universidade Estadual do Norte do Paraná -
UENP

Prof. Dr. Cláudio Takeo Ueno
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof. Dr. Emerson José Venancio
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof.a Dr.a Sandra Garcia
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 13 de abril de 2017.

*Aos meus pais, Vera Lucia e Claudir,
ao meu irmão, Fabrício,
e ao meu esposo, Maycon,
pelo amor e carinho,
por estarem sempre ao meu lado,
motivando-me e ajudando-me.
Minha família, amo vocês.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem tudo devemos e, sem o qual, nada seríamos.

Aos meus pais, Vera Lucia e Claudir, pelo amor, carinho e incentivo. Serei eternamente grata por me proporcionarem a oportunidade de estudar e atingir meus objetivos. Vocês são meus exemplos. Obrigada por estarem sempre presentes.

Ao meu irmão, Fabrício, meu grande amigo, pelo amor, carinho e incentivo. Obrigada por estar sempre ao meu lado.

Ao meu esposo Maycon, pelo amor, carinho e incentivo. Obrigada por me motivar e participar da realização deste trabalho.

Aos meus avós, Helena, José e Uruo, que, tenho certeza, do Céu, cuidam de mim, e Masako, por me inspirarem. Vocês são batalhadores e vencedores.

À Universidade Estadual de Londrina (UEL), pela infraestrutura disponibilizada para a minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida, fundamental para o desenvolvimento do meu doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Raúl, pela confiança, disposição e pelos ensinamentos. Minha admiração e respeito.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade e contribuições a esta tese.

Aos docentes do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA)/UEL, pelos ensinamentos.

Ao professor Dr. Emerson José Venancio, agradeço a receptividade no Laboratório de Imunologia IV do Centro de Ciências Biológicas (CCB)/UEL e auxílio neste estudo.

À Prof.^a Dr.^a Carla Cristiane da Silva, sou grata pela ajuda prestada na execução deste estudo. Obrigada pela disposição.

Ao pessoal do grupo de estudos do Laboratório de Imunologia IV do CCB/UEL, agradeço a disposição e sugestões.

Ao Prof. Dr. Célio Roberto Estanislau, do Departamento de Psicologia Geral e Análise do Comportamento (PGAC)/UEL, pela receptividade e por disponibilizar o biotério.

Ao pessoal do Laboratório de Desenvolvimento de Instrumentação e Automação Analítica (DIA)/UEL, em especial à Prof.^a Dr.^a Suzana Lucy Nixdorf, pela oportunidade e receptividade.

Ao pessoal do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário (HV)/UEL, em especial, às professoras Dr.^a Mara Regina Stipp Balarin e Dr.^a Karina Keller Marques da Costa Flaiban, pela disponibilidade em realizar os exames de sangue dos animais.

Ao pessoal do Laboratório de Alimentos/DCTA/UEL, em especial à Prof.^a Dr.^a Wilma Aparecida Spinosa, pela disponibilidade e sugestões.

À Farmácia de Manipulação e Homeopatia Doce Erva (Arapongas, PR), em especial à farmacêutica Dr.^a Isamélia Constâncio, por disponibilizar seu espaço.

Ao Centro de Patologia e Análises Clínicas de Londrina (CLINILAB) (Londrina, PR), em especial ao farmacêutico-bioquímico Dr. Jorge Bittar Filho, pela disponibilidade em realizar os exames de sangue dos participantes do estudo.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, pela companhia e troca de ideias.

Aos voluntários do estudo, pela fundamental participação.

Ao Orlando Barbieri Belloli, pela ajuda na obtenção da manoproteína.

Aos alunos do Laboratório de Imunologia IV do CCB/UEL, Eduardo Vignoto Fernandes, Marcio Scarone e Kamila Falchetti Damasco, pelo auxílio na condução do experimento com os animais.

Ao José Renato da Silva, pela ajuda com o preparo do probiótico.

À Alessandra Bosso, pela ajuda com o preparo das cápsulas.

À Camila Ramos dos Santos, por ajudar com as análises estatísticas.

Aos meus amigos, pelo apoio. Alguns, mesmo distantes, estão sempre no meu coração.

A todos que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“A persistência é o menor caminho do êxito.”
(Charles Chaplin)

RUZON, Flávia Imanishi. **Desenvolvimento de ingrediente alimentar em pó à base de cúrcuma, canela, manoproteína e proteína isolada de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019**. 2017. 112 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

Ingredientes funcionais podem impactar positivamente em parâmetros relacionados à saúde. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um ingrediente alimentar em pó, avaliando-se os efeitos na suplementação da dieta de seres humanos. Em um primeiro estudo, foram selecionados ratos Wistar machos adultos, distribuídos em 4 grupos (n = 12). Os animais foram alimentados por gavagem com 50, 12,5 e 50 mg/dia, respectivamente, de cúrcuma, quiabo e canela ou tampão fosfato salino (controle) durante 14 dias. Foram analisados a massa corporal, massa relativa de órgãos e tecidos, parâmetros bioquímicos sanguíneos (glicose, triglicerídeos, colesterol total, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)) e níveis séricos de imunoglobulina A (IgA). Em estudo subsequente, clínico aleatorizado, duplo-cego, placebo-controlado, com sujeitos do sexo masculino (n=20), a amostra foi obtida segundo critérios de inclusão. Cada dose diária do ingrediente em pó continha 1 g de canela, 1,2 g de cúrcuma, 0,1 g de manoproteína e 1 g do isolado proteico de soro de leite com *B. lactis*, e foi administrada em cápsulas, o que garantiu o mascaramento do produto. Foram avaliados a massa corporal, o índice de massa corporal (IMC), a massa corporal magra (MCM), massa corporal gorda (MCG), gordura relativa e circunferência abdominal, além do perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol total, colesterol-HDL (C-HDL), colesterol-LDL (C-LDL) e colesterol não-HDL (C-NHDL)) e níveis séricos de IgA antes e após 40 dias de intervenção. No experimento com animais, não foram observadas alterações nos parâmetros avaliados, exceto nos níveis de IgA, que aumentaram nos grupos de animais tratados com cúrcuma (P = 0,02) e canela (P = 0,04). Isso pode ser consequência de propriedades imunomoduladoras desses vegetais. No estudo com seres humanos, a suplementação da dieta com o ingrediente em pó foi capaz de aumentar a MCM, reduzir a MCG, gordura relativa e circunferência abdominal, bem como de modificar, positivamente, o perfil lipídico, reduzindo o colesterol total, C-LDL e C-NHDL, além de promover a queda dos níveis de IgA, o que pode caracterizar um efeito imunomodulador. Neste ensaio clínico, as limitações da amostra reduzida e por conveniência requerem novas pesquisas para se estabelecer o ingrediente testado como um produto com propriedades funcionais.

Palavras-chave: Alimento funcional. Dieta. Saúde. Ratos Wistar. Humanos.

RUZON, Flávia Imanishi. **Development of a powdered food ingredient based on turmeric, cinnamon, mannoprotein and whey protein isolate with *Bifidobacterium lactis* HN019**. 2017. 112 p. Thesis (Doctor's degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

Functional ingredients can positively impact health-related parameters. The objective of the present work was to develop a powdered food ingredient, evaluating the effects of its inclusion in the diet of humans. In a first study, adult male Wistar rats were selected, distributed in 4 groups (n = 12). The animals were fed by gavage with 50, 12.5 and 50 mg/day, respectively of turmeric, okra and cinnamon or Phosphate Buffered Saline (control) for 14 days. Body mass, relative mass of organs and tissues, biochemical parameters in blood (glucose, triglycerides, total cholesterol, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT)) and serum immunoglobulin A (IgA) levels were analyzed. In a subsequent randomized, doubleblind, placebo-controlled clinical study with male subjects (n = 20), the sample was obtained according to inclusion criteria. Each daily dose of the powdered ingredient contained 1 g of cinnamon, 1.2 g of turmeric, 0.1 g of mannoprotein and 1 g of whey protein isolate with *B. lactis*, and it was administered as capsules, which guaranteed the masking of the product. Body mass, body mass index (BMI), lean body mass (LBM), fat body mass (FBM), relative fat and waist circumference, in addition to lipid profile (triglycerides, total cholesterol, HDL cholesterol (HDL-C), LDL cholesterol (LDLC) and non-HDL-cholesterol NHDL-C)) and serum IgA levels were analyzed before and after 40 days of intervention. In the animal experiment, no changes were observed in the evaluated parameters, except for IgA levels which increased in the groups of animals treated with turmeric (P = 0.02) and cinnamon (P = 0.04). This may be a consequence of the immunomodulatory properties of these plants. In the human study, dietary supplementation with the powdered ingredient was able to increase LBM, reduce FBM, relative fat and waist circumference, as well as to improve the lipid profile, reducing total cholesterol, LDL-C and NHDL-C, in addition to drop IgA levels which might characterize an immunomodulatory effect. In this clinical trial, reduced and convenient sample limitations require further studies to establish the tested ingredient as a product with functional properties.

Keywords: Functional food. Diet. Health. Rats. Wistar. Humans.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Composição centesimal de canela, cúrcuma e quiabo quanto ao teor de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos | 50 |
| Tabela 2 – Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante (DPPH e ABTS) de canela, cúrcuma e quiabo..... | 52 |
| Tabela 3 – Resultados descritivos de caracterização geral da amostra (média \pm desvio-padrão) para a massa corporal, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de IgA no momento pré-intervenção | 54 |
| Tabela 4 – Análise dos resultados obtidos (média \pm desvio-padrão) para a massa corporal, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de IgA | 55 |
| Tabela 5 – Análise dos resultados obtidos (média \pm desvio-padrão) para a massa relativa de órgãos e tecidos..... | 58 |

CAPÍTULO 3

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Composição centesimal do ingrediente em pó quanto ao teor de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos | 76 |
| Tabela 2 – Composição da manoproteína de <i>S. cerevisiae</i> quanto ao teor de proteínas e açúcares totais | 76 |
| Tabela 3 – Indicadores nutricionais (média \pm desvio-padrão) obtidos a partir do recordatório de 24 horas | 77 |
| Tabela 4 – Resultados descritivos de caracterização geral da amostra (média \pm desvio-padrão) para indicadores antropométricos no momento pré-intervenção | 78 |
| Tabela 5 – Resultados descritivos de caracterização geral da amostra (média \pm desvio-padrão) para o perfil lipídico e níveis séricos de IgA no momento pré-intervenção | 79 |
| Tabela 6 – Análise dos resultados obtidos (média \pm desvio-padrão) para indicadores antropométricos | 80 |
| Tabela 7 – Análise dos resultados obtidos (média \pm desvio-padrão) para o perfil lipídico e níveis séricos de IgA | 83 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 – Estrutura química da curcumina29

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Fluxograma descritivo do delineamento experimental.....47

Figura 2 – Cromatogramas de identificação e quantificação de curcumina na amostra de cúrcuma por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....53

CAPÍTULO 3

Figura 1 – Fluxograma descritivo do delineamento experimental.....72

LISTA DE EQUAÇÕES

CAPÍTULO 2

Equação 1 –Cálculo da massa relativa de órgãos e tecidos48

CAPÍTULO 3

Equação 1 –Conversão de valores obtidos em base úmida para base seca70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|---|
| ABESO | Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica |
| ABTS | 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) |
| ALT | Alanina Aminotransferase |
| ANOVA | Análise de Variância |
| AOAC | Association of Official Analytical Chemists |
| apoB | Apolipoproteína B100 |
| AST | Aspartato Aminotransferase |
| ASTA | American Spice Trade Association |
| BSA | Albumina de Soro Bovino |
| C-HDL | Colesterol HDL |
| C-LDL | Colesterol LDL |
| C-NHDL | Colesterol não-HDL |
| C-VLDL | Colesterol VLDL |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| dL | Decilitro |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilhidrazil |
| EDTA | Ácido Etilenodiaminotetracético |
| ELISA | Ensaio Imunoenzimático |
| GAE | Equivalente de Ácido Gálico |
| GTT | Teste de Tolerância à Glicose |
| HbA1c | Hemoglobina Glicada |
| HDL | Lipoproteína de Alta Densidade |
| HMG-CoA | 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A |
| IDR | Ingestão Diária Recomendada |
| IgA | Imunoglobulina A |
| IgG | Imunoglobulina G |
| IL-6 | Interleucina-6 |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| IPAQ | Questionário Internacional de Atividade Física |
| g | Gramas |
| h | Hora |

| | |
|---------------|---|
| L | Litro |
| LDL | Lipoproteína de Baixa Densidade |
| MCG | Massa Corporal Gorda |
| MCM | Massa Corporal Magra |
| mg | Miligrama |
| min | Minuto |
| NK | Natural Killer |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PBS | Tampão Fosfato Salino |
| PVDF | Fluoreto de Polivinilideno |
| rpm | Rotação por Minuto |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |
| TEAC | Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox |
| TNF- α | Fator de Necrose Tumoral- α |
| U | Unidade |
| u.a. | Unidade Arbitrária |
| USDA | United States Department of Agriculture |
| VLDL | Lipoproteína de Muito Baixa Densidade |
| x g | Força g |
| °C | Grau Celsius |

SUMÁRIO

| | | |
|---|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO GERAL | 21 |
| 2 | OBJETIVOS | 23 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 23 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 23 |
| 3 | REFERÊNCIAS | 24 |
| CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | | 26 |
| 1 | ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS..... | 26 |
| 1.1 | Cúrcuma..... | 28 |
| 1.2 | Quiabo | 29 |
| 1.3 | Canela | 30 |
| 1.4 | Manoproteína de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 31 |
| 1.5 | Probiótico – <i>Bifidobacterium lactis</i> HN019..... | 32 |
| 1.6 | Proteína isolada de soro de leite | 34 |
| REFERÊNCIAS | | 35 |
| CAPÍTULO 2 – Cúrcuma, quiabo e canela: avaliação dos efeitos da suplementação da dieta sobre a massa corporal, massa relativa de órgãos e tecidos, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de IgA de ratos Wistar | | 40 |
| Resumo | | 40 |
| 1 | Introdução | 41 |
| 2 | Material e métodos | 42 |
| 2.1 | Amostras vegetais | 42 |
| 2.1.1 | Caracterização das amostras vegetais..... | 42 |
| 2.1.1.1 | Umidade | 42 |
| 2.1.1.2 | Cinzas..... | 43 |
| 2.1.1.3 | Proteínas | 43 |
| 2.1.1.4 | Lipídeos..... | 43 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 2.1.1.5 | Carboidratos | 43 |
| 2.1.2 | Determinação de antioxidantes | 43 |
| 2.1.2.1 | Compostos fenólicos totais | 44 |
| 2.1.2.2 | Capacidade antioxidante – radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)..... | 44 |
| 2.1.2.3 | Capacidade antioxidante – radical 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS) | 45 |
| 2.1.3 | Determinação do teor de curcumina..... | 45 |
| 2.2 | Experimento com animais | 46 |
| 2.2.1 | Veículo e preparo das amostras para gavagem | 46 |
| 2.2.2 | Animais e grupos experimentais..... | 46 |
| 2.2.3 | Descrição do experimento | 48 |
| 2.2.4 | Análises bioquímicas e ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação de anticorpos | 48 |
| 2.3 | Análises estatísticas | 49 |
| 3 | Resultados e discussão | 50 |
| 3.1 | Caracterização das amostras vegetais..... | 50 |
| 3.1.1 | Determinação de antioxidantes | 51 |
| 3.1.2 | Determinação do teor de curcumina..... | 53 |
| 3.2 | Experimento com animais | 54 |
| 4 | Conclusão | 58 |
| | REFERÊNCIAS | 60 |

| | | |
|---|----------------------------------|-----------|
| CAPÍTULO 3 – Avaliação dos efeitos da suplementação da dieta com ingrediente alimentar em pó à base de cúrcuma, canela, manoproteína e proteína isolada de soro de leite com Bifidobacterium lactis HN019 sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis séricos de IgA de homens adultos | | 64 |
| | Resumo | 64 |
| 1 | Introdução | 66 |
| 2 | Material e métodos | 67 |
| 2.1 | Ingrediente alimentar em pó..... | 67 |
| 2.1.1 | Cúrcuma e canela | 67 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 2.1.2 | Ativação da cepa de B. lactis HN019 e preparo do componente proteína-probiótico | 68 |
| 2.1.2.1 | Contagem de B. lactis HN019 | 68 |
| 2.1.3 | Obtenção da manoproteína de S. cerevisiae..... | 69 |
| 2.1.4 | Mistura dos componentes..... | 70 |
| 2.2 | Preparo das cápsulas | 70 |
| 2.3 | Sujeitos..... | 71 |
| 2.4 | Delineamento experimental | 71 |
| 2.4.1 | Avaliação da dieta | 73 |
| 2.4.2 | Avaliação da atividade física habitual | 74 |
| 2.4.3 | Indicadores antropométricos | 74 |
| 2.4.4 | Parâmetros bioquímicos e imunológicos | 75 |
| 2.5 | Análises estatísticas | 75 |
| 3 | Resultados e discussão | 76 |
| 3.1 | Ingrediente em pó..... | 76 |
| 3.2 | Avaliação da dieta | 77 |
| 3.3 | Avaliação da atividade física habitual..... | 77 |
| 3.4 | Caracterização dos sujeitos..... | 78 |
| 3.5 | Efeitos da suplementação sobre indicadores antropométricos..... | 79 |
| 3.6 | Efeitos da suplementação sobre o perfil lipídico e níveis séricos de IgA.... | 81 |
| 4 | Conclusão | 85 |
| | REFERÊNCIAS | 86 |
| | CONCLUSÃO GERAL | 90 |
| | APÊNDICES | 91 |
| | APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) | 91 |
| | APÊNDICE B – Recordatório de 24 horas | 94 |
| | ANEXOS | 96 |
| | ANEXO A – Parecer consubstanciado de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UEL | 96 |

| | |
|---|------------|
| ANEXO B – Processo de aleatorização da amostra: geração dos números por tabela de números aleatórios (www.random.org)..... | 99 |
| ANEXO C – Parecer consubstanciado de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEL | 101 |
| ANEXO D – Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) - versão curta | 110 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

Dietas ricas em gordura, sal e açúcar e pobres em carboidratos complexos, vitaminas e minerais, aliadas a um estilo de vida sedentário, são responsáveis pelo aumento de doenças, como obesidade, diabetes, problemas cardiovasculares, hipertensão, osteoporose e câncer. O papel de uma alimentação saudável na manutenção da saúde desperta interesse dos consumidores e da comunidade científica, com o intuito de se comprovar a atuação de compostos presentes nos alimentos na redução dos riscos de diversas patologias (CARVALHO et al., 2006).

Kruger e Mann (2003) definiram ingredientes funcionais como um grupo de compostos que apresentam benefícios à saúde (compostos bioativos), como as alicinas presentes no alho, os carotenoides e flavonoides encontrados em frutas e vegetais, os glucosinolatos encontrados nos vegetais crucíferos e os ácidos graxos poli-insaturados presentes em óleos vegetais e no óleo de peixe. Tais ingredientes podem ser consumidos por meio da ingestão dos alimentos dos quais são provenientes, sendo estes considerados alimentos funcionais, ou, isoladamente, como nutracêuticos.

A *Curcuma longa* é uma espécie originária do sudeste asiático e considerada uma preciosa especiaria. Além da principal utilização como condimento, possui substâncias com atividade antioxidante, antimicrobiana e corante, que lhe conferem possibilidade de emprego nas áreas de cosméticos, têxtil, medicinal e alimentícia (CECÍLIO FILHO, et al., 2000). Araújo e Leon (2001) reportaram que os principais compostos responsáveis pelas atividades da planta são a curcumina e derivados.

Abelmoschus esculentus, o quiabo, é utilizado há bastante tempo como alimento em vários países, em virtude de componentes nutritivos (TRINH et al., 2009). De acordo com Sabitha et al. (2012), é um vegetal consumido em muitos locais, devido às propriedades medicinais; como exemplo, é usado no tratamento de inflamações, constipação e retenção urinária (I-MIN et al., 2005).

A canela (*Cinnamomum* spp.) é empregada como tempero e planta medicinal há séculos. Apresenta efeito anti-inflamatório, antimicrobiano, antioxidante, antitumoral, hipocolesterolêmico e imunomodulador, de acordo com Gruendwald, Freder e Armbruster (2010).

Os biopolímeros extraídos da parede de micro-organismos (p. ex., manoproteína) exibem importantes atividades e diferentes aplicações, relacionadas com características químicas (FUKUDA et al., 2009). Os polissacarídeos da parede dos fungos, que é constituída principalmente por glucana, manana e quitina (NELSON et al., 1991), estariam envolvidos com propriedades imunológicas (TORRECILLAS et al., 2007).

Certos membros da microbiota intestinal, como os probióticos, promovem a saúde do hospedeiro, devido ao envolvimento em funções nutricionais, imunológicas e fisiológicas (CENCIC; CHINGWARU, 2010). Segundo Sanders (2006), a habilidade de impactar a população ou atividade da microbiota presente no trato intestinal humano é considerada uma importante característica dos probióticos. São usados em medicina humana na prevenção e tratamento de doenças, na regulação da microbiota intestinal, em distúrbios do metabolismo gastrointestinal, como imunomoduladores e na inibição da carcinogênese (COPPOLA; TURNES, 2004). De acordo com Kailasapathy e Chin (2000), dentre os diversos probióticos, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp., apresentam excelentes benefícios terapêuticos.

A qualidade biológica das proteínas e o teor de minerais e vitaminas presentes no soro de leite fazem dele um produto atrativo para a indústria de alimentos destinados ao consumo humano e animal (FÉLIX, 2009). A proteína de soro de leite é utilizada como suplemento dietético para promoção de atividade antimicrobiana e imunomoduladora, incremento da força muscular e composição corporal e prevenção de doenças cardiovasculares e osteoporose (WHEY, 2008). Produtos contendo a proteína de soro de leite para atletas ganham cada vez mais espaço no mercado de suplementos nutricionais (BELLOLI, 2016).

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um ingrediente alimentar em pó para suplementação da dieta, contendo manoproteína, isolado proteico de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019, podendo ser adicionado de canela e/ou cúrcuma e/ou quiabo, com potenciais efeitos sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis séricos de imunoglobulina A de indivíduos adultos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um ingrediente alimentar em pó para suplementação da dieta, contendo manoproteína, isolado proteico de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019, podendo ser adicionado de canela e/ou cúrcuma e/ou quiabo, com potenciais efeitos sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis séricos de imunoglobulina A (IgA) de indivíduos adultos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos da suplementação dietética com cúrcuma, quiabo ou canela sobre a massa corporal, massa relativa de órgãos e tecidos e níveis de glicose, triglicerídeos, colesterol total, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e níveis séricos de IgA em ratos Wistar;
- Investigar os efeitos do ingrediente alimentar em pó sobre indicadores antropométricos (massa corporal, índice de massa corporal (IMC), massa corporal magra (MCM), massa corporal gorda (MCG), gordura relativa e circunferência abdominal) de homens adultos;
- Analisar os efeitos do ingrediente alimentar em pó sobre o perfil lipídico de homens adultos;
- Averiguar os efeitos do ingrediente alimentar em pó sobre a modulação do sistema imunológico de homens adultos, mediante a dosagem dos níveis séricos de IgA.

3 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.

BELLOLI, Orlando Barbieri. **Desenvolvimento de um suplemento alimentar com propriedades funcionais à base de isolado proteico do soro de leite, probiótico e β -glucana**. 2016. 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) – UNOPAR, Londrina, 2016.

CARVALHO, P. G. B. et al. Hortaliças como alimentos funcionais. **Hortic Bras**, v. 24, n. 4, 2006.

CECÍLIO FILHO, A. B. et al. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Cienc Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 171-175, 2000.

CENCIC, A.; CHINGWARU, W. The role of functional foods, nutraceuticals and food supplements in intestinal health. **Nutrients**, p. 1-15, 2010.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e reposta imune. **Cienc Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

FÉLIX, P. A. Secagem do soro de leite. **Leite & Derivados**, v. 18, n. 11, p. 6, 2009.

FUKUDA et al. Fungal cell wall polysaccharides: purification and characterization. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 117-134, 2009.

GRUENWALD, J.; FREDER, J.; ARMBRUESTER, N. Cinnamon and health. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 50, p. 822-834, 2010.

I-MIN, L. et al. Myricetin as the active principle of *Abelmoschus moschatus* to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. **Planta Med**, v. 71, n. 7, p. 617-621, 2005.

KAILASAPATHY, K.; CHIN, J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. **Immunol Cell Biol**, v. 78, p. 80-88, 2000.

KRUGER, C. L.; MANN, S. W. Safety evaluation of functional ingredients. **Food Chem Toxicol**, v. 41, p. 793-805, 2003.

NELSON, R. D. et al. Candida mannan: chemistry, suppression of cell-mediated immunity, and possible mechanisms of action. **Clin Microbiol Rev**, v. 4, n. 1, p. 1-19, 1991.

SABITHA, V. et al. Investigation of *in vivo* antioxidant property of *Abelmoschus esculentus* (L) Moench. Fruit seed and peel powders in streptozotocin-induced diabetic rats. **J Ayurveda Integr Med**, v. 3, n. 4, p.188-193, 2012.

SANDERS, M. E. Summary of probiotic activities of *Bifidobacterium lactis* HN019. **J Clin Gastroenterol**, v. 40, p. 776-783, 2006.

TORRECILLAS, S. et al. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. **Fish Shellfish Immunol**, v. 23, p. 969-981, 2007.

TRINH, H. N. et al. Hypolipidemic effect of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. – Malvaceae on tyloxapol-induced hyperlipidemia in mice. In: 13RD INTERNATIONAL ELECTRONIC CONFERENCE ON SYNTHETIC ORGANIC CHEMISTRY, 2009.

WHEY protein: monography. **Altern Med Rev**, v. 13, p. 341-347, 2008.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS

Com relação ao elo dieta-saúde, os efeitos fisiológicos de alguns alimentos são evidenciados pela redução dos riscos de patologias degenerativas, tais como doenças cardíacas e certos tipos de câncer. Essa relação entre alimento e saúde traz, além da necessidade dos nutrientes tradicionais, como estabelecido ao longo de todos os anos de estudo da Nutrição, o conceito de alimento preventivo (ANGELIS, 2001).

Segundo Sgarbieri e Pacheco (1999), para que os efeitos sejam notados, os compostos responsáveis pelos efeitos preventivos (compostos bioativos) devem estar presentes nos alimentos em concentrações adequadas, sendo considerados ingredientes funcionais. Vários componentes dos alimentos, tradicionalmente conhecidos como nutrientes, podem atuar, em determinadas concentrações, como tais. Compostos não-nutrientes, como os fitoquímicos (p. ex., curcumina) (LIU, 2004), com ação antioxidante e anticarcinogênica e alguns oligossacarídeos capazes de promover o desenvolvimento de bactérias lácticas, também são considerados ingredientes funcionais (SGARBIERI; PACHECO, 1999).

O termo alimento funcional foi introduzido, em 1984, na literatura japonesa. Ele se refere a alimentos diretamente envolvidos na modificação do sistema fisiológico (ARAI, 1996). De acordo com Anjo (2004), os alimentos funcionais são produtos que podem ser definidos como aqueles que desempenham funções que vão além das funções nutricionais conhecidas, por apresentarem em sua composição alguma substância biologicamente ativa. Ao serem adicionados a uma dieta usual, podem alterar processos metabólicos, modulando funções bioquímicas e/ou fisiológicas, o que resulta na redução do risco de desenvolvimento de doenças e na manutenção da saúde.

As substâncias biologicamente ativas encontradas nos alimentos funcionais podem ser classificadas em grupos tais como: probióticos e prebióticos, alimentos sulfurados e nitrogenados, pigmentos e vitaminas, compostos fenólicos,

ácidos graxos poli-insaturados e fibras (MORAES; COLLA, 2006). Os alimentos funcionais passaram a constituir prioridade de pesquisa em todo o mundo com a finalidade de se elucidar as propriedades e os efeitos que estes produtos podem apresentar na promoção da saúde, conforme relatado por Oliveira et al. (2002).

A legislação brasileira não define alimento funcional, somente a alegação de propriedade funcional e propriedade de saúde e estabelece as diretrizes para a utilização, bem como as condições de registro para os alimentos com alegação de propriedade funcional e/ou de saúde (BRASIL, 2002).

Segundo Wang et al. (2016), os nutracêuticos são compostos bioativos naturais importantes que conferem benefícios à saúde dos seres humanos. Porém, de acordo com Aronson (2016), não há uma definição internacionalmente reconhecida e nutracêutico e alimento funcional muitas vezes se confundem. Do ponto de vista legal, ambos possuem conceitos semelhantes em muitas partes do mundo, persistindo a dificuldade de regulamentação dos termos. É interessante manter a diferença fundamental, já que os alimentos funcionais se relacionam à venda e consumo como alimentos, e os nutracêuticos são ingredientes funcionais isolados e consumidos sob diferentes formas, produzidas pela indústria farmacêutica (MORAES; COLLA, 2006).

O departamento federal de saúde canadense (*Canada Health*) faz uma distinção entre os termos: conceitua alimentos funcionais como sendo semelhantes ou parecidos, na aparência, com alimentos convencionais, consumidos como parte de uma dieta usual e que demonstram possuir benefícios fisiológicos e/ou serem capazes de reduzir o risco de doenças crônicas, além de possuírem as funções nutricionais básicas; já os nutracêuticos, são considerados produtos isolados ou purificados de alimentos, geralmente, vendidos em formas não habitualmente associadas a alimentos e que demonstram ter um benefício fisiológico ou proporcionar proteção contra doenças crônicas (ARONSON, 2016).

O termo nutracêutico, que foi criado por Stephen L. DeFelice em 1989, foi definido como qualquer substância, alimento ou parte de um alimento, que proporciona benefícios clínicos ou à saúde, incluindo a prevenção e o tratamento de doenças (DEFELICE, 1995). Atualmente, o conceito de nutracêutico é mais específico, relacionando compostos bioativos que exerçam benefícios terapêuticos ou fisiológicos a longo prazo. Esses compostos são utilizados para a promoção da saúde ou prevenção de doenças, incluindo estresse oxidativo, depressão, inflamação, artrite,

osteoporose, doenças gastrintestinais, doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (JAIN; RAMAWAT, 2013).

Para Mannarino, Ministrini e Pirro (2014), os nutracêuticos flutuam entre alimentos e drogas. Podem ser derivados de plantas (p. ex. fitoquímicos, vitaminas), animais (p. ex. polissacarídeos), micro-organismos (p. ex. poliaminoácidos) e fontes marinhas (p. ex. glucosamina, quitosana). Os nutracêuticos podem, ainda, ser divididos em duas categorias: tradicionais e não-tradicionais. A primeira inclui todas as substâncias naturalmente presentes em alimentos, não modificadas por técnicas biotecnológicas ou melhoramentos industriais. No outro grupo, estão os nutracêuticos não-tradicionais, que são adicionados aos alimentos por ações de bioengenharia (SCICCHITANO et al., 2014).

1.1 Cúrcuma

A cúrcuma, açafrão ou açafrão-da-terra, é o rizoma de *Curcuma longa*, pertencente à família Zingiberaceae (PIZZIOLO, 2011). O gênero *Curcuma* consiste em diversas espécies de plantas com rizomas e raízes subterrâneos (VELAYUDHAN et al., 1999). A Índia é a maior produtora e exportadora mundial de cúrcuma e líder global em produtos de valor agregado, como os curcuminoides, cúrcuma desidratada em pó, óleos e óleo-resina (CHEMPAKAM; PARTHASARATHY, 2008).

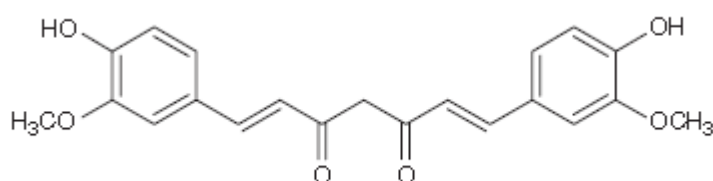
A cúrcuma é considerada uma especiaria preciosa (MATOS, 2000), tempero amplamente utilizado, e o principal ingrediente do *curry*, uma mistura de temperos em pó (AKRAM et al., 2010). É colorida e, comumente, empregada na Índia para cuidados com a saúde e em cosméticos, além de ser usada na conservação de alimentos (AGGARWAL, 2007).

Segundo Pizziolo (2011), a cúrcuma é indicada para o tratamento de hiperlipidemia, hipercolesterolemia e aterosclerose. Outras propriedades medicinais de *C. longa*, reconhecidas pela farmacopeia asiática, são ação estomática, estimulante, carminativa, expectorante, anti-helmíntica e anti-inflamatória (CECÍLIO FILHO, et al., 2000).

A cúrcuma é rica em compostos fenólicos, denominados curcuminoides, que são pigmentos amarelos, de acordo com AKRAM et al. (2010),

sendo a curcumina (Figura 1), o principal. São três os pigmentos curcuminoides: curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina (CHAINANI-WU, 2003; ROHMAN, 2012) presentes no rizoma nas concentrações relativas de 60, 22 e 18%, respectivamente (GUDDADARANG et al., 2002).

Figura 1 – Estrutura química da curcumina



Fonte: Chempakam, Parthasarathy (2008).

Muitas pesquisas, nos últimos anos, mostraram que a maioria das propriedades associadas à cúrcuma, devem-se à curcumina. A curcumina apresentou atividade antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, antifúngica e antineoplásica e, assim, potencial de ação contra várias doenças, como diabetes, alergias, artrite, *Alzheimer* e outras doenças crônicas (AGGARWAL, 2007; MAITHILIKARPAGASELVI et al., 2016). A curcumina demonstrou, também, ser um potente agente imunomodulador, capaz de modular a ativação de células T e B, macrófagos, neutrófilos, células *Natural Killer* (NK) e células dendríticas, como reportado por Jagetia e Aggarwal (2007).

1.2 Quiabo

O quiabo (*Abelmoschus esculentus*) (THE PLANT LIST, 2017), pertencente à família Malvaceae, é originário da África, cultivado em regiões tropicais (GALATI, 2010). Os frutos imaturos do quiabo (vagens), que são consumidos como legumes, podem ser usados em saladas, sopas e refogados, secos ou frescos, fritos ou cozidos, de acordo com Habtamu et al. (2014). Em algumas regiões, suas folhas são, também, utilizadas para consumo humano.

O quiabo é uma hortaliça nutritiva, rica em fibras, proteínas, cálcio, ferro, fósforo, vitamina A e vitamina B e faz parte da dieta em muitos países (GALATI, 2010; I-MIN et al., 2005; NGOC et al., 2008). Em razão da grande quantidade de vitaminas, fibras dietéticas e minerais, o quiabo é empregado como alimento funcional (NDJOUENKEU et. al. 1996).

Na medicina tradicional chinesa, o quiabo é utilizado como promotor de diurese e no tratamento de doenças dentárias e irritações gástricas, como reportado por Ndjouenkeu et. al. (1996). Segundo I-Min et al. (2005), tradicionalmente, acredita-se que essa planta seja útil no tratamento da inflamação, constipação e retenção urinária. Atividade antilipidêmica do quiabo já foi relatada, relacionada à redução do colesterol (NGOC et. al., 2008). O quiabo possui vários componentes polifenólicos, como derivados da quercetina e epigalocatequina (SHUI; PENG, 2004) e demonstrou possuir atividade antioxidante *in vitro* (AI et al., 2013).

1.3 Canela

A canela pertence à família Lauraceae (THE PLANT LIST, 2017) e é uma especiaria obtida da casca interna de várias árvores do gênero *Cinnamomum*. Um dos componentes do *curry* (LEELA, 2008), é empregada em alimentos doces e salgados e, em virtude de suas propriedades antioxidantes, é utilizada na preservação de alimentos (WU et al., 1994).

O gênero *Cinnamomum* consiste de 250 espécies, de acordo com Leela, 2008. Existem quatro principais variedades de canela: a canela-do-Ceilão, que também recebe a denominação de canela verdadeira (*Cinnamomum zeylanicum* ou *Cinnamomum verum* (THE PLANT LIST, 2017)) e a Cássia (*Cinnamomum cassia*) são as mais populares (VANGALAPATI et al., 2012).

A canela possui um aroma delicado e pungente, que é atribuído ao seu óleo volátil. Componentes voláteis estão presentes em todas as partes da planta e podem ser classificados em: monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropenos. A canela, contém, principalmente, óleos essenciais e compostos importantes como o cinamaldeído, eugenol, ácido cinâmico e cinamato (IMPARL et al., 1998; SHAN, 2005). Os maiores rendimentos são dos óleos das folhas e da casca, que são empregados em perfumes, sabonetes, dentifrícios e licores. O maior componente do

óleo das folhas é o eugenol, enquanto, do óleo obtido da casca, é o cinamaldeído (LEELA, 2008).

A canela é muito popular como planta medicinal tradicional no tratamento de vários distúrbios, como alterações gástricas crônicas, artrite e resfriado comum (LEE et al., 2011). Apresenta ação anti-inflamatória, antioxidante, antiúlcera, antimicrobiana, antidiabética, entre muitas outras atividades. O consumo de canela também fornece ao organismo humano quantidades traços de colina. Esse nutriente auxilia o cérebro na síntese de acetilcolina, um composto químico utilizado na comunicação das células nervosas. A colina também auxilia o metabolismo de gorduras, a síntese de membranas celulares e conduz várias reações químicas no interior das células (VANGALAPATI et al., 2012).

1.4 Manoproteína de *Saccharomyces cerevisiae*

As leveduras do gênero *Saccharomyces* são as que apresentam maior valor industrial e comercial, de acordo com Vilela, Sgarbieri e Alvin (2000), como agentes biológicos de transformação em indústrias de bebidas fermentadas, panificação e destilarias de etanol. A biomassa de levedura resultante da produção de cerveja é matéria-prima para extração de componentes celulares, incluindo manoproteínas, obtidas da parede celular do micro-organismo (COSTA; MAGNANI; CASTRO-GOMEZ, 2012).

O conhecimento da constituição química da parede, principalmente em relação à presença de polissacarídeos, é um dado importante para o emprego biotecnológico dos fungos, pois essas moléculas podem ser utilizadas em diversos processos industriais ou, ainda, serem úteis para a classificação taxonômica desses micro-organismos (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

A parede de *S. cerevisiae* é constituída de três componentes, denominados glucanas, manoproteínas, os principais, e quitina, em menor quantidade. A parede é formada por uma estrutura em camadas, com uma camada interna feita de glucanas, manoproteínas e quitina e uma externa, predominantemente, de manoproteínas (KLIS, 1994). Segundo Liu et al. (2008), as manoproteínas são responsáveis pela porosidade da parede celular da levedura,

limitando a permeabilidade celular, além de contribuir, também, para a força mecânica da parede quanto à resistência e pressão externa.

Segundo Freimund et al. (2003), manoproteínas de leveduras são glicoproteínas, que são constituídas de proteínas covalentemente ligadas a carboidratos, os quais são compostos, principalmente, de um polímero de manose e uma menor quantidade de glicose, que possuem importante papel em sua atividade biológica. As glicoproteínas, em especial as manoproteínas, representam um dos principais componentes da parede celular de micro-organismos que podem desencadear uma potente resposta imune humoral no hospedeiro, por meio da produção de anticorpos específicos (MARTÍNEZ et al., 1998). A internalização das mananas pelos macrófagos é mediada pelo receptor de manose presente nessa célula (WRIGHT et al., 1990).

Como relatado por Kapteyn et al. (1997), as manoproteínas localizadas nas camadas mais externas da célula estão envolvidas em inúmeros tipos de interações com o ambiente extracelular, relacionados à patogenicidade, como a adesão das células a tecidos de mamíferos, podendo estimular respostas imunes mediadas por células.

1.5 Probiótico – *Bifidobacterium lactis* HN019

De acordo com Badaró (2008), não só a qualidade dos nutrientes ingeridos é importante, mas também, a capacidade de assimilação pelo organismo, o que depende, diretamente, da microbiota intestinal. Nos adultos, a microbiota é variável, dependendo de diversos fatores, como a alimentação, tratamento com antibióticos, estresse, dentre outros. Uma microbiota bem equilibrada é garantia de boa saúde, uma vez que previne a colonização por micro-organismos patogênicos. Portanto, a introdução de espécies benéficas no trato gastrintestinal pode ser uma forma de prevenção e tratamento de enfermidades por meio da dieta (AMORES et al., 2004; COPPOLA; TURNES, 2004; SAAD, 2006).

A definição internacional aceita atualmente e que consta na legislação brasileira é de que os probióticos são micro-organismos vivos, que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (ARAYA et al., 2002; BRASIL, 2002; HECKZO; STRUS; KOCHAN, 2006).

Os benefícios à saúde do hospedeiro atribuídos à ingestão de culturas probióticas incluem, além do controle e estabilização da microbiota intestinal, a estimulação do sistema imune, alívio da constipação e aumento da absorção de minerais e vitaminas. Outros papéis potencialmente benéficos dos micro-organismos probióticos compreendem a síntese de vitaminas do complexo B, melhora na digestão da lactose e a modulação dos níveis de colesterol sérico (BADARÓ, 2008).

Segundo Kailasapathy e Chin (2000), os probióticos são cada vez mais utilizados em aplicações alimentícias e farmacêuticas, no equilíbrio da microbiota intestinal perturbada e em disfunções relacionadas ao trato gastrointestinal. A atividade biológica do micro-organismo é creditada, em parte, à sua habilidade de adesão aos enterócitos, inibindo a ligação de enteropatógenos por um processo de exclusão competitiva. Os probióticos ainda exercem influência sobre micro-organismos comensais, devido à produção de ácido láctico e bacteriocinas. Essas substâncias, além de alterar o balanço dos comensais, inibem o crescimento de patógenos.

A maioria dos probióticos conhecidos são membros residentes da microbiota intestinal, de acordo com Roberfroid (2000). Em um intestino adulto saudável, a microbiota predominante é composta de micro-organismos, em sua maioria, pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (KALANTZOPOULOS, 1997).

Como relatado por Sanders (2006), *Bifidobacterium lactis* HN019 foi isolada de iogurte e é uma bactéria probiótica para a qual diversos benefícios foram demonstrados, como a capacidade de modificar a microbiota intestinal e, principalmente, a atuação sobre o sistema imunológico. As espécies do gênero *Bifidobacterium* têm um longo histórico de uso seguro, quando consumidas como parte de alimentos ou suplementos alimentares (BORRIELLO et al. 2003).

Os probióticos são, frequentemente, incluídos em produtos lácteos (GUPTA; GARG, 2009), uma vez que esses alimentos provêm um meio de cultura favorável para muitos desses micro-organismos (MAGRO et al., 2014). Contudo, eles podem ser encontrados em diversos tipos de alimentos e bebidas, desde sucos de frutas a cereais matinais (STARLING, 2009).

Produtos probióticos consistem de uma única cepa ou uma combinação de cepas e podem estar associados a outros ingredientes biologicamente ativos (GUPTA; GARG, 2009). O consumo desses micro-organismos foi reconhecido pela comunidade científica, em razão dos efeitos benéficos à saúde e histórico de uso

seguro bem documentado (SCAVUZZI et al., 2015). Os efeitos dos probióticos no hospedeiro têm atraído interesse de pesquisadores e da indústria de alimentos (YILDIZ, 2010). Portanto, produtos contendo esses micro-organismos são considerados de importância econômica crescente (CHAMPAGNE et al., 2011).

1.6 Proteína isolada de soro de leite

O soro de leite é um subproduto da indústria de laticínios e corresponde à porção aquosa liberada durante a fabricação do queijo, após a coagulação do leite (CODEX ALIMENTARIUS, 2011; PAGNO et al., 2009). Uma vez que esse subproduto, por ser muito perecível, não suporta estocagem por períodos prolongados, são necessárias medidas que visem ao seu aproveitamento e/ou tratamento e descarte que não venham impactar o meio ambiente (SERPA, 2005).

Por ser considerada uma excelente fonte de proteínas e prevenir o estresse metabólico dos órgãos, o soro de leite passou a ser inserido na alimentação de atletas e fisiculturistas (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). A proteína do soro de leite representa 20% da proteína total do leite (MA et al., 2016). Avanços na tecnologia de processamento do soro de leite resultaram na obtenção de diferentes produtos, como o soro hidrolisado, desmineralizado e reduzido em lactose e concentrados e isolados proteicos. As variações entre eles estão no conteúdo de proteína, carboidratos, imunoglobulinas, lactose, minerais e gorduras. O isolado proteico de soro de leite contém de 90-95% de proteínas (MARSHALL, 2004).

Segundo Patel (2015), a proteína do soro de leite confere benefícios contra doenças metabólicas, como as cardiovasculares, diabetes e cânceres, e é capaz de estimular as funções intestinais. Além disso, apresenta propriedades antioxidante, anti-hipertensiva, antitumoral, hipolipidêmica, antiviral e antibacteriana. Adicionalmente, possui componentes que incluem lactoferrina, betalactoglobulina, α -lactalbumina, glicomacropéptido e imunoglobulinas, associados a benefícios ao sistema imunológico (MARSHALL, 2004).

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, B. B. et al. Curcumin: the indian solid gold. In: AGGARWAL, B. B.; SURH, Y.; SHISHODIA, S. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. **Adv Exp Med Biol**, v. 595, p. 1-15, 2007.
- Al, G. et al. Hepatoprotective evaluation of the total flavonoids extracted from flowers of *Abelmoschus manihot* (L.) Medic: in vitro and in vivo studies. **J Ethnopharmacol**, v. 146, n. 3, p. 794-802, 2013.
- AKRAM, M. et al. Curcuma longa and curcumin: a review article. **Rom J Biol - Plant Biol**, v. 55, n. 2, p. 65-70, 2010.
- AMORES, R. et al. Probióticos. **Rev Esp Quimioter**, v. 17, n. 2, p. 131-139, 2004.
- ANGELIS, R. C. Novos conceitos em nutrição: reflexões a respeito do elo dieta e saúde. **Arq Gastroenterol**, v. 38, n. 4, 2001.
- ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **J Vasc Br**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.
- ARAI, S. Studies on functional foods in Japan – State of the Art. **Biosci Biotech Biochem**, v. 60, n. 1, p. 9-15, 1996.
- ARAYA, M. et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. In: JOINT FAO/WHO WORKING GROUP REPORT ON DRAFTING GUIDELINES FOR THE EVALUATION OF PROBIOTICS IN FOOD, 2002.
- ARONSON, J. K. Defining ‘nutraceuticals’: neither nutritious, nor pharmaceutical. **Br J Clin Pharmacol**, p. 1-12, 2016.
- BADARÓ et al. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana. – Parte 1. **Nutrir Gerais. Revista Digital de Nutrição**, v. 2, n. 3, p. 1-19, 2008. Disponível em: <http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/volume3/artigo_5_rng_alimentos_probioticos.pdf> Acesso em: 04 jul. 2013.
- BORRIELLO, S. P. et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. **Clin Infect Dis**, v. 36, p. 775–780, 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional ou de saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 fev. 2002.
- CECÍLIO FILHO, A. B. et al. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Cienc Rural**, v. 30, n. 1, p. 171-175, 2000.

CHAINANI-WU, N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of turmeric (*Curcuma longa*). **J Altern Complement Med**, v. 9, n. 1, p. 161-168, 2003.

CHAMPAGNE, C. P. et al. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **Int J Food Microbiol**, v. 149, p. 185-193, 2011.

CHEMPAKAM, Bagheerathy; PARTHASARATHY, Villupanoor A. **Turmeric**. In: PARTHASARATHY, Villupanoor A.; CHEMPAKAM, Bagheerathy; ZACHARIAH, T. John. **Chemistry of spices**. London: CAB International, 2008. p. 124-145.

CODEX ALIMENTARIUS. **Milk and milk products**. 2. ed. Roma, 2011.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e resposta imune. **Cienc Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

COSTA, A. G.; MAGNANI, M.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H. Obtenção e caracterização de manoproteínas da parede celular de leveduras de descarte em cervejaria. **Acta Sci**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2012.

DEFELICE, S. L. The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. **Trends Food Sci Technol**, v. 61, p. 59-61, 1995.

FREIMUND, S. et al. A new non-degrading isolation process for 1,3- β -D-glucan of high purity from baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Carbohydr Polym**, v. 54, p. 159-171, 2003.

GALATI, Vanessa Cury. **Crescimento e acúmulo de nutrientes em quiabeiro 'Santa Cruz 47'**. 2010. 26 p. Dissertação (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias) – UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2010.

GUPTA, V.; GARG, R. Probiotics. **Indian J Med Microbiol**, v. 27, p. 202-209, 2009.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. de. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Rev Nutr**, v. 19, n. 4, p. 44-51, 2006.

HECKZO, P. B.; STRUS, M.; KOCHAN, P. Critical evaluation of probiotic activity of lactic acid bacteria and their effects. **J Physiol Pharmacol**, v. 57, Supl. 9, p. 5-12, 2006.

I-MIN, L. et al. Myricetin as the active principle of *Abelmoschus moschatus* to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. **Planta Med**, v. 71, n. 7, p. 617-621, 2005.

IMPARL, R. et al. Regulation of PTP-1 and insulin receptor kinase by fractions from cinnamon: implications for cinnamon regulation of insulin signalling. **Horm Res**, v. 50, p. 177-182, 1998.

- JAGETIA, G. C.; AGGARWAL, B. B. "Spicing up" the immune system by curcumin. **J Clin Immunol**, v. 27, n. 1, p. 19-35, 2007.
- JAIN, N.; RAMAWAT, K. G. Nutraceuticals and antioxidants in prevention of diseases. **Nat Prod**, p. 2559-2580, 2013.
- GUDDADARANG, A. A. K. et al. Improved HPLC method for the determination of curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin. **J Agric Food Chem**, v. 50, p. 3668-3672, 2002.
- HABTAMU, F. N. et al. Nutritional quality and health benefits of okra (*Abelmoschus esculentus*): a review. **J Food Sci Qual Manag**, v. 33, p. 87-96, 2014.
- KAILASAPATHY, K.; CHIN, J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. **Immunol Cell Biol**, v. 78, p. 80-88, 2000.
- KALANTZOPOULOS, G. Fermented products with probiotic qualities. **Anaerobe**. v. 3, p. 185-190, 1997.
- KAPTEYN, J. C. et al. Altered extent of cross-linking of β 1,6-glycosylated mannoproteins to chitin in *Saccharomyces cerevisiae* mutants with reduced cell wall β 1,3-glucan content. **J Bacteriol**, v. 179, n. 20, p. 6279-6284, 1997.
- KLIS, F. M. Review: cell wall assembly in yeast. **Yeast**, v. 10, p. 851-869, 1994.
- LEE, B. et al. Immunomodulatory effect of water extract of cinnamon on anti-CD3-induced cytokine responses and p38, JNK, ERK 1/2, and STAT4 activation. **Immunopharmacol Immunotoxicol**, v. 33, n. 4, p. 714-722, 2011.
- LEELA, N. K. Cinnamon and Cassia. In: PARTHASARATHY, Villupanoor A.; CHEMPAKAM, Bagheerathy; ZACHARIAH, T. John. **Chemistry of spices**. London: CAB International, 2008. p. 124-145.
- LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **J Nutr**, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.
- LIU, X. Y. et al. A new isolation method of β -D-glucans from spent yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Hydrocoll**, v. 22, p. 239-247, 2008.
- MA, Y. et al. Isolation and characterization of anti-inflammatory peptides derived from whey protein. **J Dairy Sci**, v. 99, p. 1-11, 2016.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.
- MAGRO, D. O. et al. Effect of yogurt containing polydextrose, *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* HN019: a randomized, double-blind, controlled study in chronic constipation. **Nutr J**, v. 13, p. 75, 2014.

- MAITHILIKARPAGASELVI, N. et al. Curcumin inhibits hyperlipidemia and hepatic fat accumulation in high-fructose-fed male Wistar rats. **Pharm Biol**, 2016, p. 1-7. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2016.1187179>>. Acesso em: 20 jan. 2017.
- MANNARINO, M. R.; MINISTRINI, S.; PIRRO, M. Nutraceuticals for the treatment of hypercholesterolemia. **Eur J Intern Med**, v. 25, p. 592-599, 2014.
- MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Altern Med Rev**, v. 9, n. 2, 2004.
- MARTÍNEZ, J. P. et al. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. **Clin Microbiol Rev**, v. 11, n. 1, p. 121-141, 1998.
- MATOS, F. J. A. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. **Imprensa universitária/UFC**, Fortaleza, 2000.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/2082/2024>> Acesso em: 04 jul. 2013.
- NDJOUENKEU, R. et al. Rheology of okra (*Hibiscus esculentus* L.) and dika nut (*Irvingia gabonensis*) polysaccharides. **Carbohydr Polym**, v. 29, p. 263–269, 1996.
- NGOC, T. H. et al. Hypolipidemic effect of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. (*Malvaceae*) on Tyloxapol-induced hyperlipidemia in mice. **J Pharm Sci**, v. 35, n. 1-4, p. 42-46, 2008.
- OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Rev Bras Cienc Farm**, v. 38, n. 1, 2002.
- PAGNO, C. H. et al. Obtenção de concentrados proteicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Alim Nutr**, v. 20, n. 2, p. 231-239, 2009.
- PATEL, S. Emerging trends in nutraceutical applications of whey protein and its derivatives. **J Food Sci Technol**, v. 52, n. 11, p. 6847-6858, 2015.
- PIZZIOLO, V. R. et al. Plantas com possível atividade antilipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. **Rev Bras PI Med**, v. 13, n. 1, p. 98-109, 2011.
- ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **Am J Clin Nutr**, v. 71, p. 1682S-1687S, 2000.
- ROHMAN, A. Mini review analysis of curcuminoids in food pharmaceutical products. **Int Food Res J**, v. 19, n. 1, p. 19-27, 2012.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Rev Bras Cienc Farm**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SANDERS, M. E. Summary of probiotic activities of *Bifidobacterium lactis* HN019. **J Clin Gastroenterol**, v. 40, p. 776-783, 2006.

SCAVUZZI et al. The role of probiotics on each component of the metabolic syndrome and other cardiovascular risks. **Expert Opin Ther Targets**, v. 19, n. 8, p. 1-12, 2015.

SCICCHITANO, P. et al. Nutraceuticals and dyslipidaemia: Beyond the common therapeutics. **J Funct Foods**, v. 6, p. 11-32, 2014.

SERPA, L. **Concentração de proteínas de soro de queijo por evaporação a vácuo e ultrafiltração**. 2005. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2005.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Revisão: alimentos funcionais fisiológicos. **Braz J Food Technol**, v. 2, n. 1, p. 7-19, 1999.

SHAN, B. et al. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents of cinnamon. **Int Agric Chem**, v. 53, p. 7749-7758, 2005.

SHUI, G.; PENG, L. L. An improved method for the analysis of major antioxidants of *Hibiscus esculentus* Linn. **J Chromatogr**, v. 1048, p. 17-24, 2004.

THE PLANT LIST (2017). Version 1.1. Published on the Internet. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em: 24 fev. 2014.

VANGALAPATI, M. et al. A review on pharmacological activities and clinical effects of cinnamon species. **Res J Pharm Biol Chem Sci**, v. 3, n. 1, p. 653-663, 2012.

VELAYUDHAN et al. Curcuma genetic resources. **Scientific Monography n. 4**. National Bureau of Plant Genetic Resources. Nova Deli. 1999.

VILELA, E. S. D.; SGARBIERI, V. C.; ALVIN, I. D. Determinação do valor proteico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (*Saccharomyces* sp.). **Rev Nutr**, v. 13, n. 3, p. 185-192, 2000.

WANG, J. et al. Microbial production of value-added nutraceuticals. **Curr Opin Biotechnol**, v. 37, p. 97-104, 2016.

WRIGHT, S. D. et al. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. **Science**, v. 249, p. 1431-1433, 1990.

WU et al. Lignans and an aromatic acid from *Cinnamomum philippinense*. **Phytochemistry**, n. 36, p. 785-788, 1994.

YILDIZ, F. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Boca Raton: **CRC Press/Taylor & Francis**, 2010, p. 1-36.

CAPÍTULO 2

Cúrcuma, quiabo e canela: avaliação dos efeitos da suplementação da dieta sobre a massa corporal, massa relativa de órgãos e tecidos, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de IgA de ratos Wistar

Resumo

Cúrcuma, quiabo e canela exibem diversas propriedades terapêuticas. O objetivo do presente trabalho foi verificar os efeitos de cúrcuma, quiabo e canela sobre a massa corporal, massa relativa dos órgãos e tecidos, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de imunoglobulina A (IgA) em um modelo animal. Foram utilizados ratos Wistar machos adultos, alocados em 4 grupos (n = 12): Controle, Cúrcuma, Quiabo e Canela. Os animais foram alimentados por gavagem com as amostras de cúrcuma, quiabo e canela (50, 12,5 e 50 mg/dia, respectivamente), veiculadas em tampão fosfato salino (PBS), por 14 dias. O grupo Controle recebeu apenas PBS. Durante todo o período experimental, os animais foram tratados com água e ração *ad libitum*. Foram analisados a massa corporal, massa relativa de órgãos e tecidos, parâmetros bioquímicos sanguíneos (glicemia, triglicerídeos, colesterol total, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)) e níveis séricos de IgA antes e após o período de tratamento. Não foram observadas alterações nos parâmetros avaliados, exceto nos níveis de IgA, que aumentaram nos grupos de animais tratados com cúrcuma ($P = 0,02$) e canela ($P = 0,04$). Mais estudos são necessários para a comprovação desse efeito imunoestimulatório, uma vez que o sistema imune apresenta alta complexidade de funcionamento.

Palavras-chave: Alimentos funcionais; Antioxidantes; Dieta; Ratos Wistar; Metabolismo dos lipídeos.

1 Introdução

O uso de plantas e suas partes como agentes terapêuticos é uma prática comum (VANGALAPATI et al., 2012). Muitas possuem propriedades medicinais e a aplicação, principalmente na medicina tradicional, é bem reconhecida e estabelecida. Embora apresentem alguns aspectos similares às drogas modernas, em geral, são menos agressivas e mais seguras (LAI; ROY, 2004).

O rizoma de *Curcuma longa*, membro da família Zingiberaceae (EIGNER; SCHOLZ, 1999; PIERCE, 1999), na forma de pó (cúrcuma), é um importante tempero, que confere cor e aroma, além de possuir propriedades medicinais (CHATTOPADHYAY et al., 2004; NAGARAJAN; KUBRA; RAO, 2010). Sua cor amarela relaciona-se, principalmente, à presença de pigmentos denominados curcuminoídeos, dentre os quais, destaca-se a curcumina, responsável pela atividade biológica da cúrcuma (ARAÚJO; LEON, 2001).

Abelmoschus esculentus, o quiabo, pertencente à família Malvaceae (THE PLANT LIST, 2017), é valorizado por ser um fruto nutritivo e abundante em minerais (GEMEDE et al., 2015). Seu cultivo é economicamente importante, muito embora esse vegetal ainda seja pouco estudado. O quiabo tem sido empregado no controle de várias doenças, devido a propriedades antidiabéticas e hipolipidêmicas (AMIN, 2011; NGOC et al., 2008).

A canela é obtida da casca de várias espécies do gênero *Cinnamomum*, família Lauraceae, sendo um tempero muito apreciado pelo sabor e benefícios à saúde. Exibe diversas atividades biológicas, como ação anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antidiabética, entre outras e contém óleos essenciais e componentes importantes, como os polifenóis (VANGALAPATI et al., 2012).

O presente trabalho teve como objetivo verificar os efeitos de cúrcuma, quiabo e canela sobre a massa corporal, massa relativa de órgãos e tecidos, parâmetros bioquímicos sanguíneos (glicemia, triglicerídeos, colesterol total, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)) e níveis séricos de imunoglobulina A (IgA) em um estudo com animais.

2 Material e Métodos

2.1 Amostras vegetais

A cúrcuma (*C. longa*) e a canela (*Cinnamomum* spp.), em pó, foram adquiridas no comércio da cidade de Londrina, Brasil. Os produtos foram tamisados para obtenção de amostras padronizadas com granulometria de 100 mesh, embalados e armazenados a temperatura ambiente ao abrigo de luz direta até a utilização.

O quiabo (*A. esculentus*) foi adquirido de um produtor da cidade de Londrina, Brasil. Os frutos foram higienizados com água e sabão e, após deixados de molho em água sanitária (250 ppm/L) por 15 minutos, foram enxaguados com água corrente. Depois de retirado o excesso de água, os frutos foram picados, secos em estufa a 40 °C por 24 horas e, então, moídos em moinho analítico (A11 basic®, IKA, Alemanha). O pó obtido foi tamisado para obtenção de amostra padronizada com granulometria de 100 mesh, embalado e armazenado a temperatura ambiente ao abrigo de luz direta até a utilização.

2.1.1 Caracterização das amostras vegetais

As amostras de canela, cúrcuma e quiabo foram caracterizadas quanto à composição físico-química. Todas as análises foram feitas em triplicata. Os resultados (%) foram expressos em média \pm desvio-padrão.

2.1.1.1 Umidade

A determinação de umidade foi realizada por secagem em estufa (105 \pm 5 °C), baseada na remoção de água por aquecimento, de acordo com método da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2012).

2.1.1.2 Cinzas

O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração da amostra em forno mufla, conforme método da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2012).

2.1.1.3 Proteínas

O conteúdo de proteínas foi determinado pelo método de *Kjeldahl*, segundo método da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2012). Os valores para proteína foram calculados a partir dos teores de nitrogênio total, utilizando-se o fator de conversão recomendado (6,25) (JONES, 1941).

2.1.1.4 Lipídeos

O conteúdo de lipídeos foi determinado seguindo-se método da AOAC, por meio de extração em equipamento tipo *Soxhlet*, utilizando-se como solvente, éter de petróleo (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2012).

2.1.1.5 Carboidratos

O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100% e a soma das porcentagens de água, proteínas, lipídeos e cinzas (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2012).

2.1.2 Determinação de antioxidantes

O preparo das amostras foi realizado segundo McGhie, Hunt e Barnett (2005). As amostras vegetais foram extraídas em solução hidroalcoólica (água e

etanol, na proporção 1:4), por 24 horas, a 2 °C. A mistura foi, então, centrifugada em centrífuga refrigerada (5804 R®, Eppendorf, Alemanha), nas seguintes condições: 4 °C, 1000 x g, por 10 minutos, para obtenção do extrato para uso nas determinações de antioxidantes.

2.1.2.1 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram quantificados com base no método de *Folin-Ciocalteu* (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em tubos de ensaio, adicionaram-se as amostras, devidamente diluídas em etanol, e o reativo de *Folin-Ciocalteu* a 10%. Os tubos, homogeneizados, foram colocados em banho-maria (50 °C) durante 5 minutos. Após a reação, foi adicionada uma solução de carbonato de sódio a 7,5%. A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro (GENESYS 6®, Thermo Fisher Scientific, EUA) a 760 nm. Os resultados para compostos fenólicos totais foram expressos com base em uma curva-padrão de ácido gálico, em mg de equivalente de ácido gálico (GAE)/g de amostra. A análise foi realizada em triplicata. Os valores foram expressos em média \pm desvio-padrão.

2.1.2.2 Capacidade antioxidante – radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A determinação da capacidade antioxidante foi baseada em método de sequestro do radical livre DPPH pelos antioxidantes da amostra (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER, BERSET, 1995). Às amostras devidamente diluídas em etanol, foi adicionada uma mistura contendo tampão acetato 0,1 M (pH 5,5), etanol e solução de DPPH 250 μ M em etanol. Após 15 minutos, procedeu-se à leitura das absorbâncias em espectrofotômetro (GENESYS 6®, Thermo Fisher Scientific, EUA) a 517 nm. A capacidade antioxidante foi calculada em relação à atividade do 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Trolox), com base em uma curva-padrão. Os resultados foram expressos em TEAC (Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox) em μ M de Trolox/g de amostra. A análise foi realizada em triplicata. Os valores foram expressos em média \pm desvio-padrão.

2.1.2.3 Capacidade antioxidante – radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)

A determinação da capacidade antioxidante foi baseada em método de sequestro do radical livre ABTS pelos antioxidantes da amostra (RE et al., 1999). Às amostras devidamente diluídas em etanol, foi adicionada uma solução de ABTS em tampão fosfato 20 mM (pH 7,4). A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro (GENESYS 6[®], Thermo Fisher Scientific, EUA) a 734 nm. A capacidade antioxidante foi calculada em relação à atividade do Trolox, com base em uma curva-padrão. Os resultados foram expressos em TEAC em μM de Trolox/g de amostra. A análise foi feita em triplicata. Os valores foram expressos em média \pm desvio-padrão.

2.1.3 Determinação do teor de curcumina

O teor de curcumina (%) da amostra de *C. longa* foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com WICHITNITHAD et al. (2009) com modificações. O padrão de curcumina utilizado foi Sigma-Aldrich[®] (78246), Merck, Alemanha, preparado em acetonitrila (J. T. Baker Chemical Company, EUA) e a amostra, em solução acetonitrila:água ultrapura (MilliQ[®], Merck, Alemanha) 10:90 (v/v), filtrada em membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) 0,45 μm x 13mm (Millipore[®], Merck, Alemanha). O sistema instrumental utilizado consistiu em um cromatógrafo líquido Shimadzu Prominence LC-20A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), composto por módulo de comunicação CBM-20A, forno de coluna CTO-20A, detector de arranjo de diodos SPD-M20A a 425 nm, injetor automático SIL-20AC HT a temperatura de 10 °C e bomba com misturador de fases quaternário LC-20AT. A eluição da amostra foi realizada utilizando-se modo isocrático com as fases móveis acetonitrila (J. T. Baker Chemical Company, EUA):água ultrapura (MilliQ[®], Merck, Alemanha) na proporção 13:87 (v/v) no tempo de 15 minutos em coluna YMC ODS-AQ (C18), 5 μm , 150 x 6,0 mm (Tedia Brazil, Brasil), com volume de injeção de 20 μL na vazão de 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A aquisição e processamento de dados foi realizada com auxílio do *software* LCsolution (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

2.2 Experimento com animais

2.2.1 Veículo e preparo das amostras para gavagem

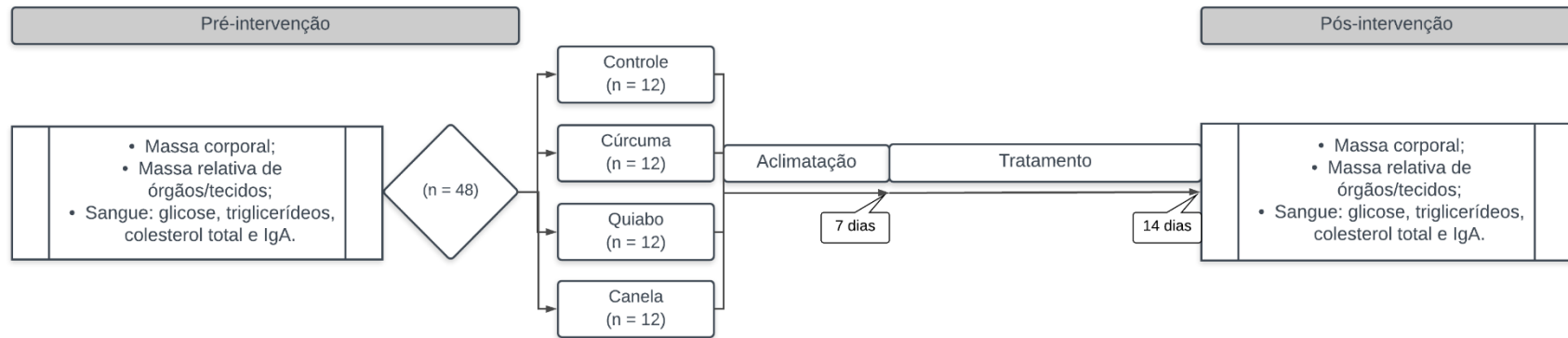
O veículo utilizado para administração via oral das amostras vegetais aos animais foi o tampão fosfato salino (PBS), com pH 7,4. Foram preparadas as doses máximas possíveis, correspondendo a 100, 25 e 100 mg/mL, respectivamente, de cúrcuma, quiabo e canela.

2.2.2 Animais e grupos experimentais

Ratos Wistar machos adultos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina (UEL), foram distribuídos em 4 grupos: Controle, Cúrcuma, Quiabo e Canela, compostos por 12 ratos cada. Os animais foram mantidos no Biotério do Departamento de Psicologia Geral e Análise do Comportamento da UEL, nas seguintes condições: 4 animais por caixa, ciclo claro e escuro de 12 horas (luz a partir das 7 a.m.), ração (Nuvilab®, Nuvital Nutrientes S/A, Brasil) e água, fornecidos *ad libitum*, e temperatura controlada de 25 ± 1 °C.

Durante o experimento, todos os animais receberam 0,5 mL de volume diário de amostra ou veículo por gavagem. O grupo Controle recebeu apenas PBS, enquanto os grupos Cúrcuma, Quiabo e Canela receberam, respectivamente, as amostras de cúrcuma, quiabo e canela, correspondendo às doses diárias de 50, 12,5 e 50 mg, respectivamente.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UEL (nº 8185.2014.18), Londrina, Brasil (ANEXO A). A Figura 1 refere-se ao fluxograma descritivo do delineamento experimental.

Figura 1 – Fluxograma descritivo do delineamento experimental

2.2.3 Descrição do experimento

Os animais foram mantidos por 7 dias no laboratório antes do início do tratamento. Durante todo o período experimental, os animais foram tratados com água e ração *ad libitum*. Decorrido o período de aclimatação, os animais foram pesados e anestesiados, via intramuscular, com associação de cloridrato de quetamina (Dopalen[®], Sespo Indústria e Comércio Ltda, Brasil) e cloridrato de xilazina (Anasedan[®], Sespo Indústria e Comércio Ltda, Brasil) (1:1) (FARIA NETO; SANTOS, 2008) para obtenção de sangue periférico, observando-se um jejum pré-coleta de 15 horas (DANTAS et al., 2006). A seguir, os animais foram tratados, diariamente, por gavagem, com as amostras/veículo por 14 dias. Ao final do 14^o dia de tratamento, os animais foram pesados. Observando-se o jejum pré-coleta de 15 horas, foram anestesiados, conforme descrito anteriormente, para obtenção de sangue periférico e, a seguir, os animais foram sacrificados com dose dobrada da mesma associação de anestésicos (CONCEIÇÃO-SILVA; BESSA, 2008). Na sequência, os animais foram dissecados para obtenção de órgãos e tecidos internos (gordura peritoneal, glândula adrenal, rim, baço, fígado e timo). Todos os órgãos e tecidos foram pesados para cálculo da massa relativa (Equação 1).

Equação 1 – Cálculo da massa relativa de órgãos e tecidos

$$PR = (P \times 100)/(Pp)$$

Onde:

PR = massa relativa (%)

P = massa do órgão ou tecido (g)

Pp = massa do animal no momento pós-experimento

2.2.4 Análises bioquímicas e ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação de anticorpos

Para a avaliação dos níveis de glicose, o sangue dos ratos foi coletado por punção cardíaca em tubo contendo fluoreto de sódio (0,6 mg/mL) e ácido

etilenodiaminotetracético (EDTA) (2 mg/mL) antes e após o tratamento de 14 dias. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 5 minutos. O plasma foi recuperado, aliquotado e armazenado (2-8 °C) até a análise.

Para a avaliação dos níveis de triglicerídeos (mg/dL), colesterol total (mg/dL), aspartato aminotransferase (AST) (U/L), alanina aminotransferase (ALT) (U/L) e da imunidade humoral, o sangue dos animais foi coletado por punção cardíaca em tubo livre de anticoagulantes, antes e após o tratamento de 14 dias. Após a coagulação, as amostras foram centrifugadas a 1000 x g por 5 minutos. O soro foi recuperado e aliquotado em dois recipientes, sendo um deles armazenado (2-8 °C) até a realização das análises bioquímicas e o outro, congelado (-20 °C) até a realização das análises para a avaliação imunológica.

As análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico (*Dimension® Clinical Chemistry System*, SIEMENS, Alemanha), utilizando-se kits comerciais, segundo as especificações do fabricante. As análises foram feitas no Hospital Veterinário da UEL.

A imunidade humoral foi avaliada pela dosagem dos níveis de anticorpos IgA no sangue periférico. Os níveis de IgA (mg/dL) foram determinados por ELISA indireto, utilizando-se o sistema de quantificação *Rat IgA ELISA Quantitation Set®* (BETHYL LABORATORIES, Inc., EUA), segundo as especificações do fabricante com modificações. O bloqueio foi feito com PBS contendo 5% de leite desnatado (Molico®, Nestlé Brasil, Brasil) e as diluições da curva-padrão, das amostras e do anticorpo conjugado foram feitas em PBS contendo 1% de leite desnatado.

2.3 Análises estatísticas

Para a análise dos dados, foi utilizado o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, mostrando distribuição normal. Na caracterização da amostra no momento pré-tratamento, aplicou-se o teste de homogeneidade de *Levene*. Atendendo-se ao pressuposto de homogeneidade, utilizou-se o teste de ANOVA One-Way para comparação das variáveis entre os grupos. Para as comparações inter e intragrupos nos momentos pré e pós-tratamento, aplicou-se o teste de esfericidade de *Mauchly*. Atendendo-se ao pressuposto de esfericidade, foi utilizada a ANOVA de medidas repetidas. Em uma análise complementar, para comparação das massas

relativas dos órgãos e tecidos no momento pós-tratamento, seguiu-se o mesmo procedimento adotado na caracterização da amostra no momento pré-tratamento. Adotou-se a estatística paramétrica para todos os dados, os quais foram dispostos em média e desvio-padrão. O pacote estatístico utilizado foi o SPSS® 23.0 (IBM, EUA) e adotou-se o valor de $P < 0,05$.

3 Resultados e discussão

3.1 Caracterização das amostras vegetais

A Tabela 1 refere-se à caracterização das amostras de cúrcuma, quiabo e canela, quanto à composição físico-química. A conservação de alimentos por secagem é uma prática antiga e comum que agrega valor ao alimento (RAHMAN; PERERA, 2007). A desidratação é um processo importante para a indústria. O objetivo básico é remover a água dos alimentos até um certo nível, no qual as reações de deterioração microbológica e química são bastante minimizadas (KROKIDA, 2003). A desidratação também provoca o aumento das concentrações relativas dos outros nutrientes, estendendo a vida de prateleira (ARUAH; UGURU; OYIGA, 2012).

Tabela 1 – Composição centesimal de canela, cúrcuma e quiabo quanto ao teor de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos

| | Umidade | Cinzas | Proteínas | Lipídeos | Carboidratos* |
|----------------|----------------|---------------|------------------|-----------------|----------------------|
| Cúrcuma | 10,0 ± 0,3 | 5,1 ± 0,1 | 7,9 ± 0,3 | 1,3 ± 0,6 | 75,7 |
| Quiabo | 9,4 ± 0,3 | 9,4 ± 0,1 | 22,9 ± 1,9 | 1,1 ± 0,0 | 57,2 |
| Canela | 10,9 ± 0,1 | 4,5 ± 0,0 | 5,8 ± 0,2 | 2,6 ± 0,5 | 76,2 |

Valores expressos em porcentagem e média ± desvio-padrão; *valores obtidos por diferença.

No presente estudo, a umidade determinada para a amostra de cúrcuma foi de 10,0%. Chempakam e Parthasarathy (2008) relataram 13,1% de umidade em cúrcuma. A umidade da amostra de quiabo foi de 9,4%. Gemede et al. (2015) obtiveram valores de 9,69-13,33% em quiabo em pó. A amostra de canela apresentou 10,9% de umidade. Tainter e Grenis (1993) reportaram valores de 9,52 e 10,00%, conforme *United States Department of Agriculture (USDA) Handbook* (8-2,

dados combinados de *Cinnamomum zeylanicum* e *Cinnamomum cassia*) e *American Spice Trade Association* (ASTA), respectivamente.

Em relação à quantidade de cinzas, proteínas e lipídeos, para a amostra de canela, os valores obtidos foram de, respectivamente, 4,5, 5,8 e 2,6%. Tainter e Grenis (1993) reportaram os dados de USDA e ASTA para a canela, respectivamente, de 3,55 e 3,50 de cinzas, 3,89 e 4,50 de proteínas e 3,18 e 2,20% de lipídeos. Gul e Safdar (2009) obtiveram 2,4, 3,5 e 4,0%, respectivamente. As variações podem ocorrer devido à espécie e às condições ambientais de cultivo, de acordo com Gul e Safdar (2009). A amostra de cúrcuma apresentou 5,1% de cinzas, 7,9% de proteínas e 1,3% de lipídeos. Chempakam e Parthasarathy (2008) relataram valores de 6,3, 5,1 e 3,5% para cúrcuma, respectivamente.

Os resultados para a amostra de quiabo foram 9,4% de cinzas, 22,9% de proteínas e 1,1% de lipídeos. Gemedede et al. (2015) obtiveram, respectivamente, 5,37-11,30%, 10,25-26,16% e 0,56-2,49% de cinzas, proteínas e lipídeos em quiabo em pó. É importante destacar que o quiabo é um fruto nutritivo e pode ser considerado uma boa fonte de minerais, pelo seu alto teor de cinzas e proteínas (GEMEDE et al., 2015).

3.1.1 Determinação de antioxidantes

O potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade dele como um doador de elétrons ou de hidrogênio, capacidade de deslocar ou estabilizar um elétron desemparelhado e reatividade com outro antioxidante e oxigênio molecular (MORAES; COLLA, 2006). Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestrantes de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação desses antioxidantes, são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático (SOARES, 2002).

O conteúdo de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante das amostras de canela, cúrcuma e quiabo, determinados por dois métodos de sequestro de radicais livres (DPPH e ABTS), são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante (DPPH e ABTS) de canela, cúrcuma e quiabo

| | Compostos fenólicos totais* | DPPH** | ABTS** |
|----------------|------------------------------------|---------------|---------------|
| Canela | 23,0 ± 0,8 | 47,1 ± 3,9 | 130,5 ± 7,6 |
| Cúrcuma | 187,9 ± 1,2 | 4,0 ± 0,7 | 24,5 ± 6,8 |
| Quiabo | 120,5 ± 1,8 | 2,0 ± 0,5 | 14,7 ± 1,8 |

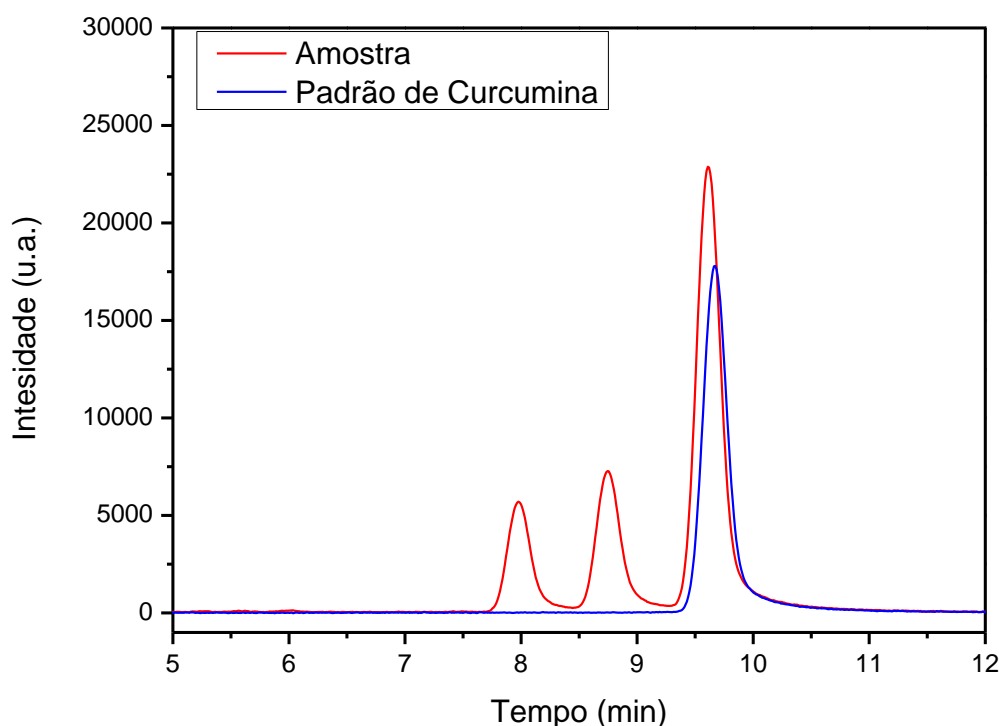
Valores expressos em média ± desvio-padrão; *valores expressos em mg GAE/g amostra; **valores expressos em TEAC (µM Trolox/g amostra).

Os antioxidantes são reconhecidos por seu potencial de promotores da saúde, reduzindo o risco de desenvolvimento de diversas doenças. As plantas comestíveis, especialmente, temperos e ervas, são excelentes fontes de compostos fenólicos, os quais demonstram boa atividade antioxidante (MAIZURA; AMINAH; WAN-AIDA, 2010).

Dos três vegetais, a cúrcuma foi o que apresentou a maior quantidade de compostos fenólicos (187,9 ± 1,2 mg GAE/g), seguida pelo quiabo (120,5 ± 1,8 mg GAE/g) e canela (23 ± 0,8 mg GAE/g). Entretanto, a canela foi o que apresentou maior atividade antioxidante (47,1 ± 3,9/130,5 ± 7,6 µM Trolox/g (DPPH/ABTS)), seguida pela cúrcuma (4,0 ± 0,7/24,5 ± 6,8 µM Trolox/g (DPPH/ABTS)) e quiabo (2,0 ± 0,5/14,7 ± 1,8 µM Trolox/g (DPPH/ABTS)). Isso pode ser explicado em razão de os compostos fenólicos não serem totalmente responsáveis pela atividade antioxidante nas plantas. Outros constituintes, como ascorbatos, carboidratos redutores, tocoferóis, carotenoides, terpenos e pigmentos, bem como o sinergismo entre eles, podem contribuir para a atividade antioxidante total (OLIVEIRA et al., 2012).

3.1.2 Determinação do teor de curcumina

Figura 2 – Cromatogramas de identificação e quantificação de curcumina na amostra de cúrcuma por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)



A Figura 2 refere-se aos cromatogramas de identificação e quantificação de curcumina na amostra de cúrcuma por CLAE. O teor de curcumina (em base seca) determinado na amostra de cúrcuma foi de $5,1 \pm 0,1\%$, valor próximo ao relatado por Jadhav; Mahadik e Paradkar (2007), segundo os quais, a curcumina é um diaril-heptanoide e constitui, aproximadamente, 4% do rizoma da cúrcuma. A curcumina representa 60-80% dos curcuminoides, que são compostos fenólicos naturais com propriedades antioxidantes potentes (SHARMA, 1976; WICHITNITHAD et al., 2009). Os outros dois principais curcuminoides são a demetoxicurcumina (15-30%) e a bis-demetoxicurcumina (2-6%) (WICHITNITHAD et al., 2009), os quais também podem ser observados no cromatograma da amostra, uma vez que a metodologia aplicada foi validada para a determinação simultânea dos três curcuminoides mencionados.

3.2 Experimento com animais

A Tabela 3 mostra os resultados descritivos de caracterização geral da amostra no momento pré-tratamento. Observou-se que não houve diferenças entre os quatro grupos estudados para todos os parâmetros avaliados.

Tabela 3 – Resultados descritivos de caracterização geral da amostra (média \pm desvio-padrão) para a massa corporal, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de IgA no momento pré-intervenção

| | Grupo Controle (n = 12) | Grupo Cúrcuma (n = 12) | Grupo Quiabo (n = 12) | Grupo Canela (n = 12) |
|--------------------|--|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Massa (g) | 348,6 \pm 113,9 | 360,1 \pm 49,5 | 335,2 \pm 114,6 | 380,3 \pm 42,5 |
| Gli (mg/dL) | 164,1 \pm 17,8 | 149,4 \pm 35,2 | 168,5 \pm 27,9 | 159,4 \pm 29,1 |
| Tgl (mg/dL) | 89,6 \pm 34,8 | 79,3 \pm 41,0 | 76,5 \pm 48,1 | 80,7 \pm 40,1 |
| CT (mg/dL) | 68,8 \pm 11,3 | 62,9 \pm 12,9 | 66,3 \pm 11,5 | 71,8 \pm 15,1 |
| AST (U/L) | 153,2 \pm 26,0 | 160,0 \pm 37,9 | 158,3 \pm 25,1 | 148,5 \pm 56,6 |
| ALT (U/L) | 53,4 \pm 18,6 | 55,0 \pm 13,4 | 56,3 \pm 8,3 | 52,9 \pm 11,2 |
| IgA (mg/dL) | 9,5 \pm 3,6 | 10,2 \pm 6,1 | 10,2 \pm 4,8 | 10,7 \pm 5,3 |

Massa – Massa Corporal, Gli – Glicose, Tgl – Triglicerídeos, CT – Colesterol Total, AST – Aspartato Aminotransferase, ALT – Alanina Aminotransferase, IgA – Imunoglobulina A; ANOVA One-Way ($P < 0,05$).

A Tabela 4 apresenta a análise dos resultados obtidos para a massa corporal, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de IgA, nos momentos pré e pós-tratamento para os quatro grupos estudados.

Tabela 4 – Análise dos resultados obtidos (média \pm desvio-padrão) para a massa corporal, parâmetros bioquímicos sanguíneos e níveis séricos de IgA

| | Grupo Controle (n = 12) | | Grupo Cúrcuma (n = 12) | | Grupo Quiabo (n = 12) | | Grupo Canela (n = 12) | |
|--------------------|----------------------------|-------------------|---------------------------|------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| | Pré | Pós | Pré | Pós | Pré | Pós | Pré | Pós |
| Massa (g) | 348,6 \pm 113,9 | 357,5 \pm 116,4 | 360,1 \pm 49,5 | 364,5 \pm 54,1 | 335,2 \pm 114,6 | 347,7 \pm 118,4 | 380,3 \pm 42,5 | 351,7 \pm 118,2 |
| Gli (mg/dL) | 164,1 \pm 17,8 | 140,5 \pm 47,0 | 149,4 \pm 35,2 | 159,8 \pm 25,6 | 168,5 \pm 27,9 | 147,1 \pm 61,9 | 159,4 \pm 29,1 | 146,0 \pm 64,4 |
| Tgl (mg/dL) | 89,6 \pm 34,8 | 108,5 \pm 51,6 | 79,3 \pm 41,0 | 89,6 \pm 39,8 | 76,5 \pm 48,1 | 94,2 \pm 42,3 | 80,7 \pm 40,1 | 90,7 \pm 42,8 |
| CT (mg/dL) | 68,8 \pm 11,3 | 71,9 \pm 27,0 | 62,9 \pm 12,9 | 68,7 \pm 11,0 | 66,3 \pm 11,5 | 69,0 \pm 23,5 | 71,8 \pm 15,1 | 69,4 \pm 26,9 |
| AST (U/L) | 153,2 \pm 26,0 | 136,0 \pm 56,4 | 160,0 \pm 37,9 | 135,0 \pm 22,5 | 158,3 \pm 25,1 | 132,3 \pm 60,6 | 148,5 \pm 56,6 | 181,4 \pm 92,8 |
| ALT (U/L) | 53,4 \pm 18,6 | 48,2 \pm 21,3 | 55,0 \pm 13,4 | 51,1 \pm 12,6 | 56,3 \pm 8,3 | 50,3 \pm 18,8 | 52,9 \pm 11,2 | 53,5 \pm 22,5 |
| IgA (mg/dL) | 9,5 \pm 3,6 | 8,6 \pm 4,7 | 10,2 \pm 6,1 | 14,1 \pm 12,0* | 10,2 \pm 4,8 | 8,7 \pm 6,1 | 10,7 \pm 5,3 | 14,1 \pm 10,3* |

Massa – Massa Corporal, Gli – Glicose, Tgl – Triglicérides, CT – Colesterol Total, AST – Aspartato Aminotransferase, ALT – Alanina Aminotransferase, IgA – Imunoglobulina A; Pré – Pré-tratamento, Pós – Pós-tratamento;

ANOVA de medidas repetidas ($P < 0,05$):

*Indica diferença intragrupo (entre os momentos pré e pós- tratamento).

Não foram observadas diferenças na análise para a massa corporal. Maithilikarpagaselvi et al. (2016), em estudo com adição de curcumina à dieta de ratos Wistar machos alimentados com uma dieta rica em frutose, detectaram redução da massa corporal no grupo tratado em comparação com o grupo controle. Em outro estudo, utilizando ratos Wistar albinos machos com sobrepeso, Bano e Akhtar (2012) verificaram redução da massa corporal dos animais tratados com extrato aquoso de canela em comparação com o controle ($P < 0,01$). O experimento foi finalizado quando os animais do grupo tratado chegaram a 15-19% de perda de massa corporal.

Em relação à glicemia, também não houve diferenças. Kuroda et al. (2005) verificaram que a suplementação da dieta de camundongos fêmeas geneticamente diabéticas com extrato etanólico de *C. longa* teve efeito supressor sobre o aumento da glicemia, quando comparado com o controle. No estudo de Bano e Akhtar (2012), observou-se redução da glicemia nos ratos com sobrepeso tratados com o extrato de canela na comparação com os animais do grupo controle. Verspohl, Bauer e Neddermann (2005), embora não tenham encontrado redução dos níveis de glicose, verificaram elevação dos níveis plasmáticos de insulina e elevação menos pronunciada da glicemia em resposta ao teste de tolerância à glicose (GTT) em ratos Wistar tratados previamente com casca de *C. cassia* ou extratos aquosos de *C. cassia* e *C. zeylanicum*. Não houve diferenças no grupo controle. Wang et al. (2014) relataram que a adição de 1 e 2% de semente de quiabo em pó à dieta hiperlipidêmica de camundongos reduziu, drasticamente, a glicemia em relação ao controle.

A hipercolesterolemia é responsável pela elevação do estresse oxidativo, relacionado com a peroxidação lipídica. O aumento na geração de LDL oxidado é o principal responsável pelo dano vascular associado a altos níveis de colesterol (RAHMAN et al., 2013). Na avaliação dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, mais uma vez, não foram observadas diferenças no presente trabalho.

Bano e Akhtar (2012) observaram redução dos níveis de colesterol total e triglicerídeos ($P < 0,01$) no grupo de animais com sobrepeso tratado com o extrato de canela. Rahman et al. (2013) conduziram dois experimentos para análise dos efeitos da adição de *C. cassia* na dieta de ratos Long Evans machos sobre o perfil lipídico (colesterol total, triglicerídeos, colesterol LDL (C-LDL) e colesterol HDL (C-HDL)): (1) animais alimentados com dieta convencional, assemelhando-se à presente pesquisa e (2) com dieta hipercolesterolêmica. No experimento (1), não foram observadas diferenças entre os grupos tratamento e controle, corroborando os

achados deste estudo. Já no experimento (2), houve redução dos níveis de colesterol total, triglicerídeos e C-LDL, respectivamente, na comparação com o controle. No entanto, é importante salientar que, em ambos os experimentos, não foram determinados os níveis iniciais dos parâmetros avaliados.

No estudo de Maithilikarpagaselvi et al. (2016), ocorreu redução dos níveis de triglicerídeos, colesterol VLDL (C-VLDL) e aumento dos níveis de C-HDL nos animais alimentados com dieta rica em frutose e tratados com curcumina. Babu e Srinivasan (1997) utilizaram ratos Wistar albinos machos, divididos em grupo controle e grupo com diabetes induzida por estreptozotocina para verificar os efeitos da adição de curcumina a uma dieta hipercolesterolêmica sobre o perfil lipídico dos animais. Os resultados demonstraram redução dos níveis de colesterol (C-LDL e C-VLDL) nos ratos do grupo controle submetidos à dieta hipercolesterolêmica, bem como nos ratos diabéticos submetidos e não-submetidos à essa mesma dieta.

Em experimento utilizando camundongos com hiperlipidemia induzida por Triton WR-1339, Ngoc et al. (2008) observaram que extratos de quiabo em pó provocaram redução dos níveis de colesterol total e triglicerídeos nos animais em relação ao grupo controle. O mesmo resultado foi observado por Wang et al. (2014) com a adição de 1 e 2% de semente de quiabo em pó à dieta hiperlipidêmica de camundongos.

A análise dos resultados para as enzimas hepáticas AST e ALT mostrou que não houve alterações para todos os grupos testados. Quantidades elevadas desses marcadores no sangue estão ligadas a disfunções hepáticas (JESUS; SOUSA; BARCELOS, 2014).

Os níveis de imunoglobulinas no sangue são determinados rotineiramente na prática clínica, fornecendo informações determinantes sobre o estado da imunidade humoral (BUCKLEY, 1986). A IgA é o anticorpo predominante nas áreas mucosas e, aproximadamente, 75% da produção diária são de anticorpos desta classe (MACPHERSON; GEUKING; MCCOY, 2012). A análise dos níveis séricos de IgA no presente estudo mostrou diferenças intragrupos (entre os momentos pré e pós-tratamento) para os grupos suplementados com cúrcuma ($P = 0,02$) e canela ($P = 0,04$), ocorrendo o aumento desses anticorpos. Segundo Akram et al. (2010), a curcumina melhora o sistema imune de forma geral. South, Exon e Hendrix (1997) estudaram os efeitos da adição de curcumina à dieta sobre o sistema imune em ratos. Um dos resultados observados foi o aumento da produção de anticorpos da classe

IgG (imunoglobulina G). Koh et al. (1998) verificaram efeitos imunomoduladores de compostos isolados de *C. cassia* em estudo utilizando camundongos tratados por gavagem e em testes *in vitro*.

A Tabela 5 mostra a análise dos resultados obtidos para a massa relativa de órgãos e tecidos. Não houve diferenças entre os grupos para a massa relativa de todos os órgãos e tecidos analisados no presente estudo. No estudo de Maithilikarpagaselvi et al. (2016), a adição de curcumina à dieta rica em frutose promoveu redução das massas relativas do fígado e da gordura dos animais. Já South, Exon e Hendrix (1997), não verificaram alterações na massa relativa do baço dos animais tratados e não tratados com curcumina.

Tabela 5 – Análise dos resultados obtidos (média \pm desvio-padrão) para a massa relativa de órgãos e tecidos

| | Grupo Controle (n = 12) | Grupo Canela (n = 12) | Grupo Cúrcuma (n = 12) | Grupo Quiabo (n = 12) |
|--------------------|--|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Adrenal (g) | 0,016 \pm 0,013 | 0,015 \pm 0,013 | 0,018 \pm 0,008 | 0,018 \pm 0,012 |
| Baço (g) | 0,145 \pm 0,055 | 0,139 \pm 0,050 | 0,152 \pm 0,018 | 0,142 \pm 0,053 |
| Fígado (g) | 2,912 \pm 0,998 | 2,692 \pm 0,940 | 3,072 \pm 0,346 | 2,637 \pm 0,898 |
| Gordura (g) | 0,825 \pm 0,496 | 0,635 \pm 0,263 | 0,848 \pm 0,326 | 0,735 \pm 0,341 |
| Rim (g) | 1,184 \pm 0,407 | 1,114 \pm 0,408 | 1,180 \pm 0,208 | 1,059 \pm 0,394 |
| Timo (g) | 0,037 \pm 0,023 | 0,036 \pm 0,023 | 0,036 \pm 0,016 | 0,031 \pm 0,024 |

ANOVA One-Way ($P < 0,05$).

4 Conclusão

No presente estudo, a análise dos efeitos da suplementação da dieta de ratos Wistar, com 50, 12,5 e 50 mg/dia, respectivamente, de cúrcuma, quiabo e canela em pó, não mostrou alterações nos parâmetros avaliados (massa corporal, glicemia, colesterol total, triglicerídeos, AST e ALT), exceto nos níveis séricos de IgA, que aumentaram nos grupos de animais tratados com cúrcuma e canela. Mais estudos são necessários para a comprovação desse efeito, pois é importante ressaltar que o sistema imune apresenta alta complexidade de funcionamento. A não ocorrência de

alteração nos níveis séricos das enzimas hepáticas AST e ALT pode contribuir para demonstrar a segurança do uso de cúrcuma, canela e quiabo como ingredientes funcionais.

REFERÊNCIAS

- AKRAM, M. et al. *Curcuma longa* and curcumin: a review article. **Rom J Biol-Plant Biol**, v. 55, n. 2, p. 65-70, 2010.
- AMIN, I. M. **Nutritional properties of *Abelmoschus esculentus* as remedy to manage *diabetes mellitus*: a literature review.** In: IPCBEE 2001: International Conference on Biomedical Engineering and Technology. Singapore: LACSIT Press, p. 50-54, 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 19th ed. Virginia: AOAC International, 2012.
- ARUAH, B. C.; UGURU, M. I.; OYIGA, B. C. Genetic variability and inter-relationship among some Nigerian pumpkin accessions (*Cucurbita* spp.). **Int J Plant Breeding**, v. 6, p. 34-41, 2012.
- ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 723-728, 2001.
- BABU, P. S.; SRINIVASAN, K. Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. **Mol Cell Biochem**, v. 166, p. 169-175, 1997.
- BANO, F.; AKHTAR, N. Effect of repeated administration of cinnamon aqueous extract on body weight, glucose levels and lipid profile on over weight rats. **Pak J Biochem Mol Biol**, v. 45, n. 3, p. 172-174, 2012.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Sci Technol**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BUCKLEY, R. H. Humoral immunodeficiency. **Clin Immunol Immunopathol**, v. 40, p. 13-24, 1986.
- CHATTOPADHYAY, I. et al. Turmeric and curcumin: biological actions and medicinal applications. **Curr Sci**, v. 87, p. 44-53, 2004.
- CHEMPAKAM, Bagheerathy; PARTHASARATHY, Villupanoor A. **Turmeric.** In: PARTHASARATHY, Villupanoor A.; CHEMPAKAM, Bagheerathy; ZACHARIAH, T. John. **Chemistry of spices.** London: CAB International, 2008. p. 124-145.
- CONCEIÇÃO-SILVA, F.; BESSA, C. **Eutanásia.** In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; PRESGRAVE, O. A. F. (Eds.). **Manual de utilização de animais/FIOCRUZ**, Rio de Janeiro: CEUA – FIOCRUZ, 2008. p. 37-45.
- DANTAS, J. A. et al. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do biotério central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Sci Health Sci**, v. 28, n. 2, p. 165-170, 2006.

EIGNER, D.; SCHOLZ, D. *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. **J Ethnopharmacol**, v. 67, p. 1-6, 1999.

FARIA NETO, H. C. C., SANTOS, B. F. **Fármacos usados em animais de laboratório. Anestésicos e analgésicos**. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; PRESGRAVE, O. A. F. (Eds.). **Manual de utilização de animais/FIOCRUZ**, Rio de Janeiro: CEUA – FIOCRUZ, 2008. p. 20-27.

GEMEDE, H. F. et al. Nutritional quality and health benefits of okra (*Abelmoschus esculentus*): a review. **J Food Process Technol**, v. 6, p. 6., 2015.

GUL, S.; SAFDAR, M. Proximate composition and mineral analysis of cinnamon. **Pak J Nutr**, v. 8, n. 9, p. 1456-1460, 2009.

JADHAV, B. K.; MAHADIK, K. R.; PARADKAR, A. R. Development and validation of improved reversed phase-HPLC method for simultaneous determination of curcumin, demethoxycurcumin and bis-demethoxycurcumin. **Chromatographia**, v. 65, p. 483-488, 2007.

JESUS, G. C.; SOUSA, H. H. B. A., BARCELOS, R. S. S. Principais patologias e biomarcadores das alterações hepáticas. **Estudos**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 525-537, 2014.

JONES, D. B. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. **U.S. Dept Agric**, circ. 183, 1941.

KOH, W. S. et al. Cinnamaldehyde inhibits lymphocyte proliferation and modulates T-cell differentiation. **Int J Immunopharmacol**, v. 20, n. 11, p.643-660, 1998.

KROKIDA, M. K. et al. **Drying kinetics of some vegetables**. **J Food Eng**, v. 59, p. 391-403, 2003.

KURODA, M. et al. Hypoglycemic effects of turmeric (*Curcuma longa* L. rhizomes) on genetically diabetic KK-A mice. **Biol Pharm Bull**, v. 28, n. 5, p. 937-939, 2005.

LAI, P. K.; ROY, J. Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. **Curr Med Chem**, v. 47, n. 2, p. 234-238, 2004.

MACPHERSON, A. J., GEUKING, M. B.; MCCOY, K. D. Homeland security: IgA immunity at the frontiers of the body. **Trends Immunol**, v. 33, p. 160-167, 2012.

MAITHILIKARPAGASELVI, N. et al. Curcumin inhibits hyperlipidemia and hepatic fat accumulation in high-fructose-fed male Wistar rats. **Pharm Biol**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2016.1187179>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

MAIZURA, M.; AMINAH, A.; WAN-AIDA, V. M. Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zinziber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. **Int Food Res J**, v. 17, p. 45-53, 2010.

MCGHIE, T. K.; HUNT, M.; BARNETT, L. E. Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. **J Agric Food Chem**, v. 53, p. 3065-3070, 2005.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006. Disponível em: <
<http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/2082/2024>> Acesso em: 04 jul. 2013.

NAGARAJAN, S. KUBRA, I. R.; RAO, L. J. M. Separation of curcuminoids enriched fraction from spent turmeric oleoresin and its antioxidant potential. **J Food Sci**, v. 75, p. H158-H162, 2010.

NGOC, T. H. et al. Hypolipidemic effect of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. (*Malvaceae*) on Tyloxapol-induced hyperlipidemia in mice. **J Pharm Sci**, v. 35., n. 1-4, p. 42-46, 2008.

OLIVEIRA, A. M. F. et al. Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species. **Antioxidants**, v. 1, p. 33-43, 2012.

PIERCE, A. The American Pharmaceutical Practical Guide to Natural Medicines. **Nova Iorque: The Stonesong Press, Inc.**, 1999.

RAHMAN, M. S., PERERA, C. O. **Drying and food preservation**. In: RAHMAN, M. S. (Ed.). **Handbook of food preservation**. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. p. 404-429.

RAHMAN, S. et al. Effect of cinnamon (*Cinnamomum cassia*) as a lipid lowering agent on hypercholesterolemic rats. **J Enan Med Col**, v. 3, n. 2, p. 94-98, 2013.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

SHARMA, O. P. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. **Biochem Pharmacol**, v. 26, p. 1811-1812, 1976.

SINGLETON, V. L.; ROSSI JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am J Enol Vitic**, v. 16, n. 3, p. 144-58, 1965.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev Nutr**, v. 15., n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUTH, E. H.; EXON, J. H., HENDRIX, K. Dietary curcumin enhances antibody response in rats. **Immunopharm and immunot**, v. 19, n. 1, p. 105-119, 1997.

TAINTER, D. R.; GRENIS, A. T. **Spices and seasonings – A food technology handbook**. Nova Iorque: VCH Publishers Inc., 1993.

THE PLANT LIST (2017). Version 1.1. Published on the Internet. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em: 24 fev. 2014.

VANGALAPATI, M. et al. A review on pharmacological activities and clinical effects of cinnamon species. **Res J Pharm Biol Chem Sci**, v. 3, n. 1, p. 653-663, 2012.

VERSPOHL, E. J.; BAUER, K.; NEDDERMANN, E. Antidiabetic effect of *Cinnamomum cassia* and *Cinnamomum zeylanicum* *in vivo* and *in vitro*. **Phytother Res**, v. 19, p. 203-206, 2005.

WANG, H. et al. Hypolipidemic activity of okra is mediated through inhibition of lipogenesis and upregulation of cholesterol degradation. **Phytother Res**, v. 28, p. 268-273, 2014.

WICHITNITHAD, W. et al. A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts. **Phytochem Anal**, v. 20, p. 314-319, 2009.

CAPÍTULO 3

Avaliação dos efeitos da suplementação da dieta com ingrediente alimentar em pó à base de cúrcuma, canela, manoproteína e proteína isolada de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019 sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis séricos de IgA de homens adultos

Resumo

Hábitos alimentares e de atividade física inadequados, entre outros fatores, podem contribuir para a ocorrência de doenças, como as dislipidemias e a síndrome metabólica. A introdução de ingredientes funcionais na dieta pode modificar, positivamente, indicadores relacionados a essas patologias. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da suplementação da dieta com um ingrediente em pó à base de cúrcuma, canela, manoproteína e proteína isolada de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019, durante 40 dias, sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis de IgA no sangue periférico de homens adultos. Para tanto, conduziu-se um estudo clínico aleatorizado, duplo-cego, placebo-controlado, com sujeitos do sexo masculino (n = 20) da cidade de Londrina, Brasil. A amostra foi obtida obedecendo-se a critérios de inclusão. O ingrediente (dose diária: 1,2 g de cúrcuma, 1 g de canela, 0,1 g de manoproteína e 1 g da proteína isolada de soro de leite com *B. lactis*) foi preparado em cápsulas de modo a garantir o mascaramento do produto. Foram avaliados a massa corporal, o índice de massa corporal (IMC), a massa corporal magra (MCM), massa corporal gorda (MCG), gordura relativa, circunferência abdominal, o perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL (C-HDL), colesterol LDL (C-LDL) e colesterol não-HDL (C-NHDL)) e os níveis de imunoglobulina A (IgA) no sangue periférico, além da atividade física habitual e de indicadores nutricionais. Os resultados obtidos mostraram que o ingrediente em pó foi capaz de aumentar a MCM, reduzir a MCG, a gordura relativa e a circunferência abdominal, bem como de promover possível melhora no perfil lipídico, reduzindo o colesterol total, C-LDL e C-NHDL, além de provocar a queda dos níveis de IgA, o que pode indicar um efeito imunomodulador. As limitações da amostra reduzida e por conveniência neste ensaio clínico requerem a realização de novos estudos para se estabelecer o ingrediente testado como um produto com propriedades funcionais.

Palavras-chave: Alimento funcional; Antropometria; Metabolismo dos lipídeos; Sistema imunológico; Humanos.

1 Introdução

A dieta é o foco para a manutenção de uma vida saudável, pois reduz os riscos do desenvolvimento de doenças crônicas, como gastrintestinais, cardiovasculares, câncer, osteoporose, e promove a saúde na senilidade. Atualmente, existe um forte apelo por alimentos saudáveis, em virtude de uma maior conscientização dos consumidores, o que faz com que a indústria se volte para a pesquisa de produtos com alegações de propriedades funcionais em todo o mundo (BADARÓ, 2008).

Alterações como as dislipidemias são, frequentemente, relacionadas a hábitos alimentares e ao estilo de vida inadequados e estão ligadas à chamada “síndrome metabólica”, doença epidêmica mundial associada, principalmente, à grande alteração nas condições de saúde e mortalidade (SANTINI; NOVELLINO, 2016). A hiperlipidemia é um dos maiores fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (SAHEBKAR et al., 2016). Diversos nutracêuticos e alimentos funcionais apresentam potencial para modificar, benéficamente, o perfil lipídico (CHEN; JIAO; MA, 2008; SAHEBKAR et al., 2016).

Vários componentes dos alimentos podem atuar, em determinadas concentrações, como ingredientes funcionais (SGARBIERI; PACHECO, 1999), os quais podem ser classificados quanto à fonte, como de origem vegetal, caso dos extratos brutos ou produtos refinados derivados de plantas ou partes de plantas (por exemplo, folhas, caules, flores, raízes) (HASANI-RANJBAR et al., 2009) e origem microbiana (p. ex., os probióticos).

O rizoma da cúrcuma ou açafrão-da-terra, da família Zingiberaceae, espécie *Curcuma longa*, e a casca da canela, pertencente à família Lauraceae, gênero *Cinnamomum* (THE PLANT LIST, 2017), são muito empregados como temperos e plantas medicinais tradicionais no tratamento de várias doenças, como as dislipidemias. A curcumina é o principal pigmento e composto bioativo da cúrcuma (GUDDADARANG et al., 2002) e exibe propriedades antioxidantes e imunomoduladoras (JAGETIA; AGGARWAL, 2007).

As manoproteínas, que são glicoproteínas derivadas da parede de leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, as proteínas, os lipopolissacarídeos, e derivados de lipídeos foram caracterizados como moléculas que possuem potentes efeitos no sistema imune do hospedeiro, promovendo a regulação da resposta a

micro-organismos e interagindo de forma a manter o equilíbrio, o que direciona uma resposta adequada aos agentes infecciosos (TZIANABOS, 2000).

Os probióticos são micro-organismos que produzem efeitos benéficos no hospedeiro (COPPOLA; TURNES, 2004). A habilidade de impactar a população ou atividade da microbiota presente no trato intestinal humano é considerada uma importante característica dos probióticos (SANDERS, 2006). Cepas pertencentes ao gênero *Bifidobacterium* são as mais utilizadas como probióticos e incluídas em muitos suplementos alimentares (LIU et al., 2010).

Considerando o grande volume de soro de leite produzido diariamente, com alto valor nutricional e a poluição ambiental associada ao destino inadequado desse subproduto, as indústrias tem buscado alternativas viáveis para aproveitá-lo (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012). A proteína de soro de leite e derivados (concentrado, isolado e hidrolisado) apresentam diversas propriedades fisiológicas (PATEL, 2015). Além de ser considerada fonte de proteína de alta qualidade (SOUSA et al., 2012), é rica em aminoácidos essenciais de cadeia ramificada, peptídeos funcionais, antioxidantes e imunoglobulinas (PATEL, 2015).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação da dieta com um ingrediente alimentar em pó à base de cúrcuma, canela, manoproteína e proteína isolada de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019 sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis séricos de IgA de homens adultos.

2 Material e Métodos

2.1 Ingrediente alimentar em pó

2.1.1 Cúrcuma e canela

A cúrcuma (*C. longa*) e canela (*Cinnamomum* spp.), ambas em pó, foram adquiridas no mercado local da cidade de Londrina, Brasil.

2.1.2 Ativação da cepa de *B. lactis* HN019 e preparo do componente proteína-probiótico

A cepa liofilizada de *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* HN019 (DANISCO®, DuPont, Dinamarca), probiótico aprovado pela legislação (BRASIL, 2002), foi ativada em 100 mL de leite em pó desnatado (Molico®, Nestlé Brasil, Brasil) reconstituído a 10% (p/v) de sólidos (esterilizado a 115 °C/15 minutos). A cultura foi incubada em estufa a 37 °C por 24 horas sob anaerobiose. Após a ativação, foram preparados 2 L de leite em pó desnatado reconstituído a 10% (p/v) de sólidos (esterilizado a 115 °C/15 minutos) e inoculados com a bactéria ativada. A cultura foi incubada em estufa a 37 °C por 24 horas sob anaerobiose.

O componente proteína-*B. lactis* foi produzido incorporando-se proteína isolada de soro de leite em pó (Alpha Galvano Química Bras. Ltda., Brasil) ao cultivo de *B. lactis* desenvolvido, na proporção 1:1 (p/v). Essa suspensão foi homogeneizada e liofilizada para, posteriormente, ser moída em processador industrial até obtenção de um pó de gramatura fina. Esse componente foi armazenado em embalagem fechada e a temperatura ambiente ao abrigo de luz direta até a utilização.

2.1.2.1 Contagem de *B. lactis* HN019

A contagem de células de *B. lactis* contidas no ingrediente proteína-*B. lactis* e ingrediente em pó (após o preparo e ao final do período de suplementação) foi realizada segundo Champagne et al. (2011). Foram adicionados 10 gramas de amostra em 90 mL de água peptonada (esterilizada a 121 °C/15 minutos), incubando-se, em seguida, a 37 °C por 4 horas sob anaerobiose. Após o período de incubação, foram realizadas diluições seriadas, em água peptonada 0,1% (p/v) e, a seguir, foi realizado o plaqueamento em profundidade com *Orange Serum Agar*. Em seguida, as placas foram incubadas a 37 °C sob anaerobiose por 72h.

2.1.3 Obtenção da manoproteína de *S. cerevisiae*

A manoproteína foi obtida a partir de fermento de padaria (*Saccharomyces cerevisiae*). A levedura de panificação foi previamente preparada para a autólise, com adição de água destilada até a obtenção de 20% (p/v) de sólidos totais em base seca. A suspensão foi ajustada para pH 5,0, utilizando-se soluções de NaOH ou HCl 1M. A seguir, foi mantida a 50 °C, em banho-maria, sem agitação, durante 24 horas, conforme Oliveira (2009) com modificações. Decorrido esse tempo, a suspensão foi centrifugada (3500 x g, 5 minutos, 10 °C). A umidade do precipitado obtido, correspondente à parede celular, foi determinada por infravermelho.

A extração foi realizada seguindo-se o procedimento preconizado por Costa (2008) com modificações. O precipitado obtido na etapa anterior foi ressuspenso em água destilada até a concentração de 15% (p/v) em base seca e, em seguida, tratado, termicamente, a 95 °C, durante 9 horas, sob agitação de 100 rpm, em sistema de refluxo. Em seguida, a solução foi resfriada até 45 °C e centrifugada (3500 x g, 10 minutos, 10 °C). O sobrenadante foi recuperado, adicionado a 3 volumes de etanol absoluto e armazenado a 4 °C por 12 horas para precipitação total da manoproteína. Após esse período, o material foi centrifugado novamente (3500 x g, 5 minutos, 4 °C) e o resíduo sólido, ou manoproteína, foi liofilizado e moído em processador industrial até a obtenção de um pó de gramatura fina. Esse componente foi armazenado a temperatura ambiente e ao abrigo de luz até a utilização.

A manoproteína foi caracterizada segundo Scaringi et al. (1988) quanto ao seu conteúdo de açúcares totais, pelo método de Dubois et al. (1956), utilizando-se a glicose como padrão, e proteínas, pelo método de Lowry (Lowry et al., 1951), tendo a albumina de soro bovino (BSA) como padrão. A umidade foi determinada por secagem em estufa (105 ± 5 °C), segundo método da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2012) e os resultados, expressos em base seca, de acordo com a Equação 1. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio-padrão.

Equação 1 – Conversão de valores obtidos em base úmida para base seca

$$BS = (BU \times 100)/(100-U)$$

Onde:

BS = valor em base seca (%)

BU = valor em base úmida (%)

U = umidade (%)

2.1.4 Mistura dos componentes

Todos os componentes em pó foram pesados, observando-se a dose diária de 3,3 g, correspondente a 1,2 g de cúrcuma, 1 g de canela, 0,1 g de manoproteína e 1 g de proteína isolada de soro de leite com *B. lactis*, de modo a se obter a quantidade necessária para todo o período do estudo. Posteriormente, a mistura foi homogeneizada em misturador manual. O ingrediente foi preparado e armazenado de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos. Foram realizadas análises microbiológicas para verificação de contaminantes, conforme determinado pela legislação (BRASIL, 2001). O ingrediente em pó foi caracterizado quanto à composição físico-química, segundo os métodos da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2012). Todas as análises foram feitas em triplicata. Os resultados (%) foram expressos em média \pm desvio-padrão.

2.2 Preparo das cápsulas

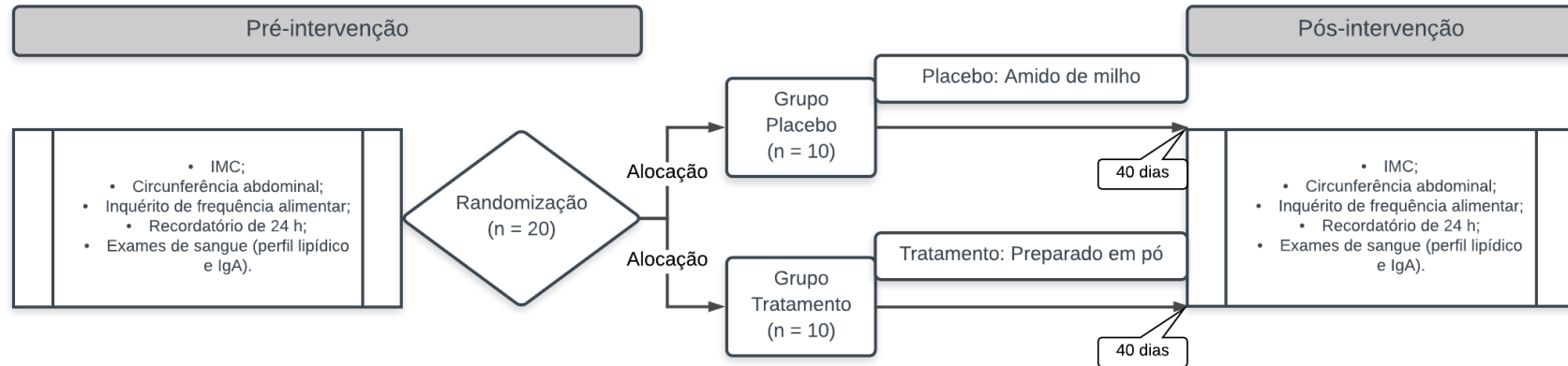
O ingrediente em pó e o placebo, que consistiu em amido de milho, grau alimentício, em pó (Maizena[®], Unilever Brasil, Brasil) foram encapsulados. Foram utilizadas cápsulas opacas de gelatina, tamanho '00' (MAWIN, Santo André, Brasil). As cápsulas foram preparadas em farmácia de manipulação (Farmácia de Manipulação e Homeopatia Doce Erva, Apucarana, Brasil) em encapsuladora manual. Depois de prontas, foram armazenadas em frascos de rosca próprios contendo um sachê de sílica em gel dessecante.

2.3 Sujeitos

Para inclusão no estudo, alguns critérios foram estabelecidos: os participantes deveriam ser do sexo masculino, com idade a partir de 25 até 45 anos, não etilistas, não tabagistas, não praticantes de exercício físico regular, não consumidores regulares de canela, cúrcuma e produtos probióticos e possuir circunferência abdominal com medida igual ou superior a 90 (\pm 1 cm), critério da Federação Internacional de Diabetes para diagnóstico de síndrome metabólica (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA, 2016), ou seja, indivíduos com um perfil de sedentarismo associado à presença de gordura visceral, com predisposição a comorbidades. Os critérios de exclusão adotados foram: possuir manifestação de alergia ou intolerância aos ingredientes ou outro tipo de restrição (doença crônica, uso de medicamentos e infecção aguda). Após a concordância de participação na pesquisa, os sujeitos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A).

2.4 Delineamento experimental

Foi realizado um estudo clínico aleatorizado, duplo-cego, placebo-controlado, com 20 sujeitos, na cidade de Londrina, Brasil (Figura 1). A amostra, obtida por conveniência, foi aleatorizada seguindo-se, criteriosamente, as recomendações propostas pela Colaboração Cochrane (SHULZ; ALTMAN; MOHER, 2012). O processo de aleatorização foi composto por duas etapas, sendo a primeira delas, a geração dos números por tabela de números aleatórios (www.random.org) (ANEXO B) e a segunda, pela ocultação da alocação, utilizando-se envelopes opacos e selados. Após a assinatura do TCLE pelo sujeito, um envelope foi aberto e definiu em qual grupo o participante foi alocado (Placebo ou Tratamento). De modo a garantir o mascaramento para o pesquisador principal, outros dois avaliadores independentes conduziram a aleatorização e o processamento dos dados, da coleta à planilha.

Figura 1 – Fluxograma descritivo do delineamento experimental

A suplementação da dieta foi realizada por meio da ingestão de cápsulas opacas para garantir o mascaramento do produto. O período de tratamento foi de 40 dias. A dose diária do ingrediente em pó foi preparada em 6 cápsulas (550 mg por cápsula). A dose do placebo consistiu na mesma quantidade de cápsulas diárias (450 mg de amido de milho por cápsula, em virtude de sua menor densidade). Cada sujeito recebeu um frasco contendo 240 cápsulas (ingrediente ou placebo), correspondente à duração total do tratamento, e foi instruído a não ingerir as cápsulas com bebidas ou alimentos quentes, em virtude do conteúdo probiótico, e a não alterar seus hábitos alimentares e de atividade física. Os pesquisadores usaram contato telefônico para o acompanhamento dos sujeitos durante o período experimental, procurando garantir a melhor condução do experimento. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEL (nº 1.792.782), Londrina, Brasil (ANEXO C).

2.4.1 Avaliação da dieta

Para todos os sujeitos, no dia anterior à coleta de sangue, foi aplicado um recordatório dietético de 24 horas (APÊNDICE B) para a avaliação dos indicadores nutricionais. Como instrumento auxiliar, utilizou-se o registro fotográfico para inquéritos dietéticos (ZABOTTO; VIANA; GIL, 1996). Essa avaliação ocorreu nos momentos pré e pós-intervenção, com o intuito de verificar se as recomendações de manutenção dos padrões dietéticos habituais, durante o estudo, foram respeitadas. Para cálculo do valor calórico total (expresso em Kcal) e dos macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos, expressos em g) foram empregadas a “Tabela Tucunduva” (PHILIPPI, 2016) e a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2011). Para os alimentos não contidos nessas referências, utilizaram-se os dados fornecidos pelos fabricantes. Os procedimentos e cálculos foram realizados por um nutricionista.

2.4.2 Avaliação da atividade física habitual

Para investigar os níveis de atividade física habitual e garantir que os sujeitos que compunham a amostra não praticavam exercícios sistematizados, foi aplicado, para cada um, o Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) versão curta (ANEXO D). Esse questionário analisa os tipos de atividades que as pessoas realizam no dia a dia. As perguntas relacionam-se ao tempo gasto com atividades físicas no intervalo de sete dias anteriores à data de aplicação do questionário e incluem atividades que se executam no ambiente de trabalho ou de locomoção de um lugar a outro, além de lazer ou prática de esportes. O questionário é composto por seis perguntas e pode ser dividido em três pequenos grupos: 1) frequência e duração de caminhada; 2) frequência e duração de atividades moderadas diversas, como andar de bicicleta, cuidar do jardim, entre outras; 3) frequência e duração de atividades vigorosas, como fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, ou seja, atividades que aumentam muito os batimentos cardíacos, bem como a respiração. O preenchimento dos questionários foi realizado por cada sujeito sem a intervenção dos pesquisadores, à exceção de quando ocorriam dúvidas de compreensão das questões.

O critério de classificação empregado para a análise das entrevistas seguiu as recomendações internacionais (PATE et al., 1995); os indivíduos que despendiam de 0 a 149 minutos com atividades físicas em geral foram considerados insuficientemente ativos (menos ativos) e, 150 minutos ou mais, classificados como ativos (mais ativos). Os cálculos foram realizados por um educador físico.

2.4.3 Indicadores antropométricos

Para a avaliação antropométrica foram aferidos a massa corporal (Kg) e a estatura (m), de acordo com as técnicas preconizadas por Frisancho (1990). De posse dessas informações, foi calculado o índice de massa corporal (IMC). Adicionalmente, foram avaliadas as dobras cutâneas nas regiões supra ilíaca, tricipital e abdominal, com o intuito de se investigar a composição corporal. O cálculo do percentual de gordura relativa foi estimado a partir das equações preditivas de Jackson e Pollock (1978). A partir da estimativa do percentual de gordura, foram

calculadas a massa corporal magra (MCM) e massa corporal gorda (MCG), ambas em Kg. A adiposidade abdominal foi tomada como medida específica do risco cardiovascular. Para tanto, foi utilizada uma fita métrica metálica inextensível na região abdominal, onde se verificou a maior circunferência sobre a cicatriz umbilical (FRISANCHO, 1990). Todas as avaliações supra descritas foram realizadas por um único avaliador treinado nos dois momentos de avaliação, pré e pós-intervenção.

2.4.4 Parâmetros bioquímicos e imunológicos

Antes e após o período de intervenção, foram realizadas coletas de sangue periférico dos sujeitos, obedecendo-se a um jejum de 12 horas. O material utilizado para as determinações bioquímicas (perfil lipídico: colesterol total, HDL (C-HDL), LDL (C-LDL) e não-HDL (NHDL)) e da imunidade humoral, avaliada pela dosagem dos níveis de anticorpos IgA, foi o soro. Os métodos empregados foram, respectivamente, enzimático automatizado e imunoturbidimétrico. As coletas e análises foram feitas em laboratório de análises clínicas (CLINILAB, Londrina, Brasil).

2.5 Análises estatísticas

Para a análise dos dados, foi utilizado o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, apresentando distribuição normal. Na caracterização da amostra no momento pré-intervenção, atendendo-se ao pressuposto de homogeneidade (teste de *Levene*), para comparação das variáveis entre os grupos, utilizou-se o teste t de *Student* para amostras independentes. Para as comparações inter e intragrupos nos momentos pré e pós-tratamento, aplicou-se o teste de esfericidade de *Mauchly*. Atendendo-se ao pressuposto de esfericidade, foi utilizada a ANOVA de medidas repetidas. Adotou-se a estatística paramétrica para todos os dados, os quais foram dispostos em média e desvio-padrão. O pacote estatístico utilizado foi o SPSS® 23.0 (IBM, EUA) e adotou-se o valor de $P < 0,05$.

3. Resultados e discussão

3.1 Ingrediente em pó

A Tabela 1 apresenta a caracterização físico-química do ingrediente em pó. Destaca-se o alto conteúdo proteico (32,8%), relacionado à presença da proteína isolada de soro de leite, que fornece 94,1% de proteína, segundo o fabricante (Alpha Galvano Química Bras. Ltda., Brasil). Na dose diária utilizada no presente estudo (3,3 g), o ingrediente contribui com cerca de 2,2% da ingestão diária recomendada (IDR), que é de 50 g diários (BRASIL, 2005).

Tabela 1 – Composição centesimal do ingrediente em pó quanto ao teor de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos

| Componente | Teor (%) |
|----------------|------------|
| Umidade | 9,6 ± 0,2 |
| Cinzas* | 3,2 ± 0,2 |
| Proteínas* | 32,8 ± 0,5 |
| Lipídeos* | 4,1 ± 0,8 |
| Carboidratos** | 50,3 |

Valores expressos em média ± desvio-padrão; *valores expressos em base seca; **valor obtido por diferença.

A contagem de células de *B. lactis* contidas no ingrediente proteína-*B. lactis* e ingrediente em pó (antes e após o período de suplementação) resultou em 10⁸ UFC/g, valor concordante com o preconizado pela legislação (BRASIL, 2002). Os resultados das análises microbiológicas para verificação de contaminantes no ingrediente em pó também foram concordantes com a legislação (BRASIL, 2001).

Tabela 2 – Composição da manoproteína de *S. cerevisiae* quanto ao teor de proteínas e açúcares totais

| Componente | Teor (%) |
|-----------------|------------|
| Proteínas | 24,7 ± 1,3 |
| Açúcares totais | 74,1 ± 8,8 |

Valores expressos (base seca) em média ± desvio-padrão.

Os resultados de caracterização da manoproteína estão expostos na Tabela 2. A proporção entre açúcares e proteínas foi semelhante ao encontrado por Freimund et al. (2003), que determinaram teor de açúcares totais de 81-83% e 14-15% de proteínas para manoproteínas extraídas da parede celular de *S. cerevisiae*, e Darpossolo (2010), que encontrou 78,11% de açúcares totais e 14,74% de proteínas em *S. uvarum*.

3.2 Avaliação da dieta

A Tabela 3 apresenta os indicadores nutricionais obtidos por meio do recordatório de 24 horas nos momentos pré e pós-intervenção para os grupos placebo e tratamento. Não houve diferenças inter e intragrupos para o valor calórico total e os macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos). A avaliação dos indicadores nutricionais demonstrou que os participantes seguiram as recomendações de manutenção dos padrões dietéticos habituais durante o estudo.

Tabela 3 – Indicadores nutricionais (média \pm desvio-padrão) obtidos a partir do recordatório de 24 horas

| | Grupo Placebo (n = 10) | | Grupo Tratamento (n = 10) | |
|------------------------------------|---------------------------|----------------|------------------------------|----------------|
| | Pré | Pós | Pré | Pós |
| Valor calórico total (Kcal) | 2116 \pm 650 | 2116 \pm 628 | 2458 \pm 1038 | 2126 \pm 628 |
| Carboidratos (g) | 279 \pm 95 | 251 \pm 86 | 310 \pm 156 | 348 \pm 135 |
| Proteínas (g) | 79 \pm 30 | 86 \pm 27 | 93 \pm 40 | 87 \pm 48 |
| Lipídeos (g) | 75 \pm 24 | 89 \pm 35 | 81 \pm 30 | 101 \pm 56 |

Pré – Pré-intervenção, Pós – Pós-intervenção;

ANOVA de medidas repetidas ($P < 0,05$).

3.3 Avaliação da atividade física habitual

A análise dos questionários (IPAQ versão curta) mostrou que 75% da amostra foi caracterizada como “insuficientemente ativos”, ou seja, cuja realização de atividade física geral foi menor do que 150 minutos. Adicionalmente, é importante

ressaltar que nenhum dos participantes esteve envolvido em nenhum programa sistematizado de exercícios físicos antes ou durante o processo de intervenção.

3.4 Caracterização dos sujeitos

As Tabelas 4 e 5 mostram a caracterização geral da amostra no momento pré-intervenção. Todos os participantes completaram o estudo. Em relação à classificação do IMC (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA, 2016), os grupos ficaram assim distribuídos: placebo – 80% de indivíduos com excesso de peso e 20% de indivíduos eutróficos; tratamento – 90% com excesso de peso e 10% eutróficos.

Não foram observadas diferenças entre os grupos para idade, estatura, IMC, MCG, gordura relativa, triglicerídeos, C-HDL e IgA. No entanto, para os demais parâmetros (massa corporal, MCM, circunferência abdominal, colesterol total, C-LDL e C-NHDL), os grupos apresentaram diferenças. Isso pode ter ocorrido em virtude do tamanho reduzido da amostra.

Tabela 4 – Resultados descritivos de caracterização geral da amostra (média \pm desvio-padrão) para indicadores antropométricos no momento pré-intervenção

| | Grupo Placebo (n = 10) | Grupo Tratamento (n = 10) | P |
|--|---------------------------------------|--|----------|
| Idade (anos) | 30,0 \pm 4,4 | 30,0 \pm 3,1 | 1,000 |
| Estatura (m) | 1,78 \pm 0,1 | 1,73 \pm 0,0 | 0,23 |
| Massa Corporal (Kg) | 90,8 \pm 12,7 | 79,9 \pm 4,4 | 0,02* |
| Índice de Massa Corporal (Kg/m²) | 28,8 \pm 4,9 | 26,6 \pm 1,7 | 0,19 |
| Massa Corporal Magra (Kg) | 66,6 \pm 8,3 | 60,0 \pm 2,8 | 0,03* |
| Massa Corporal Gorda (Kg) | 24,1 \pm 5,5 | 19,9 \pm 3,3 | 0,54 |
| Gordura Relativa (%) | 26,3 \pm 3,5 | 24,0 \pm 3,3 | 0,31 |
| Circunferência Abdominal (cm) | 103,8 \pm 10,7 | 94,3 \pm 4,0 | 0,02* |

Teste t – amostras independentes (*P <0,05).

Tabela 5 – Resultados descritivos de caracterização geral da amostra (média \pm desvio-padrão) para o perfil lipídico e níveis séricos de IgA no momento pré-intervenção

| | Grupo Placebo (n = 10) | Grupo Tratamento (n = 10) | Valores de referência** | P |
|-------------------------|---------------------------------------|--|--|----------|
| Triglicerídeos | 156,5 \pm 68,7 | 146,0 \pm 90,5 | Ótimo: até 150 Limítrofe: 150-200 Alto: 201-499 Muito alto: >499 | 0,77 |
| Colesterol Total | 181,8 \pm 29,2 | 220,5 \pm 33,4 | Desejável: até 200 Limítrofe: 200-239 Aumentado: >239 | 0,01* |
| Colesterol HDL | 42,5 \pm 10,1 | 45,4 \pm 7,3 | Desejável: >60 Baixo: <40 | 0,47 |
| Colesterol LDL | 108,0 \pm 21,0 | 146,0 \pm 33,3 | Ótimo: <100 Desejável: 100-129 Limítrofe: 130-159 Alto: 160-189 Muito alto: >189 | 0,007* |
| Colesterol NHDL | 139,3 \pm 25,4 | 175,1 \pm 36,3 | Ótimo: até 130 Desejável: 130-159 Alto: 160-189 Muito alto: >189 | 0,02* |
| Imunoglobulina A | 238,4 \pm 70,2 | 203,4 \pm 82,8 | 70-400 | 0,32 |

Teste t – amostras independentes (* $P < 0,05$); **Laudo CLINILAB.

3.5 Efeitos da suplementação sobre indicadores antropométricos

A Tabela 6 apresenta a análise dos resultados obtidos para os indicadores antropométricos. Observou-se que houve diferença para a massa corporal entre os grupos em ambos os momentos, pré e pós-intervenção, mas não entre os momentos intragrupos. Isso demonstra que, inicialmente, como visto na caracterização geral da amostra, o grupo placebo apresentava massa corporal maior do que o tratamento e esta diferença permaneceu após o período de intervenção. Não

houve diferenças inter e intragrupos para o IMC. Isso pode ser explicado pelo fato do cálculo do IMC levar em consideração, além da massa corporal, a estatura.

Tabela 6 – Análise dos resultados obtidos (média \pm desvio-padrão) para indicadores antropométricos

| | Grupo Placebo (n = 10) | | Grupo Tratamento (n = 10) | |
|-------------------------------|---------------------------|------------------|------------------------------|------------------|
| | Pré | Pós | Pré | Pós |
| MC (Kg) | 90,8 \pm 12,7 | 90,9 \pm 13,6 | 79,9 \pm 4,4* | 80,3 \pm 5,4* |
| IMC (Kg/m²) | 28,8 \pm 4,9 | 28,9 \pm 5,2 | 26,6 \pm 1,7 | 26,7 \pm 2,0 |
| MCM (Kg) | 66,6 \pm 8,3 | 67,0 \pm 8,2 | 60,0 \pm 2,8* | 61,6 \pm 4,6* |
| MCG (Kg) | 24,1 \pm 5,5 | 23,9 \pm 6,8 | 19,9 \pm 3,3 | 18,7 \pm 2,9** |
| GR (%) | 26,3 \pm 3,5 | 25,9 \pm 4,9 | 24,0 \pm 3,3 | 23,2 \pm 3,1* |
| CA (cm) | 103,8 \pm 10,7 | 103,6 \pm 11,1 | 94,3 \pm 4,0* | 92,4 \pm 4,1** |

Pré – Pré-intervenção, Pós – Pós-intervenção; MC – Massa Corporal, IMC – Índice de Massa Corporal, MCM – Massa Corporal Magra, MCG – Massa Corporal Gorda, GR – Gordura Relativa, CA – Circunferência Abdominal;

ANOVA de medidas repetidas:

*Indica diferença em relação aos momentos intergrupos ($P < 0,05$);

**Indica diferença em relação aos momentos intragrupos ($P < 0,05$).

O aumento da massa corporal pode ser causado por diversos fatores, como dieta e atividade física. Quando há ingestão calórica demasiada e/ou baixo nível de atividade física habitual (MONIKA; GEETHA, 2015), ocorre desequilíbrio do balanço energético, que resulta em acúmulo de gordura no tecido adiposo (SABA et al., 2015), encontrado na forma de gordura subcutânea e visceral (MONIKA; GEETHA, 2015). Esse excesso de gordura no tecido adiposo favorece o aumento de triglicerídeos, colesterol e C-LDL, levando à condição de hiperlipidemia (SABA et al., 2015).

A associação da medida da circunferência abdominal com o IMC pode oferecer uma forma combinada de avaliação de risco e ajudar a diminuir as limitações de cada uma das avaliações isoladas. (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA, 2016; MOLARIUS et al., 1999). A medição da espessura das dobras cutâneas é utilizada como indicador de obesidade, pois há relação entre a gordura localizada nos depósitos debaixo da pele

e a gordura interna ou a densidade corporal (PETERSON; CZERWINSKI; SIERVOGEL, 2003).

Na análise dos dados da circunferência abdominal, houve diferença intergrupos em ambos os momentos, com o grupo placebo apresentando valores maiores, e intragrupo no grupo tratamento, ocorrendo, portanto, redução nesse grupo. É importante destacar que, de acordo com a Federação Internacional de Diabetes, a medida da circunferência abdominal igual ou superior a 90 cm para homens (sul-americanos: usa-se a referência dos sul-asiáticos) relaciona-se a risco cardiovascular aumentado (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA, 2016). Para a MCG, observou-se diferença intergrupos no momento pós-intervenção, no qual o grupo tratamento apresentou menor circunferência abdominal, e intragrupo no grupo tratamento, indicando, assim, uma redução da medida nesse grupo. Em relação à MCM, no momento pré-intervenção, verificou-se diferença entre os grupos, com o placebo apresentando maior valor. Após o período de intervenção com o ingrediente em pó, verificou-se um aumento no grupo tratamento. Além da circunferência abdominal, MCG e MCM, outro indicador antropométrico que apresentou resultado positivo foi o percentual de gordura relativa, com redução no grupo tratamento após o período de intervenção.

Sabe-se que o excesso de gordura corporal é considerado no mundo todo um problema de saúde pública. Já foi comprovado, cientificamente, que o alto teor de aminoácidos essenciais das proteínas do soro de leite afeta os processos metabólicos da regulação energética, de forma a favorecer o controle e a redução da gordura corporal (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012).

3.6 Efeitos da suplementação sobre o perfil lipídico e níveis séricos de IgA

O C-LDL leva o colesterol até os tecidos que precisam e o C-HDL remove o colesterol em excesso dos tecidos periféricos, transportando-o de volta ao fígado e é o principal responsável por manter a homeostase plasmática. Dessa forma, o LDL é considerado “colesterol ruim”, enquanto o HDL é chamado de “colesterol bom” (WALKER, 1994). A apolipoproteína B100 (apoB) é um indicador superior de risco cardiovascular em relação ao colesterol total ou C-LDL. O C-NHDL representa um

substituto simples para a apoB; apoB e C-NHDL mostram alta correlação (HERMANS et al., 2011).

A Tabela 7 apresenta a análise dos resultados obtidos para o perfil lipídico e níveis séricos de IgA. Não houve diferenças intra e intergrupos para os níveis de triglicérides, sendo que o mesmo ocorreu com o C-HDL. Em relação aos níveis de colesterol total e C-NHDL, não foram observadas diferenças intragrupos em ambos os momentos e nem diferença intergrupos no momento pós-intervenção. Somente no momento pré-intervenção, detectou-se diferença entre os grupos. Em ambos os casos, o valor inicial era maior no grupo tratamento. Verificou-se que, no grupo placebo, houve uma tendência de aumento desses parâmetros, enquanto, no grupo tratamento, os valores tenderam à redução. No caso do C-LDL, não se observaram diferenças intragrupos em ambos os grupos, porém houve diferenças entre os grupos tanto no momento pré, como no pós-intervenção. Embora, em ambos os momentos, o grupo tratamento tenha apresentado valores de C-LDL maiores, eles tenderam à redução, enquanto os valores do grupo placebo mostraram uma tendência de elevação.

Tabela 7 – Análise dos resultados obtidos (média ± desvio-padrão) para o perfil lipídico e níveis séricos de IgA

| | Grupo Placebo (n = 10) | | Grupo Tratamento (n = 10) | |
|---------------|---------------------------|--------------|------------------------------|---------------|
| | Pré | Pós | Pré | Pós |
| Tgl | 156,5 ± 68,7 | 160,8 ± 87,3 | 146,0 ± 90,5 | 144,6 ± 79,6 |
| CT | 181,8 ± 29,2 | 184,9 ± 29,6 | 220,5 ± 33,4* | 209,5 ± 31,6 |
| C-HDL | 42,5 ± 10,1 | 42,5 ± 12,1 | 45,4 ± 7,3 | 43,8 ± 4,4 |
| C-LDL | 108,0 ± 21,0 | 110,3 ± 23,3 | 146,0 ± 33,3* | 136,7 ± 24,8* |
| C-NHDL | 139,3 ± 25,4 | 142,4 ± 27,5 | 175,1 ± 36,3* | 165,7 ± 33,7 |
| IgA | 238,4 ± 70,2 | 232,0 ± 69,7 | 203,4 ± 82,8 | 190,8 ± 76,5* |

Pré – Pré-intervenção, Pós – Pós-intervenção; Tgl – Triglicerídeos, CT – Colesterol Total, C-HDL – Colesterol HDL, C-LDL – Colesterol LDL, C-NHDL – Colesterol Não-HDL, IgA – Imunoglobulina A; valores expressos em mg/dL;

ANOVA de medidas repetidas ($P < 0,05$):

*Indica diferença em relação aos momentos intergrupos;

♦Indica diferença em relação aos momentos intragrupos.

Os ingredientes funcionais que são benéficos à saúde vascular podem representar compostos úteis capazes de reduzir o risco cardiovascular global provocado pela dislipidemia (SCICCHITANO et al., 2014). Em um estudo duplo-cego, pacientes portadores de diabetes do tipo 2 não submetidos à insulino-terapia, mas em tratamento com medicação oral ou dieta, receberam 3 g de canela diariamente por 4 meses. Um efeito moderado sobre a glicemia de jejum foi observado. No entanto, o mesmo não ocorreu com a hemoglobina glicada (HbA1c) e níveis séricos de lipídeos (MANG et al., 2006).

Kahn et al. (2003) demonstraram que três diferentes doses de canela, 1, 3 e 6 g diárias, foram igualmente eficazes na redução da glicemia de jejum e níveis de colesterol total, C-LDL e triglicerídeos em indivíduos com diabetes do tipo 2. No entanto, Blevins et al. (2007), em estudo semelhante, relataram que, na dose de 1 g diário por 3 meses, a canela não produziu alterações significativas na glicemia de jejum, lipídeos, HbA1c ou níveis de insulina de sujeitos diabéticos. Os autores sugeriram que os efeitos da canela diferem na população e que estudos poderiam ser

conduzidos para se determinar como variáveis específicas (dieta, etnia, IMC, glicemia, dose de canela e medicação concomitante) afetariam essas respostas.

Baum et al. (2007), em um estudo duplo-cego, placebo-controlado com idosos, verificaram que o consumo de curcumina não alterou as concentrações de colesterol e triglicerídeos no sangue. Os autores explicam que a pesquisa contou com uma amostra pequena, o que pode reduzir o poder de detecção de pequenas diferenças em razão do tratamento. Sahebkar (2013) corroborou esses achados, por meio de uma meta-análise, onde relatou que a suplementação com curcumina não mostrou efeito sobre os níveis séricos de colesterol total, C-LDL, triglicerídeos e C-HDL. O autor propôs que novos ensaios clínicos randomizados com maior duração da suplementação e formulações que apresentem melhor biodisponibilidade da curcumina devam ser conduzidos em indivíduos dislipidêmicos para uma avaliação mais robusta das propriedades de modulação lipídica desse fitoquímico.

Em relação ao consumo de *Bifidobacterium lactis* HN019, dados de um estudo recente, conduzido com indivíduos portadores de síndrome metabólica, mostraram potenciais efeitos do consumo regular de *B. lactis* HN019 na redução da obesidade, dos níveis de lipídeos no sangue e de alguns marcadores da inflamação, o que pode reduzir o risco cardiovascular nesses pacientes (BERNINI et al., 2016).

Para os níveis de IgA, não foram observadas diferenças intergrupos em ambos os momentos. Porém, foi detectada diferença no grupo tratamento entre os dois momentos. A ocorrência de redução dos anticorpos IgA após o período de intervenção pode significar uma provável ação imunomoduladora.

A manoproteína, um dos componentes do ingrediente em pó, mostrou-se eficiente na estimulação do sistema imune humoral, com a produção de anticorpos totais e IgG após o segundo desafio com hemácia de carneiro, em estudo conduzido por Darpossolo (2010) com camundongos.

Gill, Rutherford e Pramond (2001) verificaram, em seu estudo, que *B. lactis* HN019 poderia ser um probiótico efetivo na suplementação da dieta por melhorar alguns aspectos da imunidade celular em sujeitos idosos. De acordo com o estudo de Liu et al. (2010), *B. lactis* HN019 seria capaz de modular o sistema imunológico por meio de ação anti-inflamatória, como no estudo de Bernini et al. (2016), que observaram redução dos níveis das citocinas TNF- α e IL-6 em pacientes com síndrome metabólica tratados com *B. lactis* HN019. O poder imunomodulador das

proteínas do soro é uma importante propriedade funcional desse ingrediente, de acordo com Haraguchi, Abreu e Paula (2006).

Segundo Koh et al. (1998), em *C. cassia*, o efeito de imunomodulação pode ser em razão de seu conteúdo de 2'-hidroxicinamaldeído e 2'-benzoxicinamaldeído. As propriedades imunomoduladoras da curcumina são, na maioria das vezes, imunossupressoras, apesar de, em alguns casos, efeitos imunoestimulatórios terem sido reportados. Em razão de sua potente atividade antineoplásica, anti-inflamatória e de imunoativação, o estudo dos mecanismos de ação da curcumina é bastante intrigante (SRIVASTAVA et al., 2011). O potencial efeito imunossupressor de componentes do ingrediente em pó poderia explicar a queda nos níveis de IgA do grupo tratamento.

Deve-se ressaltar, no entanto, que embora tenha ocorrido a redução dos níveis de IgA do grupo tratamento, os valores no momento pós-intervenção, bem como no pré-intervenção, assim como os valores do grupo placebo, em ambos os momentos, encontram-se dentro dos valores de referência. Portanto, biologicamente, essa redução pode não ser considerada significativa.

4 Conclusão

O presente estudo demonstrou que a suplementação da dieta com o ingrediente em pó (dose diária: 1,2 g de cúrcuma, 1 g de canela, 0,1 g de manoproteína e 1 g de proteína isolada de soro de leite com *B. lactis*) durante 40 dias foi capaz de aumentar a MCM, reduzir a MCG, a gordura relativa e a circunferência abdominal, além de afetar, positivamente, o perfil lipídico, reduzindo o colesterol total, o C-LDL e o C-NHDL em indivíduos adultos. Verificou-se, ainda, que o ingrediente provocou a queda dos níveis de IgA no sangue, o que pode ser uma possível ação imunossupressora ou de modulação do sistema imune. No entanto, o uso de uma amostra reduzida e por conveniência limita a extrapolação dos dados para a população em geral e, assim, novos estudos são necessários para se estabelecer o ingrediente testado como um produto com propriedades funcionais.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 4. ed. São Paulo: ABESO, 2016.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19th ed. Virginia: AOAC International, 2012.

BADARÓ et al. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana. – Parte 1. **Nutrir Gerais. Revista Digital de Nutrição**, v. 2, n. 3, p. 1-19, 2008. Disponível em: <http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/volume3/artigo_5_rng_alimentos_probioticos.pdf>. Acesso em: 04 jul. 2013.

BAUM, L. et al. Curcumin effects on blood lipid profile in a 6-month human study. **Pharmacol Res**, v. 56, p. 509-514, 2007.

BERNINI et al. Beneficial effects of *Bifidobacterium lactis* on lipid profile and cytokines in patients with metabolic syndrome: a randomized trial. Effects of probiotics on metabolic syndrome. **Nutrition**, v. 32, p. 716-719, 2016.

BLEVINS, S. M. et al. Effect of cinnamon on glucose and lipid levels in non-insulin-dependent type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 30, n. 9, p. 2236-2237, 2007.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos especificados no Anexo I e determina os critérios para a conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano especificados no Anexo II. **Diário Oficial da União, Brasília**, D.F., 10 de jan. 2001.

BRASIL. Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial da União, Brasília**, D.F., 9 jan. 2002.

BRASIL. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais, constante do Anexo desta Resolução. **Diário Oficial da União, Brasília**, D.F., 23 de setembro de 2005.

CHAMPAGNE, C. et al. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **Int J Food Microbiol**, v. 149, p. 185-193, 2011.

CHEN, Z.; JIAO, R.; MA, K. Y. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods. **J Agric Food Chem**, v. 56, p. 8761-8773, 2008.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e resposta imune. **Cienc Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

COSTA, A. G. **Determinação das melhores condições de extração de manoproteínas da parede celular de leveduras e sua aplicação**. 2008. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Londrina, Brasil, 2008.

DARPOSSOLO, F. P. B. **Extração e caracterização da manoproteína de parede celular de *Saccharomyces uvarum*: efeito da modulação da resposta imune em camundongos**. 2010. 103 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Londrina, Brasil, 2010.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal Chem**, v. 28, p. 350-356, 1956.

FREIMUND et al. A new non-degrading isolation process for 1,3- β -D-glucan purity from baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Carbohydr Polym**, v. 54, p. 159-171, 2003.

FRISANCHO, A. R. **Anthropometric standards of the assessment of growth and nutritional status**. Ann Arbor, Michigan: University of Michigan Press, 1990.

GILL, H. S.; RUTHERFURD, M. L. C.; PRAMOND, K. G. Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. **Am J Clin Nutr**, v. 74, p. 833-839, 2001.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. de. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Rev Nutr**, v. 19, n. 4, p. 44-51, 2006.

HASANI-RANJBAR et al. A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity. **World J Gastroenterol**, v. 15, n. 25, p. 3073-3085, 2009.

HERMANS, M. P. et al. Non-HDL-cholesterol as valid surrogate to apolipoprotein B100 measurement in diabetes: discriminant ratio and unbiased equivalence. **Cardiovasc Diabetol**, v. 10, n. 20, 2011.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutr**, v. 40, p. 497-504, 1978.

JAGETIA, G. C.; AGGARWAL, B. B. "Spicing up" the immune system by curcumin. **J Clin Immunol**, v. 27, n. 1, p. 19-35, 2007.

GUDDADARANG, A. A. K. et al. Improved HPLC method for the determination of curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin. **J Agric Food Chem**, v. 50, p. 3668-3672, 2002.

KAHN, A. et al. Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 26, n. 12, p. 3215-3218, 2003.

KOH, W. S. et al. Cinnamaldehyde inhibits lymphocyte proliferation and modulates T-cell differentiation. **Int J Immunopharmacol**, v. 20, n. 11, p.643-660, 1998.

LIU, C. et al. Adhesion and immunomodulatory effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 on intestinal epithelial cells INT-407. **World J Gastroenterol**, v. 16, n. 18, p. 2283-2290, 2010.

LOWRY et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MANG, B. et al. Effects of a cinnamon extract on plasma glucose, HbA1c, and serum lipids in *diabetes mellitus* type 2. **Eur J Clin Invest**, v. 36. p. 340-344, 2006.

MOLARIUS et al. Varying sensitivity of waist action levels to identify subjects with overweight or obesity in 19 populations of the WHO MONICA Project. **J Clin Epidemiol**, v. 52, p. 1213-1224, 1999.

MONIKA, P.; GEETHA, A. The modulating effect of *Persea americana* fruit extract on the level of expression of fatty acid synthase complex, lipoprotein lipase, fibroblast growth factor-21 and leptin – A biochemical study in rats subjected to experimental hyperlipidemia and obesity. **Phytomedicine**, v. 22, p. 939-945, 2015.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Soro de leite: um subproduto valioso. **Rev Inst Latic “Cândido Tostes”**, v. 67, n. 385, p. 64-71, 2012.

OLIVEIRA, M. C. et al. Effect of mannanoligosaccharides and/or enzymes on antibody titers against infectious bursal and Newcastle disease viruses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 6-11, 2009.

PATE, R. R. et al. Physical activity and public health: a recommendation from Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. **JAMA**, v. 273, n. 5, p. 402-407, 1995.

PATEL, S. Emerging trends in nutraceutical applications of whey protein and its derivatives. **J Food Sci Technol**, v. 52, n. 11, p. 6847-6858, 2015.

PETERSON, M. J.; CZERWINSKI, S. A.; SIERVOGEL, R. M. Development and validation of skinfold-thickness prediction equations with a 4-compartment model. **Am J Clin Nutr**, v. 77, n. 11, p. 1186-1191, 2003.

PHILIPPI, SONIA TUCUNDUVA. **Tabela de composição de alimentos**. 5. ed. São Paulo: Manole, 2016.

SABA, E. et al. Black ginseng extract ameliorates hypercholesterolemia in rats. **J Ginseng Res**, p. 1-9, 2015.

SAHEBKAR, A. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials investigating the effects of curcumin on blood lipid levels. **Clin Nutr**, p. 1-9, 2013.

SAHEBKAR, A. et al. Lipid-modifying effects of nutraceuticals: an evidence-based approach. **Nutrition**, v. 32, p. 1179-1192, 2016.

SANDERS, M. E. Summary of probiotic activities of *Bifidobacterium lactis* HN019. **J Clin Gastroenterol**, v. 40, p. 776-783, 2006.

SANTINI, A.; NOVELLINO, E. Nutraceuticals in hypercholesterolemia: an overview. **Br J Pharmacol**, 2016.

SCARINGI et al. Cell wall components of *Candida albicans* as immunomodulators: induction of natural killer and macrophage-mediated peritoneal cell cytotoxicity in mice by mannoprotein and glucan fractions. **J Gen Microbiol**, v. 134, p. 1265-1274, 1988.

SCICCHITANO, P. et al. Nutraceuticals and dyslipidaemia: Beyond the common therapeutics. **J Funct Foods**, v. 6, p. 11-32, 2014.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Revisão: alimentos funcionais fisiológicos. **Braz J Food Technol**, v. 2, n. 1, p. 7-19, 1999.

SHULZ, K. F.; ALTMAN, D. G; MOHER, D. and the CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. **Int J Surg**, London, v. 10, n. 1, p. 28-55, 2012.

SOUSA, G. T. D. et al. Dietary whey protein lessens several risk factors for metabolic diseases: A review. **Lipids Health Dis**, v. 11, p. 67, 2012.

SRIVASTAVA, R. M. et al. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. **Int Immunopharmacol**, v. 11, p. 331-341, 2011.

THE PLANT LIST (2017). Version 1.1. Published on the Internet. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em: 24 fev. 2014.

TZIANABOS, A. O. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. **Clin Microbiol Rev**, v.13, n. 4, p. 523-533, 2000.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**. 4. ed. Campinas: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA-UNICAMP, 2011.

WALKER, R. Hyperlipidemia. In: WALTER, R.; EDWARDS, C. (Eds.). **Clinical Pharmacy and Therapeutics**. Nova Iorque: Churchill Livingstone, 1994. p. 309-325.

ZABOTTO, C. B.; VIANA, R. P. T.; GIL, M. F. **Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas/Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 1996.

CONCLUSÃO GERAL

No estudo com animais, na avaliação dos efeitos da suplementação da dieta de ratos Wistar, com 50, 12,5 e 50 mg/dia, respectivamente, das amostras de cúrcuma, quiabo e canela em pó, não foram observadas alterações nos parâmetros avaliados (massa corporal, glicemia, colesterol total, triglicerídeos, AST e ALT), exceto nos níveis séricos de IgA, que aumentaram nos grupos de animais tratados com cúrcuma e canela.

Os resultados obtidos no estudo com animais direcionaram o uso de cúrcuma e canela, que demonstraram aumento dos níveis de IgA, para o estudo com seres humanos. Dessa forma, o ingrediente em pó elaborado para esse estudo foi composto, além de cúrcuma e canela, por manoproteína, com base no estudo de Darpossolo (2010), que apontou efeitos positivos do componente sobre o sistema imune, e *B. lactis* HN019, com base no estudo de Bernini et al. (2016), que observaram redução da obesidade, dos níveis de lipídeos no sangue e de alguns marcadores da inflamação em indivíduos com síndrome metabólica tratados com esse probiótico.

No estudo com humanos, a suplementação da dieta com o ingrediente em pó (dose diária: 1,2 g de cúrcuma, 1 g de canela, 0,1 g de manoproteína e 1 g da proteína isolada de soro de leite com *B. lactis*) durante 40 dias foi capaz de aumentar a MCM, reduzir a MCG, a gordura relativa e a circunferência abdominal, além de promover alterações benéficas no perfil lipídico, sobre o colesterol total, C-LDL e C-NHDL. Verificou-se, ainda, que o ingrediente provocou a queda dos níveis séricos de IgA, o que pode indicar modulação do sistema imune.

Estudos futuros, com amostras maiores, são necessários para se propor a extrapolação dos dados. Períodos de suplementação mais longos, diferentes doses dos componentes, bem como testes separados com cada um deles, também são sugestões para novas pesquisas que busquem o desenvolvimento de produtos com propriedades funcionais.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

“Avaliação dos efeitos da suplementação da dieta com ingrediente alimentar em pó à base de cúrcuma, canela, manoproteína e proteína isolada de soro de leite com *Bifidobacterium lactis* HN019 sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis séricos de IgA de homens adultos”

Prezado Senhor,

Gostaríamos de convidá-lo para participar da pesquisa “AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA COM INGREDIENTE ALIMENTAR EM PÓ À BASE DE CÚRCUMA, CANELA, MANOPROTEÍNA E PROTEÍNA ISOLADA DE SORO DE LEITE COM *Bifidobacterium lactis* HN019 SOBRE INDICADORES ANTROPOMÉTRICOS, PERFIL LIPÍDICO E NÍVEIS SÉRICOS DE IgA DE HOMENS ADULTOS”, a ser realizada no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL). O objetivo da pesquisa é verificar os efeitos da suplementação da dieta com ingrediente em pó contendo cúrcuma (açafraão-da-terra), canela, moléculas imunomoduladoras da parede celular de leveduras e proteína isolada de soro de leite com cultura probiótica sobre indicadores antropométricos, perfil lipídico e níveis de anticorpos no sangue de indivíduos adultos. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: identificação, suplementação da dieta com cápsulas contendo o ingrediente em pó e avaliação do participante, incluindo avaliação da dieta, exercícios físicos (por meio de questionários) e indicadores antropométricos (peso, altura, dobras cutâneas e circunferência abdominal), além de coletas para exames de sangue. O ingrediente possui em sua formulação: cúrcuma, canela, moléculas imunomoduladoras da parede celular de leveduras (manoproteína), obtidas a partir de *Saccharomyces cerevisiae* (fermento de padaria) e proteína isolada de soro de leite adicionada de cultura probiótica (*Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* HN019), que possui efeitos benéficos ao organismo humano, os quais foram comprovados por meio da realização de ensaios com seres humanos. O preparado foi desenvolvido e armazenado nos laboratórios do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da UEL, de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos. Foram realizadas análises microbiológicas dos produtos para contagem das populações da cultura probiótica (*Bifidobacterium lactis* HN019) e de contaminantes (coliformes totais e *E. coli* e *Salmonella* spp.), conforme determinado pela legislação.

Para participação no estudo, você deve ser do sexo masculino, ter de 25-45 anos de idade, circunferência da cintura acima de 90 cm, não ser etilista nem tabagista, não ser praticante de atividade física regular, não ser consumidor regular de canela, cúrcuma e produtos probióticos, não possuir nenhum tipo de manifestação de alergia ou intolerância aos componentes ou outro tipo de restrição (doença crônica, uso de medicamentos, gripe, resfriado ou indisposição). Caso apresente alguma alteração em seu estado de saúde durante o período do estudo, você deve entrar em contato imediato com a pesquisadora responsável e relatar o fato.

Você deverá ingerir uma dose diária de 6 cápsulas. O período de suplementação será de 40 dias. Você não deverá alterar nenhum de seus hábitos, como dieta e atividade física durante sua participação na pesquisa. Antes e após o período de estudo, você será avaliado quanto à sua dieta e atividade física, peso, dobras cutâneas e circunferência abdominal (local: Hospital de Clínicas da UEL – HC/UEL), e realizará coleta de amostras de sangue (em jejum prévio de 12 horas) para as análises: triglicerídeos, colesterol total e frações (HDL e LDL) e anticorpos (IgA) (coleta e exames serão realizados no laboratório CLINILAB – Londrina, PR). Para tanto, você deverá comparecer aos locais programados, nas datas estipuladas, seguindo as orientações dadas. As cápsulas serão preparadas e embaladas na Farmácia de Manipulação e Homeopatia Doce Erva – Apucarana, PR. Nesta pesquisa, será utilizado um grupo placebo para controle do estudo. Isso significa que você poderá receber o ingrediente em pó ou o placebo (amido de milho).

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo você recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isso acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas

somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Esclarecemos, ainda, que você não pagará e nem será remunerado por sua participação. Garantimos que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação. O seu transporte aos locais programados será ressarcido a partir do valor do passe de transporte público, de acordo com os deslocamentos necessários.

O benefício esperado é contribuir para o desenvolvimento de um novo produto, com propriedades probióticas, de modulação do sistema imunológico e controle de indicadores antropométricos e parâmetros bioquímicos (perfil lipídico), uma vez que é constituído de ingredientes que auxiliam na manutenção da saúde humana, prevenindo o aparecimento de algumas doenças. Quanto aos riscos, são mínimos associados à ingestão das cápsulas contendo o ingrediente em pó/placebo do presente projeto de pesquisa, por ser constituído de ingredientes seguros, utilizados em produtos disponíveis para consumo humano, ou seja, de grau alimentício, e preparados sob condições adequadas. Em relação à coleta dos materiais biológicos: o sangue será coletado em laboratório regulamentado, conforme normas vigentes, sendo, portanto, os riscos descritos e controlados. Caso ocorra algum tipo de desconforto, físico, psíquico, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual, em qualquer etapa da pesquisa, o participante será prontamente atendido e amparado pela pesquisadora, podendo ser dispensado dos testes a qualquer momento. Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (Prof. Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez (orientador da pesquisa), DCTA/CCA/UEL, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, Km 380, Campus Universitário – CEP 86057-970 – Londrina - PR, (43) 3371-4585, (43) 99112-9954, e-mail: rcastrog@yahoo.com/Flávia Imanishi Ruzon (pesquisadora responsável), (43) 99605-1772, e-mail: flaviaruzon@yahoo.com.br) ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEL, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, (43) 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue a você.

Londrina, 10 de novembro de 2016.

Pesquisadora Responsável
RG: 87062112

tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão datiloscópica): _____

Data: ____/____/____

APÊNDICE B**Recordatório de 24 horas**

ANEXOS**ANEXO A**

**Parecer consubstanciado de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no
Uso de Animais da UEL**



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 117/2014

Londrina, 25 de Agosto de 2014.

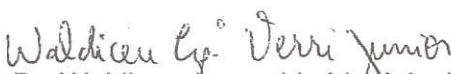
Prezado Pesquisador,

A CEUA/UEL reunida em 05 de Agosto de 2014 avaliou o projeto de pesquisa intitulado “**Produção e caracterização de preparado de bebida em pó destinado a idosos utilizando moléculas imunomoduladoras de parede celular de leveduras.**”, registrado sob processo **CEUA nº 8185.2014.18**, pesquisa do Centro de Ciências Agrárias, desenvolvido sob sua responsabilidade, foi julgado **aprovado** para execução entendendo-se que os princípios éticos postulados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, estão respeitados.

Serão utilizados 276 ratos machos Wistar (*Ratus norvegicus*) com idade de 168 dias, pesando aproximadamente 350 g, provenientes do Biotério Central do CCB-UEL. O projeto tem como objetivo desenvolver um preparo de bebida em pó, sensorialmente aceitável, visando à adequação às necessidades nutricionais de consumidores idosos, por meio da adição de moléculas extraídas de parede celular de leveduras com propriedades imunomoduladoras, probióticas e outros nutrientes complementares. Os animais serão alojados no Biotério do Departamento de Ciências Patológicas e mantidos por 7 dias no laboratório antes de iniciar os experimentos. Durante todo o período experimental, os animais serão tratados com água e ração à vontade. Após o período de aclimatação, os animais serão tratados diariamente, durante 14 dias, por gavagem, com o componente a ser testado. No 14º dia do experimento, amostras de fezes serão obtidas de cada animal. Ao final do experimento, os animais serão dissecados para obtenção dos órgãos e tecidos internos (intestino, fígado, baço, timo, rim, linfonodo mesentérico, gordura abdominal e glândula adrenal). Todos os órgãos e tecidos serão pesados para determinação do peso relativo. Os protocolos experimentais estão aprovados para execução em 12 meses.

Cumprе orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo de pesquisa aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessária. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente,


Prof. Dr. Waldiceu Aparecido Verrri Junior
Coordenador da CEUA/UEL

Ilmo. Sr.

Prof. Dr. Raúl Jorge Hernanes Castro-Gómes

Coordenador do Projeto

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Centro de Ciências Agrárias

Com cópia para Sra Égle Maria de Sousa (Chefe da DCA/PROPPG), Diretor(a) do Centro de Ciências Agrárias e Prof. Luiz Carlos Juliani Diretor do Biotério Central do CCB - UEL



Universidade
Estadual de Londrina

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 207/2015

Londrina, 08 de Outubro de 2015.

Prezado Pesquisador,

A CEUA/UEL, reunida em 22 de Setembro de 2015, avaliou a justificativa de alteração no número de animais referente ao projeto intitulado "**Produção e caracterização de preparado de bebida em pó destinado a idosos utilizando moléculas imunomoduladoras de parede celular de leveduras**", processos CEUA nº 8185.2014.18; 12849.2014.32 e 15442.2015.74, aprovados sob OF.CIRC.CEUA 117/2014, desenvolvido sob sua responsabilidade, a justificativa foi **aprovada** entendendo-se que os princípios éticos postulados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal estão respeitados.

A justificativa apresentada foi que a princípio o experimento seria realizado em duas etapas, entretanto optou-se pelo emprego da concentração máxima possível para a diluição dos componentes a serem testados no veículo de administração. Dessa forma, o experimento passou a compreender apenas uma etapa: determinação do efeito dos componentes do produto sobre parâmetros bioquímicos e imunológicos de ratos. Portanto, o número de animais aprovados para o projeto é de 48 ao invés de 276 ratos.

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente,

Waldiceu Ap. Verrri Junior
Prof. Dr. Waldiceu Aparecido Verrri Junior
Coordenador da CEUA/UEL

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. Raul Jorge Hernan Castro Gomez
Coordenador do Projeto
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Centro de Ciências Agrárias

ANEXO B

Processo de aleatorização da amostra: geração dos números por tabela de números aleatórios (www.random.org)

The screenshot shows a web browser window with the URL <https://www.random.org/sequences/?min=1&max=20&col=1&format=html&rnd=new>. The page features a navigation menu with links for Home, Games, Numbers, Lists & More, Drawings, Web Tools, Statistics, Testimonials, Learn More, and Login. The main heading is "RANDOM.ORG" in large, bold, black letters, with the tagline "True Random Number Service" below it. A search bar with the text "Search RANDOM.ORG" and a "Search" button is positioned to the right. A green banner below the search bar reads "Do you own an iOS or Android device? Check out our app!". The main content area is titled "Random Sequence Generator" and displays the text "Here is your sequence:" followed by a vertical list of 20 random integers: 5, 9, 19, 6, 15, 4, 18, 2, 17, 8, 13, 20, 7, 12, 1, 16, 3, 11, 14, and 10. At the bottom of the page, the timestamp "Timestamp: 2016-11-10 10:20:31 UTC" is visible, along with "Apple" and "Get" buttons.

ANEXO C

**Parecer consubstanciado de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEL**



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Ser(es) Hum(ã)no(s)

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de preparado em pó contendo moléculas imunomoduladoras de parede celular de leveduras, cúrcuma, canela e isolado proteico de soro de leite adicionado de cultura probiótica e seus efeitos sobre massa corporal, perfil lipídico e nível de anticorpos de indivíduos adultos.

Pesquisador: FLAVIA IMANISHI RUZON

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 60210316.0.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.792.782

Apresentação do Projeto:

O documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_760971.pdf" em seu item "Desenho" diz: A pesquisa constitui-se em um estudo clínico aleatorizado e duplo-cego sobre os efeitos da suplementação da dieta com preparado em pó contendo moléculas imunomoduladoras de parede celular de leveduras, cúrcuma, canela e isolado proteico de soro de leite adicionado de cultura probiótica sobre massa corporal, perfil lipídico e nível de anticorpos de indivíduos adultos. A amostra será aleatorizada seguindo criteriosamente as recomendações propostas pela Colaboração Cochrane. O processo de aleatorização será composto por duas etapas, sendo a primeira delas a geração dos números por tabela de números aleatórios (www.random.org) e a segunda etapa, pela a ocultação da alocação, utilizando envelopes opacos e selados. Para garantir o mascaramento do pesquisador principal, outros dois avaliadores independentes conduzirão a aleatorização e o processamento dos resultados, da coleta à planilha de dados. Participarão do estudo 20 indivíduos adultos jovens (25-35 anos) da comunidade (UEL e/ou externa) do sexo masculino, não etilistas, não tabagistas, com IMC entre normal e sobrepeso, circunferência da cintura acima de 100 cm, não praticantes de atividade física regular, que não sejam consumidores regulares de condimentos (canela, açafraão/cúrcuma) e produtos probióticos, sem nenhum tipo de

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Seres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 1.792.782

manifestação de alergia ou intolerância aos ingredientes ou outro tipo de restrição (doença crônica, uso de medicamentos, gripe, resfriado ou indisposição). O preparado possui em sua formulação: canela, cúrcuma, moléculas imunomoduladoras de parede celular de leveduras (manoproteína), obtidas a partir de *Saccharomyces cerevisiae*, e isolado proteico de soro de leite adicionado de cultura probiótica (*Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* HN019). Esses ingredientes, todos em pó, são de grau alimentício. O preparado foi desenvolvido e armazenado nos laboratórios do Programa de Pós- Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos. Foram realizadas análises microbiológicas dos produtos para contagem das populações da cultura probiótica (*Bifidobacterium lactis* HN019) e contaminantes (coliformes totais e *E. coli* e *Salmonella* spp.), conforme determinado pela legislação. A dose diária será de 3,3 g (1 g de canela, 1,2 g de cúrcuma, 0,1 g de manoproteína e 1 g de isolado proteico de soro de leite adicionado de cultura probiótica), preparada em 6 cápsulas, que deverão ser ingeridas com água à temperatura ambiente, em 3 momentos (duas cápsulas por vez; após o café da manhã, após o almoço e após o jantar). O período de estudo será de 40 dias. Os participantes da pesquisa serão instruídos quanto ao protocolo do estudo e deverão responder a um questionário. Antes e após o período de suplementação, a cada participante será aplicado o questionário IPAQ versão curta para verificação do nível de atividade física habitual e um inquérito de frequência alimentar e um recordatório de 24 horas para indicadores nutricionais. Além disso, cada indivíduo será pesado e medido (estatura e circunferência abdominal) e coletará amostras de sangue para realização de análises: triglicerídeos e colesterol total e frações (HDL e LDL) e anticorpos (IgA). Para a coleta de sangue, o indivíduo deverá fazer um jejum prévio de 12 horas. Será solicitado aos participantes que não mudem nem hábito dietético nem de prática de atividades físicas. Os exames de sangue serão realizados no laboratório Clinilab (Londrina, PR). As cápsulas serão preparadas e embaladas na Farmácia de Manipulação e Homeopatia Doce Erva (Apucarana, PR). Não haverá remuneração financeira para os participantes do estudo. Todas as despesas do estudo ficarão a cargo do pesquisador responsável. O participante deverá apenas comparecer aos locais programados. O participante poderá desistir de participar da análise a qualquer momento, sem nenhum ônus. Todas as informações pessoais serão sigilosas, garantindo a privacidade dos participantes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Verificar se a suplementação da dieta com preparado em pó contendo moléculas

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Telefone: (43)3371-5455

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 1.792.782

imunomoduladoras de parede celular de leveduras, cúrcuma, canela e isolado proteico de soro de leite adicionado de cultura probiótica apresenta efeitos positivos sobre massa corporal, perfil lipídico e nível de anticorpos de indivíduos adultos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos são mínimos associados à ingestão do preparado em pó, bem como do placebo, do presente projeto de pesquisa, por serem constituídos de ingredientes seguros, utilizados em produtos disponíveis para consumo humano, ou seja, de grau alimentício. Em relação à coleta dos materiais biológicos: o sangue será coletado em laboratório regulamentado, conforme normas vigentes, sendo, portanto, os riscos descritos e controlados.

Benefícios:

Participação em pesquisa de desenvolvimento de um novo produto, com propriedades probióticas, proteicas, de modulação do sistema imunológico e controle de peso e parâmetros bioquímicos (triglicerídeos e colesterol), uma vez que é constituído de ingredientes que auxiliam na manutenção da saúde humana, prevenindo o perigo do aparecimento de algumas doenças. Verificação de alguns parâmetros relacionados à saúde (massa corporal, perfil lipídico, nível de anticorpos) e possibilidade de melhorá-los com o uso do preparado em estudo, caso sejam confirmados os efeitos esperados, mesmo que parcialmente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Este CEP entende, ressalta a importância da pesquisa e considera não haver pendências éticas e documentais à realização da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1. Apresenta folha de rosto devidamente preenchida e assinada pela coordenadora do programa de pós-graduação.
2. Apresenta TCLE apresentando os aspectos gerais da pesquisa e descrevendo suas atividades.
3. Apresenta Cronograma compatível com a realização da pesquisa.
4. Apresenta orçamento financeiro com previsão de financiamento próprio.
5. Apresenta instrumentos de entrevista.

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Telefone: (43)3371-5455

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 1.792.782

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não havendo pendências ética e documentais recomenda-se pela aprovação do projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|--|------------------------|--------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_760971.pdf | 19/10/2016 22:58:22 | | Aceito |
| Outros | INDICADORES_NUTRICIONAIS.pdf | 19/10/2016 22:57:00 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Outros | IPAQ.pdf | 19/10/2016 22:50:20 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Outros | QUESTIONARIO.pdf | 19/10/2016 22:49:49 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO.pdf | 19/10/2016 22:49:08 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf | 19/10/2016 22:48:54 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Folha de Rosto | FOLHA_DE_ROSTO.pdf | 17/10/2016 03:44:12 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 26 de Outubro de 2016

Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de preparado em pó contendo moléculas imunomoduladoras de parede celular de leveduras, cúrcuma, canela e isolado proteico de soro de leite adicionado de cultura probiótica e seus efeitos sobre massa corporal, perfil lipídico e nível de anticorpos de indivíduos adultos.

Pesquisador: FLAVIA IMANISHI RUZON

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 60210316.0.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.801.102

Apresentação do Projeto:

Não se aplica.

Objetivo da Pesquisa:

Não se aplica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não se aplica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A emenda apresentada atualiza os valores apresentados no orçamento financeiro, sendo compatíveis com a execução do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não havendo pendências éticas e documentais recomenda-se pela aprovação da emenda.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Seres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 1.801.102

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|--------------------------------------|------------------------|--------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_816583 E1.pdf | 26/10/2016 19:14:15 | | Aceito |
| Outros | INDICADORES_NUTRICIONAIS.pdf | 19/10/2016 22:57:00 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Outros | IPAQ.pdf | 19/10/2016 22:50:20 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Outros | QUESTIONARIO.pdf | 19/10/2016 22:49:49 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO.pdf | 19/10/2016 22:49:08 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf | 19/10/2016 22:48:54 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Folha de Rosto | FOLHA_DE_ROSTO.pdf | 17/10/2016 03:44:12 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 01 de Novembro de 2016

**Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)**

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de preparado em pó contendo moléculas imunomoduladoras de parede celular de leveduras, cúrcuma, canela e isolado proteico de soro de leite adicionado de cultura probiótica e seus efeitos sobre massa corporal, perfil lipídico e nível de anticorpos de indivíduos adultos.

Pesquisador: FLAVIA IMANISHI RUZON

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 60210316.0.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.838.991

Apresentação do Projeto:

Não se aplica.

Objetivo da Pesquisa:

Não se aplica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A emenda altera os critérios de inclusão ampliando a idade máxima para participação no projeto de 35 para 45 anos, mantendo todos os demais cuidados para que não haja riscos aos participantes, os quais estão de acordo com as necessidades do projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não havendo pendências éticas e documentais recomenda-se pela aprovação da emenda.

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 1.838.991

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|--------------------------------------|------------------------|--------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_821721 E2.pdf | 06/11/2016 16:14:44 | | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO.pdf | 06/11/2016 16:11:52 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf | 06/11/2016 16:09:57 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Outros | INDICADORES_NUTRICIONAIS.pdf | 19/10/2016 22:57:00 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Outros | IPAQ.pdf | 19/10/2016 22:50:20 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Outros | QUESTIONARIO.pdf | 19/10/2016 22:49:49 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |
| Folha de Rosto | FOLHA_DE_ROSTO.pdf | 17/10/2016 03:44:12 | FLAVIA IMANISHI RUZON | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 28 de Novembro de 2016

Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

ANEXO D**Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) - versão curta**

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA -

Nome: _____
Data: ____/____/____ Idade : ____ Sexo: F () M ()

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são **MUITO** importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação !

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias ____ por **SEMANA** () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando **por dia**?

horas: ____ Minutos: ____

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar

moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**)

dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

horas: _____ Minutos: _____

3a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

3b Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana**?

_____ horas ____ minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana**?

_____ horas ____ minutos

PERGUNTA SOMENTE PARA O ESTADO DE SÃO PAULO

5. Você já ouviu falar do Programa Agita São Paulo? () Sim () Não

6.. Você sabe o objetivo do Programa? () Sim () Não