UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JULIANA FERREIRA DOS SANTOS

**Avaliação das propriedades nutricionais de barras
de cereais elaboradas com farinha de banana verde**

São Paulo

2010

JULIANA FERREIRA DOS SANTOS

**Avaliação das propriedades nutricionais de barras
de cereais elaboradas com farinha de banana verde**

Dissertação apresentada no Programa
de Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre

Área de Concentração: Nutrição
Experimental.

Orientadora: Prof^a Dr^a Elizabete Wenzel
de Menezes

São Paulo

2010

Juliana Ferreira dos Santos

**Avaliação das propriedades nutricionais de barras
de cereais elaboradas com farinha de banana verde**

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profª Drª Elizabete Wenzel de Menezes
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Prof^a Dr^a Elizabete Wenzel de Menezes por todas as oportunidades acadêmicas e por confiar no meu potencial desde a iniciação científica. Agradeço também à CAPES pela bolsa concedida, que possibilitou a realização deste trabalho.

À Prof^a Dr^a Carmen Cecilia Tadini e a todo o pessoal do Laboratório de Engenharia de Alimentos da Escola Politécnica, em especial à Dr^a Tatiana Tribess, ao técnico Ivan e à estagiária e amiga Ana Paula, por possibilitarem a elaboração e confecção das barras de cereal utilizadas nesse estudo.

A todas as técnicas do Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos por todo o auxílio e amizade. Entre elas, um obrigada especial à Aline de Oliveira por me acompanhar em diversas etapas do mestrado e à Tânia Shiga, que ensinou praticamente tudo o que sei sobre cromatografia à gás. Também gostaria de agradecer à Joana, pelo café e pelas conversas, sempre muito animadas.

Aos meus “irmãos de laboratório” do passado e do presente: Milana Eliana, Alexandra, Tássia, Márcio, Érica, Cláudio, Fernanda, Laylla, Giselli, Grazielli e Gabriela – alguns de vocês eu conheço melhor do que outros, mas todos sempre estarão nas minhas lembranças!

A todos os colegas que compartilharam a experiência do B14 e que presenciaram meus momentos de incerteza, alegria e até de raiva. Como o espaço é reduzido, não vou citar nomes, mas acho que vocês sabem quem são e o que representam pra mim!

Aos secretários do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Cléo, Edílson e Mônica, por toda a eficiência e simpatia na hora de esclarecer dúvidas e resolver os problemas “burocráticos” da pós-graduação.

Aos professores que, de alguma forma, contribuíram com este trabalho e com a minha formação: Prof^a Dr^a Sílvia Cozzolino e Prof^a Beatriz R. Cordenunsi por todas as observações feitas na banca de qualificação deste projeto (junto com a Prof^a Carmen C. Tadini, que já foi mencionada) e ao Prof. Dr. Eduardo Purgatto pela disponibilidade em responder dúvidas no começo deste mestrado.

Aos meus amigos, em especial à minha amiga-irmã Camila Stipsky, obrigada pela paciência e compreensão durante os anos de mestrado, por compartilharem comigo cada coisa que deu certo e cada problema que apareceu no percurso e por estarem sempre do meu lado, mesmo quando eu não estive muito presente.

À minha família (biológica e “postixa”): Mãe, pai, “mãedrastra”, irmãos, tios e tias, primos, avós, gatos e cachorros. Vocês são tudo na minha vida e nenhuma conquista, grande ou pequena, teria valor se eu não pudesse compartilhá-la com vocês!

Ao Caio, meu atual namorado, futuro marido e melhor amigo para todas as horas. Obrigada pelas revisões nos meus relatórios, pelos finais de semana em que te deixei sozinho para ir ao laboratório, por agüentar minhas crises de choro quando as coisas não saiam como eu esperava e, principalmente, por suportar tudo isso e ainda conseguir me encorajar a seguir em frente. Simplesmente não consigo mais imaginar como teria sido sem você!

Por fim, gostaria de agradecer a Deus, pela vida, pela sorte e por todo o aprendizado adquirido a cada novo dia.

As for accomplishments, I just did what I
had to do as things came along.
(Eleanor Roosevelt)

RESUMO

SANTOS, J.F. Avaliação das propriedades nutricionais de barras de cereais elaboradas com farinha de banana verde. 2010. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Muitas alternativas têm sido propostas para melhorar as características nutricionais dos alimentos, algumas delas utilizando fontes de fibra alimentar ainda pouco conhecidas. Entre estas fontes de fibra alimentar (FA), a farinha de banana verde (FBV) tem se mostrado uma boa alternativa por sua alta concentração de amido resistente (AR) que pode melhorar o valor nutricional de diferentes preparações. Neste trabalho foram estudadas barras de cereal elaboradas com FBV, com o objetivo de avaliar *in vivo* e *in vitro* as propriedades nutricionais desses produtos. As amostras consistiam em dois tipos de barras de cereais, uma delas elaborada com FBV (barras FBV) e outra sem este ingrediente (barras controle). A composição centesimal e perfil de carboidratos das barras foram avaliados. A fermentabilidade da fração não-disponível das barras foi avaliada através de testes *in vitro* utilizando inóculo de ratos. A resposta glicêmica das barras foi avaliada após sua ingestão por voluntários saudáveis (n=16), sendo determinados o índice glicêmico (IG) e carga glicêmica (CG). A principal característica que pôde ser observada é que as barras FBV possuem maior conteúdo de AR que as barras controle (7,22 g/100g e 2,11 g/100g na base integral), resultado da adição de FBV. Esta adição reflete na concentração de carboidratos não-disponíveis (soma de FA e AR) das barras FBV, que é de 18,19 g/100g na base integral. As barras FBV apresentam maior fermentabilidade *in vitro* em relação às barras controle ($p<0,05$) de acordo com a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), produzindo 4,04 mmol/g de substrato, enquanto as barras controle produzem apenas 3,51 mmol/g de substrato. As barras FBV apresentam baixo IG (em relação à glicose) (41%) e CG (4), enquanto as barras controle apresentam IG médio (60%) e CG baixa (5). A partir dos resultados apresentados, é possível concluir que a adição de FBV às barras de cereal aumenta seu conteúdo de carboidratos não-disponíveis, representados pelo AR e FA, resultando num produto de alta fermentabilidade e de baixa resposta glicêmica pós-prandial.

Palavras-chave: barras de cereais, amido resistente, resposta glicêmica, fermentação *in vitro*

ABSTRACT

SANTOS, J.F. Evaluation of the nutritional properties of cereal bars produced with unripe banana flour. 2010. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Several alternatives have been proposed to improve the nutritional characteristics of foods, some of them using sources of dietary fiber that are still underused. Among these sources of dietary fiber (DF), unripe banana flour (UBF) has been considered a good alternative for its high concentration of resistant starch (RS), which can improve the nutritional value of different preparations. The aim of this study was to evaluate, *in vivo* and *in vitro*, the nutritional properties of cereal bars made with UBF. The samples consisted of two types of cereal bars, one made with UBF (UBF bars) and the other one without this ingredient (control bars). The chemical composition and carbohydrate profile of the bars were evaluated. The fermentability of the non-available fraction of bars was assessed *in vitro* using cecal contents of mice. The glycemic response of the bars was assessed after its ingestion by healthy volunteers (n = 16), being determined the glycemic index (GI) and glycemic load (GL). The main feature that could be observed is that the UBF bars have higher RS content than the control bars (7.22 g/100g and 2.11 g/100g wet weight), a result of the addition of UBF. This addition reflects on the concentration of non-available carbohydrates (sum of DF and RS) in UBF bars, which is 18.19 g/100g wet weight. The UBF bars presented better *in vitro* fermentability in relation to control bars (p <0.05) according to the production of short chain fatty acids (SCFA), yielding 4.04 mmol / g substrate, while the control bars produce only 3.51 mmol / g substrate. The UBF bars have a low GI (based on glucose) (41%) and CG (4), while the control bars show medium GI (60%) and low CG (5). According to these results, it is possible to conclude that the addition of UBF to cereal bars increases their non-available carbohydrate content, represented by RS and DF, resulting in a product of high fermentability and low postprandial glycemic response.

Keywords: cereal bars, resistant starch, glycemic response, *in vitro* fermentation

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Resposta glicêmica dos voluntários saudáveis (n=16) após o consumo de alimento referência e das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)	39
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Ingredientes utilizados na elaboração das barras de cereais controle e barras FBV (elaboradas com farinha e banana verde)	17
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química das amostras barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) (g/100g base integral)	27
Tabela 2 – Valor energético e conteúdo de macronutrientes por porção das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) e suas respectivas % do valor diário de referência (base integral)	29
Tabela 3 – Conteúdo de proteínas, lipídios, fibra alimentar e carboidratos de barras de cereais comerciais, barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) (g/100g base seca)	30
Tabela 4 - Variação de pH durante a fermentação <i>in vitro</i> da lactulose e da fração não-disponível isolada de barras controle e de barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)	32
Tabela 5 – Pressão interna dos frascos e resíduo não-fermentado (RNF) após 24h de fermentação <i>in vitro</i> da fração não-disponível isolada das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)	33
Tabela 6 – Fermentabilidade da fração não-disponível isolada das barras de cereal controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)	34
Tabela 7 - Equações de reta e correlações de diferentes concentrações de AGCC, obtidas após análise em cromatógrafo a gás	36

Tabela 8 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta formados durante a fermentação <i>in vitro</i> da lactulose e da fração não-disponível isolada das barras de cereais controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) (mmol/g de substrato)	36
Tabela 9 – Perfil de ácidos graxos de cadeia curta formados durante a fermentação <i>in vitro</i> da fração não-disponível isolada das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)	37
Tabela 10 – Fermentabilidade da fração não-disponível isolada das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) avaliadas pela produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)	38
Tabela 11 – Glicemia dos voluntários (em mmol/L) e ASC obtidas para o pão francês, barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)	40
Tabela 12 - Índice glicêmico (IG) e carga glicêmica (CG) das barras de cereal controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde FBV)	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ACGG	Ácidos graxos de cadeia curta
AD	Amido disponível
AR	Amido resistente
AT	Amido total
CG	Carga glicêmica
DP	Desvio padrão
FA	Fibra alimentar
FBV	Farinha de banana verde
IG	Índice glicêmico
RNF	Resíduo não-fermentado
SEM	Erro padrão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Barras de cereais	1
1.2. Fibra alimentar e prebióticos	2
1.3. Amido resistente (AR)	5
1.4. Fermentação colônica	8
1.5. Resposta glicêmica	11
1.6. Banana verde	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Amostras	16
3.1.1. Farinha de banana verde (FBV)	16
3.1.2. Ingredientes utilizados na elaboração das barras de cereais	16
3.1.3. Barras de cereais	17
3.2. Análises químicas	18
3.2.1. Composição centesimal	18
3.2.2. Açúcares solúveis	18
3.2.3. Amido total (AT)	19
3.2.4. Amido resistente (AR)	19
3.2.5. Amido disponível (AD)	20
3.2.6. Quantificação de fibra alimentar (FA)	20
3.2.7. Isolamento da fração não-disponível	21
3.3. Fermentação <i>in vitro</i>	22

3.3.1. Análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)	24
3.4. Ensaio de curta duração com voluntários – protocolo experimental	24
3.4.1. Quantificação de glicose plasmática	25
3.4.2. Determinação da resposta glicêmica	25
3.5. Análise estatística	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. Composição química das barras	27
4.2. Fermentação <i>in vitro</i>	31
4.2.1. Variação de pH, pressão e resíduo não-fermentado (RNF)	32
4.2.2. Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)	35
4.3. Resposta glicêmica	39
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
6. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXO A	54

1. INTRODUÇÃO

Os cereais em barra são alimentos que surgiram como alternativa aos biscoitos e confeitados industrializados. Embora nem sempre estes produtos sejam saudáveis, muitas alternativas têm sido propostas para melhorar suas características nutricionais, algumas delas utilizando fontes de fibra alimentar ainda pouco utilizadas. Entre estas fontes de fibras, a farinha de banana verde (FBV) tem se mostrado uma boa alternativa por sua alta concentração de amido resistente (AR), um componente da fibra alimentar (FA) que, entre outras atribuições, têm demonstrado benefícios sistêmicos e locais quando fermentado pela microbiota colônica. Além disso, uma vez que esse AR não é digerido no intestino delgado, seu consumo pode auxiliar no controle glicêmico, por proporcionar uma entrada mais lenta de glicose no sangue

1.1. Barras de cereais

Quando os cereais em barra foram inseridos no mercado, a intenção era de que esses produtos fossem uma alternativa mais saudável de *snacks* em comparação aos biscoitos e confeitados (BOUSTANI; MITCHELL, 1990). A empresa que iniciou a produção destas barras no mercado brasileiro foi a Nutrimental, que lançou a barrinha *Chonk* em 1992. O produto não foi bem aceito naquela época, mas dois anos depois, a mesma empresa lançou a barrinha Nutry, que até hoje é um de seus principais produtos. A partir daí, outras empresas também começaram a produzir e comercializar barras de cereais, disponibilizando uma variedade cada vez maior desses produtos (BARBOSA, 2003).

Com o aumento do consumo desses tipos de barras, muitas das novas marcas que surgiram a partir de 2003, privilegiaram produtos com menos gordura ou baixo valor energético. No entanto, mesmo com essa proposta de trazer benefícios à saúde, a análise da composição desses alimentos provou que muitos possuem características semelhantes às observadas em confeitados comuns, exceto pelo conteúdo de fibra alimentar. Bower e Whitten (2000) observaram que os produtos mais apreciados entre os consumidores são aqueles com alta concentração de gordura e açúcares que, dependendo da quantidade e frequência com que são consumidas, podem contribuir negativamente para a dieta.

Pensando em alternativas que permitissem utilizar ingredientes mais saudáveis na confecção de barras de cereais, mas sem que isso provocasse algum prejuízo nos atributos sensoriais mais apreciados pelos consumidores, pesquisadores têm procurado desenvolver barras de cereais com novos ingredientes alimentícios, nutritivos e funcionais (PALAZZOLO, 2003).

Ingredientes que ofereçam a estas barras benefícios como baixo valor energético, que possam proporcionar saciedade ou ainda baixa resposta glicêmica estão sendo pesquisados e novas formulações de barras de cereais têm sido propostas. Nesse sentido, a formulação de barras de cereais sabor banana, com de proteína de soja texturizada, gérmen de trigo e aveia, suplementada com vitaminas C e E, proposta por Freitas e Moretti (2006), e as barras a base de aveia, estudadas por Gutkoski et al. (2007), apresentaram características nutricionais adequadas, como alta concentração de fibra alimentar e boa aceitação por parte dos consumidores.

Ainda buscando elaborar produtos com ingredientes funcionais, Costa et al (2005) produziram barras de cereais contendo resíduos da fabricação da farinha de mandioca, que é um resíduo livre de glúten. Exceto pela textura final das barras, esse produto apresentou índices elevados de aprovação entre os consumidores, com a vantagem de aproveitar resíduos industriais que, de outra forma, seriam descartados. Silva et al. (2009) também aproveitaram resíduos industriais, desta vez provenientes do maracujá amarelo, na elaboração de suas barras. Esse tipo de resíduo contribuiu para que as barras tivessem maior concentração de fibra alimentar e de polifenóis, além de melhor textura em relação àquelas produzidas a partir de resíduos da farinha de mandioca.

Esse cenário indica que, em breve, produtos mais saudáveis, com ingredientes variados e que aproveitem resíduos e insumos que outrora seriam mal aproveitados sejam lançados no mercado, proporcionando novas opções ao consumidor moderno.

1.2. Fibra alimentar e prebióticos

O termo "fibra alimentar" (FA), utilizado para descrever nutrientes que não seriam digeridos ou absorvidos pelos seres humanos, foi empregado pela primeira vez em 1953 por Hipsley. No entanto, foi apenas no início dos anos 70 que

esse termo foi utilizado para descrever os polissacarídeos componentes de vegetais que são resistentes à hidrólise por enzimas digestivas de humanos (DEVRIES, 2004; PHILLIPS; OGASAWARA; USHIDA, 2008).

Desde então, surgiram hipóteses que relacionavam o consumo de FA com efeitos benéficos à saúde, como diminuição da incidência de câncer de cólon e doenças cardiovasculares. Dentro desse contexto, em 1976, Trowell et al. passaram adotar uma definição de fibra alimentar que englobava outros polissacarídeos não-disponíveis que, embora não tenham suas origens na parede celular dos vegetais, possuem propriedades funcionais semelhantes (como gomas, mucilagens, lignina, hemiceluloses, pectina, entre outros). Essa definição de fibra alimentar, baseada principalmente em aspectos fisiológicos, logo ganhou adeptos e foi considerada padrão de referência. Métodos para quantificar a porção não digerida dos alimentos, que seria responsável pelos efeitos característicos da fibra alimentar, começaram a ser pesquisados, obtendo diferentes graus de sucesso (DEVRIES, 2004; PHILLIPS; OGASAWARA; USHIDA, 2008).

Conforme o conhecimento acerca de FA aumentava e metodologias analíticas surgiam, incluindo as metodologias da AOAC 985.29 e 991.43, as definições para FA propostas por diferentes grupos também começaram a divergir. Algumas definições propostas apontavam os efeitos fisiológicos como fator determinante da inclusão de compostos no grupo de FA, enquanto outros definiam fibra alimentar a partir de metodologias analíticas. Surgia então a necessidade de criar uma definição que fosse aceita internacionalmente e que viesse acompanhada de metodologia analítica apropriada (COUTINHO; MENDES; ROGERO, 2005).

Assim, após alguns anos de deliberação, o Codex Alimentarius (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2008) estabeleceu recentemente que fibra alimentar consiste em polímeros de carboidratos contendo 10 ou mais unidades monoméricas, que não são hidrolisadas pelas enzimas endógenas no intestino delgado de humanos e que pertence às seguintes categorias:

- Polímeros de carboidratos comestíveis presentes nos alimentos na forma em que são consumidos;
- Polímeros de carboidratos obtidos de alimentos crus por métodos químicos, enzimáticos ou físicos e que apresentaram efeito fisiológico benéfico à saúde em estudos científicos amplamente aceitos por autoridades competentes; e

- Polímeros de carboidratos sintéticos que apresentaram efeito fisiológico benéfico à saúde em estudos científicos amplamente aceitos por autoridades competentes.

A decisão de incluir ou não os oligossacarídeos de 3 a 9 unidades monoméricas fica a critério das autoridades nacionais e a metodologia a ser adotada para análise de fibra alimentar ainda será definida (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2008).

Desta forma, podem ser considerados como FA compostos como frutooligossacarídeos (FOS), inulina, rafinose, estaquiose, galactooligossacarídeos, polidextrose, amido resistente, celulose, hemicelulose, pectina, arabinoxilanas, β -glucanas, glucomananas, gomas e mucilagens.

Entre esses componentes da FA, alguns também podem ser considerados prebióticos, como FOS e inulina. Para isso, deve haver demonstração científica de que o componente ou ingrediente alimentar resiste aos processos de digestão e absorção no hospedeiro, deve ser fermentado pela microflora intestinal, e deve também estimular o crescimento e/ou atividade de determinadas bactérias dentro do trato gastrointestinal. Além disso, as demonstrações finais devem ser realizadas *in vivo*, seja em animais ou humanos, utilizando ensaios de intervenção nutricional e metodologia científica adequada (GIBSON et al., 2004).

Nos humanos, as vantagens nutricionais dos prebióticos consistem em efeitos preventivos ou curativos contra algumas doenças do trato gastrointestinal, além de encefalopatia hepática e, possivelmente, câncer de cólon (MARTEAU; BOUTRON – RUAULT, 2002).

A dose diária dos prebióticos não é um determinante do seu efeito, que é principalmente influenciado pelo número de bifidobactéria/g nas fezes antes do início da suplementação da dieta com prebióticos (ROBERFROID, 2007).

É importante ressaltar que nem todos os carboidratos não-disponíveis e fermentáveis podem ser considerados prebióticos (GIBSON et al., 2004). Atualmente, com a exceção da inulina e dos frutooligossacarídeos (FOS), ainda são escassos os ingredientes que cumpram com a resistência à acidez gástrica, hidrólise por enzimas de mamíferos, e absorção gastrointestinal (ROBERFROID, 2007). A polidextrose e o amido resistente (AR), por exemplo, estão sendo estudados para verificar seu possível efeito prebiótico, principalmente no que se refere aos seus efeitos benéficos no intestino grosso (GIBSON et al., 2004).

1.3. Amido resistente (AR)

A existência do AR ficou conhecida na década de 80, quando em ensaios científicos realizados com polissacarídeos não-amido, Englyst e colaboradores (1982) observaram que, após a conclusão da hidrólise enzimática, uma pequena quantidade de amido continuava remanescente. Analogamente, estudos subsequentes realizados com fezes de indivíduos ileostomizados também identificaram a presença de amido. Além disso, por meio de algumas análises, esses mesmos trabalhos também observaram indícios de que esse tipo de amido poderia ser fermentado *in vivo* no intestino grosso (NUGENT, 2005; TOPPING; FUKUSHIMA; BIRD, 2003). Após a confirmação dessa hipótese em trabalhos posteriores, esse amido não-disponível recebeu a denominação de amido resistente (AR) e, na década de 90, foi definido como “a quantidade total de amido e produtos da degradação de amido que resistem à digestão no intestino delgado de indivíduos saudáveis” (ASP, 1992).

Além dessa definição elaborada com base em termos fisiológicos, Englyst, Kingman e Cummings (1992) propuseram uma definição para o AR fundamentada em características físico-químicas. De acordo com essa denominação, o AR pode receber quatro tipos de classificação, que consistem em:

- AR1: Amido fisicamente inacessível presente em grãos parcialmente triturados de cereais e leguminosas, tem sua resistência diminuída por trituração e pela mastigação.
- AR2: Grânulos de amido nativo ou não gelatinizado, resistente à hidrólise por α -amilase, presente em batata crua, banana verde, alguns legumes e amidos com alta concentração de amilose. Sofrem modificações em suas concentrações de acordo com o processamento dos alimentos e cozimento.
- AR3: Amido retrogradado, que pode ser proveniente de batatas, pães, flocos de milho cozidos e resfriados e de outros produtos com tratamento térmico prolongado ou repetitivo. Sua presença varia conforme as condições de processamento do alimento.
- AR4: Amido quimicamente modificado, que não é encontrado naturalmente nos alimentos e, portanto, é encontrado apenas em

alimentos e bebidas nos quais foi adicionado. Esse amido é menos susceptível à digestão *in vitro* (NUGENT, 2005)

A velocidade de fermentação do AR varia de acordo com suas características físico-químicas e, portanto, conforme sua classificação (tipo 1, 2, 3 ou 4). Assim sendo, alguns tipos de AR podem desaparecer em um total de 24h de fermentação *in vitro*, enquanto outros tipos são mais resistentes à fermentação bacteriana e não chegam à fermentação total mesmo após completado um período de 24h (MARTIN, DUMON; CHAMP, 1998).

Dessa forma, o aproveitamento do AR e dos carboidratos em geral depende de diversos fatores, entre eles estão o total de AR presente nos alimentos, a quantidade inicial e o tipo de amido presente na digestão, a maneira como o alimento foi processado, cozido e estocado, além da forma como foi realizada sua ingestão.

Fatores fisiológicos também podem impactar na concentração de AR de um alimento. Um exemplo de alteração atribuível a fatores dessa natureza é a mastigação. Ao reduzir o tamanho das partículas ingeridas, a mastigação aumenta a digestibilidade dos alimentos ingeridos, já que partículas menores atravessam o trato gastrointestinal mais lentamente que as partículas maiores, intensificando sua absorção. O trânsito intestinal também é um determinante na digestibilidade do AR no intestino delgado (TOPPING; FUKUSHIMA; BIRD, 2003).

Determinado experimentalmente por Liversey (1994), o valor energético do AR é de aproximadamente 8 kJ/g (2 kcal/g) e equivale a aproximadamente 50% do valor energético do amido disponível (15 kJ/g ou 4,2 kcal/g). Isso significa que, durante a digestão, ocorre perda de parte da energia no intestino delgado (equivalente ao AR que não é digerido nesta porção do trato digestório), posteriormente minimizada pela fermentação desse AR no cólon, influenciando no balanço energético nos indivíduos (CUMMINGS et al., 1992).

Complementarmente, a quantidade de AR presente nos alimentos também influencia indiretamente no metabolismo da glicose. Esse efeito torna-se evidente em alimentos que contêm concentrações elevadas de AR, já que a quantidade de amido disponível é relativamente pequena quando comparada à porção de amido total. Nesses casos, os alimentos não provocam um aumento acentuado da resposta glicêmica pós-prandial e, portanto, podem ser ingredientes

com elevado potencial para serem utilizados na elaboração de produtos alimentícios de baixo índice glicêmico (IG).

Resultados de fermentação *in vitro* têm mostrado que o AR causa aumento na proporção de butirato em relação aos outros ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e, em contrapartida, diminui a excreção fecal de ácidos biliares secundários. Entretanto, o potencial de aplicação do AR como prebiótico começou a ser explorado apenas após estudos com animais e humanos mostrarem que o consumo de alimentos com altas concentrações de AR levam a mudanças tempo-dependentes no perfil de AGCC tanto no intestino grosso, quanto nas fezes. Nesse sentido, estudos posteriores realizados com camundongos confirmaram a ação do AR como prebiótico, dado o aumento de bactérias lácticas na ausência de suplementação oral (TOPPING; FUKUSHIMA; BIRD, 2003).

Estudos com porcos realizados por Brown et al. (1998), observaram os efeitos decorrentes da adição de FOS e AR na alimentação desses animais. Os resultados desse trabalho mostraram que, quando utilizados separadamente, o número de bifidobactérias fecais aumentava na mesma proporção, tanto para alimentos enriquecidos com FOS, quanto naqueles em que houve acréscimo de AR. No entanto, nos casos em que essas substâncias foram empregadas em conjunto, a quantidade final de bifidobactérias fecais encontrada foi superior à das porções em que FOS e AR foram utilizados individualmente, sugerindo que FOS e AR atuam por meio de diferentes mecanismos. Além disso, esse mesmo trabalho observou que tanto AR quanto FOS foram capazes de manter a colonização do intestino nos casos em que o consumo de probióticos cessava. Dessa forma, com base nesse e em outros estudos similares, Topping, Fukushima e Bird (2003) elaboraram a hipótese de que o AR poderia ser qualificado como prebiótico e simbiótico.

Analogamente, Nofrarías et al. (2007) também utilizaram porcos para estudar o efeito a longo termo do consumo de AR sobre a fermentação colônica, morfologia intestinal e índices imunológicos. De acordo com os resultados desse trabalho, foram observadas mudanças pronunciadas no ambiente colônico, dano reduzido aos colonócitos e melhora na integridade da mucosa intestinal, associada à redução de reações imunológicas colônicas e sistêmicas que, por sua vez, traz benefícios para condições relacionadas à reações inflamatórias.

Em trabalhos com humanos, Topping; Fukushima e Bird (2003) estudaram o efeito do consumo de alimentos ricos em AR sobre crianças com

diarréia infecciosa submetidas à terapia de hidratação usual. Após a ingestão desses alimentos, além da redução expressiva na perda de líquidos, foi constatado que o tempo de recuperação destas crianças diminuiu, sendo que tanto o AR de banana verde, quanto a fibra alimentar aceleravam o processo de recuperação. Parte dos benefícios parece ser causada pelo aumento da absorção de fluidos. Esse fenômeno decorre do aumento da produção de AGCC e do seu consequente estímulo da captação de água e cátions, particularmente no cólon proximal. Além disso, os AGCC também parecem modular a atividade muscular do intestino grosso e promover o fluxo sanguíneo nas vísceras, o que contribui para a diminuição da severidade das diarreias.

1.4. Fermentação colônica

Existem componentes da dieta que não sofrem digestão por enzimas intestinais nem são absorvidos no intestino delgado. Ainda assim, esses compostos podem ser degradados no intestino grosso devido à ação da microbiota colônica. Esse processo denomina-se fermentação colônica e consiste na degradação anaeróbia de substratos, principalmente carboidratos, pela microbiota intestinal (GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001). Esses substratos representam a fração não-disponível (FND) da dieta que, em sua maior parte, é constituída por fibra alimentar, AR, proteína resistente, oligossacarídeos, lipídios, polifenóis e outros componentes associados (GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001; SAURA-CALIXTO et al., 2000).

A microbiota colônica pode variar de acordo com diversas condições do hospedeiro, mas em geral ela é formada por mais de 400 espécies diferentes de bactérias, sendo que 99% delas são das espécies *Bacteróides*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Clostridia*, e *Bifidobacterium* (GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001).

No intestino grosso, as bifidobactérias fermentam os carboidratos que não foram digeridos no intestino delgado, formando gases (hidrogênio, dióxido de carbono e metano), além de ácidos orgânicos (como os ácidos lático, succínico e pirúvico) e AGCC (GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001; TOPPING; CLIFTON, 2001).

Os principais fatores listados por Goñi e Martín-Carrón (2001) como determinantes para fermentação são a quantidade e estrutura dos substratos, o número de bactérias presentes no cólon e o tempo de contato entre a microbiota e os substratos fermentativos.

Uma vez que a quantificação da fermentação colônica *in vivo* em humanos é difícil e requer indivíduos ileostomizados, frequentemente são utilizados modelos animais. Nesse caso, devido à semelhança com humanos no que se refere à fisiologia gastrintestinal, os porcos costumam ser bastante utilizados (e recomendados) para estudos dessa natureza. Contudo, trabalhos envolvendo ratos também são muito frequentes, devido ao pequeno porte dos animais, seu baixo custo relativo e ampla disponibilidade (TOPPING; CLIFTON, 2001). É importante considerar que qualquer estudo realizado com modelo animal sempre apresenta limitações devido às diferenças existentes em relação aos seres humanos. Portanto, as interpretações em torno das conclusões de trabalhos dessa natureza devem sempre contemplar as limitações do modelo adotado, decorrentes principalmente das diferenças existentes entre seres humanos e outros animais.

Outra maneira de compensar a dificuldade de estudar os efeitos da fermentação em humanos é por meio da fermentação *in vitro*. Esse modelo de estudo pode ser utilizado para reproduzir o processo fermentativo no cólon proximal, permitindo avaliar o perfil de AGCC produzidos por um determinado substrato, assim como outras variáveis do processo de fermentação (GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001).

Entre os principais produtos da fermentação de substratos no intestino grosso estão os AGCC, que são ácidos carboxílicos saturados contendo de 1 a 6 átomos de carbono. Em sua maior parte (de 90 a 95%), são constituídos por acetato, propionato e butirato, decorrentes da fermentação sacarolítica e presentes na proporção molar de aproximadamente 60:25:15, respectivamente (GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001). A porcentagem remanescente desses compostos refere-se a ácidos graxos de cadeia ramificada, resultantes da fermentação proteolítica.

Encontrados principalmente no cólon proximal, os níveis de AGCC diminuem à medida que esses compostos percorrem o cólon, já que ocorre sua utilização pelas bactérias e colonócitos ao longo do intestino. Entre suas funções, sabe-se que esses AGCC aumentam o fluxo sanguíneo intestinal, diminuem o pH luminal e ajudam a prevenir a formação de populações anormais de células colônicas (TOPPING; CLIFTON, 2001).

A produção de AGCC causa uma diminuição no pH colônico, que influencia indiretamente a flora bacteriana intestinal e diminui a absorção de amônia e outros compostos nitrogenados que podem provocar encefalopatia hepática. Além

disso, a diminuição do pH insolubiliza os ácidos biliares e inibe a ação da enzima responsável pela conversão desses ácidos primários em secundários, que por sua vez são compostos potencialmente tóxicos e cancerígenos para o intestino grosso (WONG et al., 2006).

Pouco utilizado pelos colonócitos, o acetato é prontamente absorvido e transportado para a veia porta. Por ser o principal AGCC no sangue, esse composto é utilizado para monitorar eventos colônicos em humanos. Após ser utilizado como substrato primário para a síntese de colesterol no fígado, a porção remanescente do acetato não metabolizado chega ao plasma. Nesse instante, sua meia-vida passa a ser de poucos minutos, já que o acetato é utilizado no plasma como combustível energético, principalmente pelos músculos esquelético e cardíaco e cérebro (CUMMINGS; MACFARLANE, 1997; WONG et al., 2006).

Paralelamente, por também ser pouco utilizado pelos colonócitos, o propionato também é absorvido e transportado para veia porta. Entretanto, sua absorção ocorre ainda mais rapidamente do que o acetato, uma vez que sua maior parte foi utilizada pelo fígado como substrato para a gliconeogênese e como inibidor da síntese de colesterol (WONG et al., 2006).

Com a reduzida utilização desses dois tipos de AGCC pelos colonócitos, cabe ao butirato a função de servir como a principal fonte energética para essas células, fornecendo mais de 70% do total de energia por elas consumidas (PRYDE et al., 2002). O butirato também tem um papel importante na diferenciação e proliferação celular, o que pode auxiliar na prevenção de neoplasias, além de promover um fenótipo normal das células intestinais (WONG et al., 2006).

Os substratos clássicos considerados butirogênicos são o AR e os frutanos, principalmente os FOS (PRYDE et al., 2002). Alguns estudos demonstram que o butirato produzido a partir da fermentação de AR pode apresentar efeito protetor contra câncer de cólon e reto, além de possivelmente promover apoptose em células tumorais (TOPPING; CLIFTON, 2001).

Os efeitos do butirato no epitélio colônico são complexos, especialmente por sua ação paradoxal em células normais e neoplásicas. Enquanto exerce um estímulo proliferativo nos colonócitos normais, essa substância também inibe a proliferação de células neoplásicas por meio da interrupção do seu ciclo celular, induzindo o processo de diferenciação celular e estimulando a apoptose (PRYDE et al., 2002). Complementarmente, o butirato também tem sido utilizado

como um possível tratamento de doenças inflamatórias do intestino, como a retocolite ulcerativa, apesar da sua eficiência ainda não ter sido comprovada para esse tipo de uso (WONG et al., 2006).

1.5. Resposta glicêmica

Os carboidratos são os macronutrientes mais importantes de uma dieta. As diversas fases que envolvem seu processo de digestão e absorção resultam na entrada de monossacarídeos na corrente sanguínea e, conseqüentemente, promove a alteração dos níveis de glicose plasmática. Como os carboidratos de diferentes fontes são digeridos e absorvidos de maneiras distintas, a velocidade de digestão pode ser utilizada como um indicador relevante para a avaliação do aproveitamento desses carboidratos pelo organismo. Assim, a partir dos resultados dessas avaliações, estratégias podem ser adotadas para potencializar os efeitos benéficos dos carboidratos, de modo a reduzir o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis, como obesidade, diabetes e hipertensão, tão frequentes nos dias de hoje (FAO/WHO, 1998).

Assim, os carboidratos, em especial o amido, podem ser classificados em dois grupos: (a) carboidratos lentamente digeridos; e (b) carboidratos rapidamente digeridos. Desses dois grupos, o primeiro mostra-se particularmente importante, pois ao ser digerido lentamente, esse tipo de carboidrato proporciona a entrada prolongada de glicose na corrente sanguínea (MENEZES et al., 2004). Para avaliar os efeitos dos carboidratos de diferentes velocidades de digestão na resposta glicêmica, foram desenvolvidos marcadores apropriados para essa finalidade, como é o caso do índice glicêmico (IG) e da carga glicêmica (CG) (MENEZES; LAJOLO, 2006).

Desenvolvido para classificar os carboidratos de acordo com sua capacidade de aumentar a resposta glicêmica dos indivíduos, o IG é definido como o incremento da área abaixo da curva glicêmica, produzido por uma porção de 50 g de carboidrato disponível do alimento estudado, em relação à mesma porção de um alimento padrão, que pode ser pão branco ou glicose (FAO/WHO, 1998). Além de permitir estimar a velocidade com que ocorre a digestão e absorção de cada alimento, o IG também possibilita a comparação entre a resposta glicêmica desses

diferentes alimentos, quando consumidos de diferentes formas ou após diferentes métodos de processamento (MENEZES; LAJOLO, 2006).

Desta forma, o IG compara quantidades iguais de carboidratos e os classifica de acordo com a sua qualidade, mas não considera a quantidade da porção ingerida. Na ausência de um parâmetro que avaliasse não apenas a qualidade dos carboidratos mas também os efeitos provocados pela quantidade consumida desses carboidratos, pesquisadores de Harvard criaram, em 1997, o conceito de CG, que é o resultado do produto entre o IG de um alimento e a quantidade de carboidratos disponíveis presentes em uma porção. Assim, a CG está associada à mensuração do impacto glicêmico da dieta estudada. De acordo com esse sistema de classificação, o aumento da CG está relacionado com o aumento da glicemia e gera reflexos nas concentrações de insulina sanguínea (FOSTER-POWEL; HOLT; BRAND-MILLER, 2002).

Estudos mostram que dietas com alimentos de reduzido IG aumentam o controle metabólico em pacientes diabéticos e diminuem a resistência à insulina, além de apresentarem efeitos benéficos no metabolismo de lipídios e outros fatores de risco para o desenvolvimento e agravamento de doenças cardiovasculares (BJÖRCK, 1996). Em relação à obesidade, trabalhos indicam que o consumo de alimentos com reduzido IG proporciona maior período de saciedade após seu consumo, podendo representar importante ferramenta em regimes de controle de peso (MURAKAMI et al., 2007).

No que diz respeito à CG, Liu et al. (2000), ao acompanharem por dez anos mulheres entre 38 e 63 anos de idade, encontraram associação positiva entre o consumo de alimentos com alta CG e aumento do risco de doenças coronarianas. Ainda de acordo com esse estudo, para predizer risco cardiovascular a CG constitui uma classificação mais adequada do que a classificação, ainda muito empregada, que categoriza carboidratos em simples e complexos.

Evidências dessa natureza levam a crer que a seleção dos alimentos de acordo com o IG e CG têm impacto significativo sobre numerosos aspectos da fisiologia e metabolismo humano e, portanto, pode trazer benefícios em diversos aspectos da saúde do indivíduo.

1.6. Banana verde

Durante alguns anos a banana têm sido uma das frutas mais produzidas mundialmente. Segundo dados da Food and Agriculture Organization (2010), em 2007 esta produção superou 115 milhões de toneladas, à frente de culturas como melancia, uva, maçã e laranja (VITTI, 2009).

Em 2009, o Brasil chegou a produzir 7.193.189 de toneladas de banana, com 5.158.525 de toneladas produzidos somente nas regiões nordeste e sudeste (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). Em 2010 estima-se um crescimento de 0,96% da safra, o que mantém o país como o segundo produtor mundial da fruta, atrás apenas da Índia. Ambos destinam grande parte de sua produção para abastecer o mercado interno o que diminui sua representatividade no mercado internacional da fruta.

Um dos fatores responsáveis pelo direcionamento desta produção para o mercado interno consiste na curta vida útil da banana, que também é um dos principais fatores responsáveis pela perda de aproximadamente 60% da colheita nacional antes de chegar ao consumidor final (EMBRAPA, 2005).

Uma maneira de diminuir o desperdício desse fruto consiste em estimular a utilização da banana ainda verde, uma vez que sua vida útil passa a ser mais longa. Além disso, a banana quando se encontra verde é mais facilmente transportada e pode ser armazenada por mais tempo se comparada à banana madura.

Uma das formas de aproveitamento da banana verde consiste em utilizá-la na forma de farinha. Conforme o Sistema Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT (2006 *apud* BORGES; PEREIRA; LUCENA, 2009), as farinhas de bananas podem ser obtidas por meio de secagem natural ou artificial, utilizando bananas verdes das variedades Prata, Terra, Cavendish, Nanica ou Nanicão.

A qualidade desse tipo de produto depende de vários fatores incluindo matéria-prima, método de secagem, técnicas de procedimentos e forma de armazenamento. Entretanto, quando bem processadas, as farinhas de banana verde podem ser utilizadas em diversos tipos de preparação, tornando-se uma ótima alternativa para o enriquecimento de produtos alimentícios, já que incrementa o valor nutricional desses produtos a um custo bastante reduzido. Nesse sentido, alguns

estudos sugerem que a farinha de banana verde pode substituir parcialmente a farinha de trigo, sem que haja perdas da qualidade sensorial do produto final (FASOLIN, 2007; BORGES; PEREIRA; LUCENA, 2009).

Em comparação com a banana madura, um dos benefícios da utilização da banana verde consiste em sua elevada concentração de AR do tipo 2 e baixa concentração de açúcares solúveis. Isso ocorre porque, durante a maturação do fruto, o amido, que é o principal componente de banana verde e corresponde a 60-80% (base seca) da composição desse fruto é degradado e convertido em açúcares solúveis (MOTA et al., 2002; ZHANG et al., 2005). Além disso, essas características fazem da farinha obtida a partir da banana verde um excelente produto para ser industrializado, uma vez que o AR presente na FBV pode incrementar o conteúdo de FA dos alimentos em que é adicionada, reduzindo o conteúdo energético desses produtos, característica desejável em alimentos formulados para controle de peso.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar *in vivo* e *in vitro* as propriedades nutricionais de barras de cereal elaboradas com farinha de banana verde.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a composição química das barras.
- Avaliar a fermentabilidade *in vitro* dos carboidratos não-disponíveis das barras de cereais.
- Avaliar, em voluntários saudáveis, a resposta glicêmica produzida pela ingestão das barras de cereais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras

3.1.1. Farinha de banana verde (FBV)

A FBV foi elaborada a partir de bananas (*Musa acuminata* subgrupo Cavendish) totalmente verdes, provenientes da região do Vale do Ribeira e adquiridas na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). A produção da FBV, em escala industrial, foi realizada nas dependências do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas, Brasil. As bananas foram higienizadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) em tanques industriais, descascadas manualmente e imediatamente imersas em solução com ácido cítrico (0,1%). A polpa de banana foi fatiada (4 mm de espessura) e as fatias foram novamente imersas na mesma solução. As fatias foram secas a 55 °C, velocidade do ar de 1,0 m/s, por 6 h. (Secador Proctor and Schwartz, model K11556, Philadelphia, USA) e trituradas em moinho (MA 680, Marconi, Piracicaba, Brasil) em partículas < 0,250 mm.

Todo o processo foi desenvolvido de forma conjunta por pesquisadores do Laboratório de Engenharia de Alimentos (LEA), Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, sob coordenação da Prof^a. Dr^a. Carmen Tadini e do Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular, FCF/USP, sob a Coordenação da Prof^a. Dr^a. Elizabete Wenzel de Menezes (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2007).

3.1.2 Ingredientes utilizados na elaboração das barras de cereais

Para a confecção das barras de cereais, além da FBV os ingredientes secos utilizados foram: flocos de arroz (do tipo redondo e do tipo comprido) e banana desidratada fornecidos pela Trio Alimentos (Sorocaba, SP); flocos de aveia grossos Ferla[®], cedidos por L. Ferenczi S.A. Indústria e Comércio (Itapevi, SP).

Os ingredientes utilizados na calda foram sorbitol e maltodextrina fornecidos pela Corn Products Brasil (Mogi-Guaçu, SP) e goma acácia FIBREGUM B, fornecida pela Colloides Naturels Brasil Comercial Ltda (São Paulo, SP).

3.1.3. Barras de cereais

Foram elaboradas barras de cereais adicionadas de farinha de banana verde (barras FBV) e barras sem FBV (barras controle). A produção das barras de cereal foi realizada em parceria pesquisadores do Laboratório de Engenharia de Alimentos (LEA), Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica (EP) da USP, sob coordenação da Prof^a. Dr^a. Carmen Tadini e auxílio da doutoranda Tatiana Tribess.

A proporções em massa dos ingredientes utilizados está descrita no quadro 1.

Quadro 1 - Ingredientes utilizados na elaboração das barras de cereais controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)

Ingredientes secos	Barras Controle (g/100g)	Barras FBV (g/100g)
Flocos de arroz redondo	43,7	38,0
Flocos de arroz longo	6,2	5,4
Aveia em flocos grossos	25,1	21,8
Banana desidratada	25,1	21,8
FBV	-	13,0
Ingredientes da calda	Barras Controle (g/100g)	Barras FBV (g/100g)
Sorbitol	28,0	28,0
Maltodextrina	16,0	16,0
Goma acácia	16,0	16,0
Água	40,0	40,0

Inicialmente, todos os ingredientes secos, descritos no quadro 1, foram pesados em uma panela de alumínio tarada. Ao contrário das barras controle, as barras FBV tiveram adição de FBV em uma proporção correspondente a 13% em substituição aos ingredientes secos (aveia, flocos de arroz e banana desidratada), que foram diminuídos proporcionalmente, de forma a garantir características físicas e aceitabilidade semelhante entre as duas barras.

Para a preparação da calda, o sorbitol, a goma e a maltodextrina também foram pesados em panela de alumínio previamente tarada. A água foi adicionada aos ingredientes e a mistura foi homogeneizada e levada ao fogo, onde permaneceu até que a calda atingisse aproximadamente 80°Brix. Nesse ponto, a

calda foi retirada do fogo, resfriada até 60°C, pesada e incorporada aos ingredientes secos em partes iguais (50/50).

Essa mistura de calda e ingredientes secos foi homogeneizada, moldada em forma de alumínio e cortada com base nas dimensões adotadas em barras de cereais comerciais (10 x 2,8 x 1,4 cm).

3.2. Análises químicas

Para todas as análises químicas, as barras de cereais e os alimentos utilizados como padrão foram previamente liofilizados em liofilizador Thermo (Electron Corporation), triturados e tamisados (em partículas <250 µm). Todas as análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em g/100g de amostra na base integral.

3.2.1. Composição Centesimal

As análises foram realizadas com métodos da AOAC (HORWITZ; LATINER, 2006). A determinação de umidade foi feita em estufa a vácuo a 60 °C (método 995.45); a de proteínas pelo método de micro-Kjeldahl, considerando o fator 6,25 correspondente a 16% de nitrogênio de origem protéica (960.52); a de lipídios por Soxhlet (920.39) e de cinzas em mufla (923.03).

3.2.2. Açúcares solúveis

Os açúcares solúveis (glicose, sacarose e frutose) foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Cordenunsi, Shiga e Lajolo (2008). Foram pesados 500 mg de amostra em tubos de centrífuga Corex de 15 mL. Em seguida, as amostras foram lavadas com etanol 80% a 80 °C por três vezes. Os sobrenadantes foram combinados em balão volumétrico de 25 mL, homogeneizados, filtrados em filtro Millex (Millipore, São Paulo, SP) de 0,22 µm de poro e, em seguida, alíquotas de 1 mL foram colocadas em eppendorfs.

O etanol destas alíquotas foi evaporado sob vácuo, de forma a restar apenas os açúcares solúveis, que foram ressuspensos em água ultrafiltrada e analisados por HPLC-PAD Dionex (Sunnyvale, CA, USA), utilizando uma coluna PA₁ em corrida isocrática de tampão 18 mM NaOH por 25 min.

3.2.3. Amido total (AT)

Para quantificar o AT, foi utilizado o método proposto por McCready et al. (1950). Nesse método, cerca de 1 g de amostra foi homogeneizada com 10 mL de NaOH 0,5 N e, logo em seguida, neutralizada com o mesmo volume de ácido acético 0,5 N. A solução resultante foi diluída a 100 mL em balão volumétrico e uma alíquota de 1 mL foi retirada, lavada duas vezes com etanol (absoluto e 80%, nesta ordem) e centrifugada a 10000 rpm por 15 minutos para que ocorresse a precipitação do amido (os sobrenadantes foram desprezados). Logo em seguida, o etanol restante foi evaporado em capela e o precipitado seco foi incubado em banho-maria a 100 °C com 10 mL de ácido sulfúrico 0,5 N por um período de uma hora.

Concluída a etapa de incubação, o volume das soluções foi ajustado em balões volumétricos de 50 mL. Alíquotas de 0,2 mL de amostras foram incubadas com 1,0 mL de solução de antrona, juntamente com padrões de glicose, por 10 min em água em ebulição e, por fim, a absorbância foi determinada a 620 nm.

3.2.4. Amido resistente (AR)

O AR foi quantificado baseado no método AOAC 2002.02 (McCLEARY; McNALLY; ROSSITER, 2002), com adaptações. Foram pesadas triplicatas de 100mg das amostras em tubos de centrífuga graduados de 50 mL, devidamente identificados. A seguir, as amostras foram lavadas duas vezes com 8 mL de etanol 80% com a retirada do sobrenadante a cada centrifugação. Aos precipitados foram adicionados 4 mL de tampão trismaleato 0,1 M / CaCl_2 1 mM / azida sódica 0,02% pH=6,0, com AMG (Sigma A-7255, St. Louis, MO, USA), α -amilase (Sigma A-3176, St. Louis, MO, USA) e pepsina (Sigma P-7012, St. Louis, MO, USA), e, logo em seguida, procedeu-se sua incubação em banho-agitação a 37 °C por 16 h.

Ao serem retirados do banho e resfriados à temperatura ambiente, uma nova lavagem foi feita, desta vez com 4 mL de etanol 99% e os resíduos passaram por mais duas lavagens com 8 mL de etanol 50%. Em todas as lavagens os sobrenadantes foram descartados.

Aos precipitados foi adicionado KOH 2 M e, imediatamente a seguir, as amostras foram colocados em banho de gelo sob agitação magnética por exatos 20 min. Após esse tempo, adicionou-se as amostras HCl 2 M, tampão NaAc/Hac 1,2

M pH= 3,8 e AMG (em tampão NaAc/Hac pH= 4,50-4,75) nesta ordem, seguida de agitação em vórtex. O pH de cada tubo foi ajustado entre 4,5 e 4,8 e as amostras foram incubadas a 50 °C em banho com agitação por 30 min.

Após a incubação o volume dos tubos foi igualado com água ultrafiltrada até 15 mL e as amostras foram centrifugados à 3000 rpm por 10 minutos. Em seguida, 0,1 mL de sobrenadante foi transferido para novos tubos de ensaio pequenos. Padrões de glicose (de 100 mg/mL) e uma alíquota de tampão fosfato (branco) também foram colocados na mesma quantidade em diferentes tubos que, logo em seguida, receberam 3 mL de GOD/POD (resultando em um volume final de 3,1 mL em cada tubo de ensaio). As amostras ficaram incubadas em banho-maria por 20 min e, após resfriarem, sua absorbância foi quantificada em 450 nm com o espectrofotometro zerado com o branco.

3.2.5. Amido disponível (AD)

A quantidade de AD foi calculada por meio da diferença entre as concentrações de AT e AR ($AD = AT - AR$).

3.2.6. Quantificação de fibra alimentar (FA)

A concentração de FA total das amostras foi determinada pelo método enzimico-gravimétrico A.O.A.C. 991.43 (LEE; PROSKY; DEVRIES, 1992), com as modificações propostas por McCleary e Rossiter (2004), para que a concentração de AR não seja considerada. Essa modificação consiste em um pré-tratamento das amostras com dimetil sulfoxido (DMSO) de forma a disponibilizar todo o amido antes dos tratamentos enzimáticos.

Para realização desse método, pesou-se em quadruplicata 1 g de cada uma das amostras secas e pulverizadas. e, logo em seguida, procedeu-se sua transferência para béqueres de 250 mL previamente identificados contendo 40 mL de tampão MES / TRIS 0,05 M pH 8,2. Juntamente com as amostras também foi incluída uma prova em branco. Após a homogeneização da amostra no tampão, foram adicionados 50 µL de α -amilase termo-resistente (Megazyme E-BLAAM, Wicklow, Irlanda). Os béqueres foram então tampados com folha de papel alumínio e aquecidos em banho-maria em ebulição por 35 min (com agitação manual a cada 5 min).

Em seguida as amostras foram resfriadas à 60 °C e incubadas por 30 min. com 0,1 mL de protease, (Megazyme E-BSPRT, Wicklow, Irlanda), com agitação horizontal (100 rpm). Após esse período, as amostras foram resfriadas em temperatura ambiente e tiveram o pH ajustado para 4,5 com HCl 0,325 N, para posterior adição de 0,2 mL de amiloglicosidase (Megazyme E-AMGDF, Wicklow, Irlanda). Os béqueres foram novamente tampados com papel alumínio e incubados por 30 min a 60 °C com agitação horizontal (100 rpm).

Ao final das etapas de hidrólise enzimática, o hidrolisado resultante foi transferido quantitativamente, para béqueres de 600 mL e adicionaram-se a eles 4 volumes de etanol 98% a 60 °C. A mistura ficou em repouso em temperatura ambiente por 60 min para garantir a precipitação da FA solúvel. Após esta etapa, a mistura foi transferida quantitativamente sob vácuo, para um cadinho filtrante com placa porosa 40-60 µm e com 1 g de lã de vidro, montando em kitassato. O resíduo foi lavado com 60 mL de etanol 78%, 40 mL de etanol 95% e 40 mL de acetona, respectivamente. Os cadinhos foram colocados em capela até que todo o solvente orgânico evaporasse e, em seguida, foram secos em estufa a 105 °C, até atingirem peso constante. Os cadinhos contendo a FA seca foram resfriados em dessecador e pesados. O teor de cinzas e de proteínas dos resíduos também foi determinado de acordo com a metodologia descrita anteriormente e seus valores foram descontados da FA total.

3.2.7. Isolamento da fração não-disponível (FND)

As frações não-disponíveis totais das amostras foram isoladas com base no método proposto por Saura-Calixto et al. (2000) e Serrano, Goñi e Saura-Calixto (2005) com modificações. Para o isolamento foram pesadas triplicatas de 1,2 g de amostra em tubos de centrífuga de 250 mL previamente identificados. As amostras foram então homogeneizadas em turrax (Brinkmann, Polytron) com tampão KCl/HCl 0,1 M (pH=1,5), adicionadas de pepsina (Sigma P-7012, St. Louis, MO, USA) e incubadas a 40°C durante 1 h em banho-agitação.

Em seguida, as amostras foram resfriadas em temperatura ambiente e os valores de pH foram corrigidos para 6,9 com NaOH 4 M. Então, adicionou-se α -amilase (Sigma A-3176, St. Louis, MO, USA) em tampão Trismaleato/NaOH pH 6,9 e os tubos foram novamente incubados em banho agitação, desta vez a 37 °C durante 16 h.

No dia seguinte, as amostras foram retiradas do banho, resfriadas a temperatura ambiente e centrifugadas durante 15 min à 3000 rpm. Os sobrenadantes foram recolhidos em tubos de centrífuga de 250 mL identificados e o precipitado foi lavado com 40 mL de água destilada, agitado em vórtex e centrifugado nas condições previamente citadas. Os sobrenadantes foram novamente recolhidos nos tubos e esse procedimento foi repetido mais uma vez.

Os tubos contendo os precipitados foram congelados. Paralelamente, o pH dos sobrenadantes foi ajustado para 4,75 e realizou-se a adição de 4 mL de tampão acetato pH 4,75 0,1 M contendo amiloglicosidase (Sigma A-7255, St. Louis, MO, USA). Os sobrenadantes foram então incubados em banho-agitação durante 45 min a 60 °C. Após esse período, esses sobrenadantes foram resfriados a temperatura ambiente, transferidos para membranas de diálise de 12 a 14 kD de MWCO Spectra/POR (Rancho Dominguez, CA, USA) e dialisados durante 48 h em água destilada. A água da diálise foi trocada 10 vezes, a cada 3 h durante o dia e após o período máximo de 10 h durante a noite.

Ao final da diálise, o líquido dialisado foi combinado com o precipitado congelado anteriormente e essa mistura, que corresponde à fração não-disponível total das amostras, foi liofilizada e utilizada como substrato para a fermentação *in vitro*.

3.3. Fermentação *in vitro*

Para avaliar o processo de fermentação *in vitro*, o método foi baseado na proposta de Goñi e Martín-Carrón (2001), com modificações. As amostras utilizadas foram sempre FND isoladas, segundo descrito no anterior.

Foram preparadas seis réplicas de 100 mg de FND de cada amostra em frascos de vidro de 50 mL secos e tarados. Uma triplicata das amostras foi preparada para ser indicativa de 0 h de fermentação e a outra triplicata para indicar 24 h de fermentação. Brancos de fermentação (frascos sem amostra) e padrão de Lactulose (Sigma L-7877, St. Louis, MO, USA) também foram incluídos. As frações indigeríveis contidas nos frascos de fermentação foram hidratadas com 8 mL de meio de fermentação (MF) ativado e anaeróbico. Os frascos foram vedados com septos de borracha, que foram pinçados com agulhas de entrada e saída de gás, cada uma delas com válvulas de três vias nas extremidades, de forma a permitir que

CO₂ fosse borbulhado por 1 min em cada frasco para certificar que o meio estivesse anaeróbio. As válvulas foram fechadas e os frascos armazenados a 4 °C por 16 h.

No dia seguinte, os frascos de fermentação foram retirados da geladeira para atingir a temperatura ambiente e borbulhados com CO₂ para garantir a anaerobiose dos frascos.

Para a obtenção do inóculo a ser utilizado durante a fermentação foram necessários três ratos *Wistar* machos, com aproximadamente 300 g de peso, solicitados com antecedência ao biotério da FCF/USP. Esses animais foram eutanasiados por meio de dose excessiva de anestésico (cetamina/xilazina), observando e respeitando todos os critérios estabelecidos pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal desta unidade. Após a eutanásia, o ceco dos animais foi retirado, e o inóculo foi preparado com o conteúdo cecal diluído em MF ativado e anaeróbio (100 g de conteúdo cecal / L de meio de fermentação).

O inóculo foi misturado em um homogeneizador de amostras tipo Stomacher e filtrado em malha de 1 mm antes de sua utilização. Foram adicionados 2,5 mL de inóculo em cada frasco de fermentação e novamente foi borbulhado CO₂ por aproximadamente 1 min em cada frasco, para garantir o meio anaeróbio. Após a remoção das agulhas dos frascos 0 h e 24 h, os septos dos frascos 24 h foram revestidos com Parafilm® (Chicago, IL, USA) para evitar vazamentos de gases e, então, esses frascos foram incubados a 37 °C sob agitação por 24 h.

Os frascos 0 h foram destampados, adicionando a eles 5 mL de água deionizada. O pH foi verificado e, em seguida, 3 mL de água foram adicionados, lavando o eletrodo do pHmetro. A seguir foram adicionados 3 mL de NaOH 1 M para interromper a fermentação. Os frascos foram centrifugados (3000 rpm) a 4 °C por 10 min e os sobrenadantes foram transferidos para balões volumétricos de 25 mL. Os resíduos foram colocados em estufa a 105 °C para quantificação do resíduo não-fermentado (RNF) por gravimetria. O volume dos balões contendo os sobrenadantes foi completado com água Milli-Q e essa solução foi congelada em frascos identificados, para futura análise de AGCC.

Após 24 h, os frascos das amostras 24 h foram retirados do banho e resfriados até temperatura ambiente. A pressão interna de cada frasco foi medida por meio de um manômetro com intervalo de detecção de 0 a 15 psi (o que equivale de 0 a 103,4 kPa) com agulha acoplada. Os frascos foram então destampados e o mesmo procedimento efetuado com os frascos 0 h foi aplicado.

Ao todo, os parâmetros determinados na fermentação *in vitro* foram: pH, pressão interna dos frascos, proporções molares de AGCC e RNF.

3.3.1. Análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Os AGCC produzidos na fermentação *in vitro* foram quantificados em cromatógrafo a gás (CG) HP 6890 Plus (Santa Clara, CA, USA), com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar CP7747 de sílica fundida (WCTO), Varian (Palo Alto, CA, USA). A temperatura do injetor e do detector foi de 250 °C e a pressão foi mantida constante (42,8 kPa). A temperatura inicial da corrida foi de 110 °C, mantida durante 2 min, com rampa de 2°C/min até atingir a temperatura de 140 °C e de 40 °C/min até a temperatura final de 200°C (tempo de corrida = 25 min). As amostras foram injetadas manualmente em volume de 1 µL, com *split* 1:10. A curva padrão foi obtida com soluções de AGCC (Volatile Acid Standard Mix, Sigma - Aldrich St. Louis, MO, USA) em concentrações de 0,9 a 6,00 mM e ácido 2-metil-valérico 0,1% (Sigma - Aldrich St. Louis, MO, USA) como padrão interno (PI). Os parâmetros utilizados nesta análise foram adaptados de acordo com as indicações de uso da coluna.

3.4. Ensaio de curta duração com voluntários – protocolo experimental

Foram realizados ensaios de curta duração com voluntários saudáveis visando avaliar a resposta glicêmica após o consumo das amostras, de acordo com o protocolo da FAO (FAO/WHO, 1998; BROUNS et al., 2005).

Os ensaios só foram iniciados após aprovação do projeto no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FCF/USP, de acordo com as normas da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde (CONEP/MS). Todos os indivíduos que concordaram em participar desse ensaio assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido que os permitia desistir a qualquer momento e que esclarecia o delineamento do ensaio e seus riscos.

Durante a seleção dos voluntários, foram excluídos indivíduos com: sobrepeso/obesidade ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$) e baixo peso ($IMC \leq 18,6 \text{ kg/m}^2$), segundo critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1997); diagnóstico prévio de diabetes mellitus ou familiares portadores; relatos de doença, gravidez e tratamento

de qualquer espécie. Ao final dessa seleção, restaram 20 voluntários, com idades entre 21 e 39 anos, de ambos os gêneros, que foram orientados a comparecer em jejum de 12 horas ao laboratório uma vez por semana, durante o período de 1 mês. Em cada um desses dias, sua glicemia foi tomada em jejum (tempo 0) e em 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos após o consumo dos alimentos testados. Os voluntários tiveram de 10 a 15 min para consumir cada porção de pão branco (61 g), barras controle (73 g) ou barras FBV (67 g), que continham exatamente 25 g de carboidratos disponíveis, com 250 mL de água. Ao final de cada ensaio, um lanche era oferecido aos participantes.

Durante os ensaios com alimento referência, voluntários que apresentaram respostas glicêmicas muito discrepantes após o consumo de pão em dias diferentes e voluntários com glicemia de jejum > 5 mmol/L foram excluídos das etapas posteriores utilizando as barras de cereais, totalizando 16 voluntários com idade média de $26,20 \pm 3,49$ anos.

3.4.1. Quantificação de glicose plasmática

A glicose sanguínea foi determinada (duplicata) por método enzimático (glicose oxidadase/ peroxidase) no sangue capilar (BROUNS et al., 2005). Para a punção capilar foi utilizado o lancetador Accu-Chek® Softclix® Pro-Roche. Esse lancetador permite obter uma gota de sangue da ponta dos dedos das mãos de forma higiênica e indolor; bem como possibilita selecionar a profundidade de penetração correta da lanceta descartável (Accu-Chek® Softclix® Pro-Lancet Roche), a qual foi trocada a cada coleta de sangue. O aparelho para quantificação de glicose utilizado foi o Accu-Chek® Go-Roche. Os valores foram expressos em mmol/ L de plasma ou sangue.

3.4.2. Determinação da resposta glicêmica

O índice glicêmico (IG) das barras de cereal foi determinado de acordo com o protocolo proposto pela FAO (FAO/WHO, 1998; BROUNS et al., 2005). Para cada curva glicêmica individual de voluntário, a área incremental sob a curva foi calculada geometricamente, aplicando-se a regra trapezoidal e ignorando-se as áreas abaixo da linha do jejum. O valor da área total do pão foi determinado e considerado como referência (100%), e os valores das áreas calculadas para cada

barra de cereal foram expressos como porcentagem em relação à área do alimento referência (pão).

Para se determinar a carga glicêmica (CG) das barras de cereais, o IG do alimento foi multiplicado pelo conteúdo de carboidrato disponível de cada porção consumida e, então, dividido por 100 (LIU et al., 2000), como mostra a equação abaixo:

$$CG = (IG \times \text{gramas de carboidrato "disponível" por porção}) / 100$$

Para a obtenção do valor de IG (com glicose como referência), o valor de IG (com pão como referência) deve ser multiplicado por 0,7.

3.5. Análise estatística

Os dados das análises químicas foram expressos como média $\pm$ DP (desvio padrão) ou média $\pm$ SEM (erro padrão) para IG e CG.

Os testes de correlação realizados foram feitos assumindo-se que $r^2 > 0,75$ indica correlação forte, $0,75 > r^2 > 0,25$ indica uma correlação fraca e, por fim, $r^2 < 0,25$ indica correlação nula.

Para comparações entre 3 grupos ou mais foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA). Como teste *post-hoc* foi utilizado o teste Tukey. Para comparação entre dois grupos foi realizado o teste t de Student.

As diferenças entre as médias foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

Como recurso para as análises foi utilizado o programa Statistica 8.0, StatSoft® (Tulsa, OK, USA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição química das barras

A composição centesimal e o conteúdo de carboidratos das barras controle e barras FBV estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Composição química das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) (g/100g base integral)

	Barras controle	Barras FBV
Valor energético ¹	174 (729) ^a	181 (761) ^b
Umidade	13,08 ± 0,80 ^a	13,00 ± 1,17 ^a
Lipídios	1,60 ± 0,11 ^a	1,41 ± 0,07 ^a
Cinzas	1,03 ± 0,07 ^a	1,09 ± 0,06 ^a
Proteínas	5,62 ± 0,14 ^a	5,05 ± 0,07 ^b
Fibra alimentar (FA)	11,20 ± 1,0 ^a	10,97 ± 0,05 ^a
Amido total (AT)	31,93 ± 0,93 ^a	40,66 ± 0,82 ^b
Amido resistente (AR)	2,11 ± 0,11 ^a	7,22 ± 0,38 ^b
Amido disponível ²	29,82 ± 0,82 ^a	33,44 ± 0,44 ^b
Açúcares solúveis totais	4,38 ± 0,41 ^a	3,66 ± 0,30 ^a
Carboidratos não-disponíveis ³	13,32 ± 1,12 ^a	18,19 ± 0,26 ^b

¹ Valor energético expresso em kcal (kJ); ² amido disponível calculado a partir da diferença entre o conteúdo de AT e de AR; ³ carboidratos não-disponíveis calculados a partir da soma de AR e FA. Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05).

As barras FBV e controle não apresentaram diferenças estatísticas em relação ao conteúdo de lipídios, cinzas, fibra alimentar, açúcares solúveis e umidade. A concentração de proteínas foi superior nas barras controle, entretanto, as principais diferenças observadas foram entre as concentrações das diferentes frações de amido das amostras. As barras FBV possuem mais amido resistente, amido total, amido disponível e carboidratos não-disponíveis em relação às barras controle. O valor energético das barras FBV foi também um pouco superior, possivelmente pela maior concentração de amido total e amido disponível.

O conteúdo de AR das barras FBV também foi elevado e corresponde a 3,4 vezes mais AR que as barras controle, resultado decorrente da adição de FBV que contém elevada concentração de AR (56 g/100g de FBV na base integral). O AR, que apresenta efeitos fisiológicos semelhantes aos da FA (GRAY, 2006; BUTRISS; STOKES, 2008) e elevada fermentabilidade (TOPPING; CLIFTON, 2001; TOPPING; FUKUSHIMA; BIRD, 2003; BEARDS; TUOHY; GIBSON, 2010) também contribuiu para o elevado conteúdo de carboidratos não-disponíveis (soma de FA e AR) nas barras FBV, que foi 1,4 vezes maior do que nas barras controle.

No caso da FA, embora sua concentração seja elevada (aproximadamente 11 g/100g), o resultado foi semelhante nos dois tipos de barras (controle e FBV) e pode ser atribuído à forma como as barras foram elaboradas. Optou-se pela substituição proporcional de cada um dos ingredientes secos (flocos de arroz, aveia e banana seca) por FBV. Essa substituição proporcional dos ingredientes, que teve a finalidade de manter a aceitabilidade e as características físicas das barras FBV e facilitar seu manuseio durante o preparo, também fez com que as barras apresentassem concentrações semelhantes de FA, apesar da FBV conter elevado conteúdo de FA (8 g/100g na base integral).

Em ensaio realizado por Dan (2010), essa mesma FBV, foi acrescentada a refeições congeladas e ingerida durante 14 dias por voluntários saudáveis, proporcionando saciedade em duas refeições subsequentes e efeito positivo sobre o funcionamento intestinal. Assim, os resultados observados com refeições adicionadas de FBV somados aos resultados do presente trabalho, com barras elaboradas com FBV, sinalizam para um produto com características nutricionais positivas.

Para avaliar a contribuição nutricional dos dois tipos de amostras em uma dieta, os dados da tabela 1 foram utilizados para calcular o valor energético das barras e a porcentagem do valor diário de referência, em conformidade com as normas adotadas pela ANVISA para rotulagem de alimentos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2010). Esses valores estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Valor energético e conteúdo de macronutrientes por porção das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) e suas respectivas % do valor diário de referência (base integral)

	Quantidade por porção de 25 g (1 unidade)		% do valor diário de referência ¹	
	Barras Controle	Barras FBV	Barras Controle	Barras FBV
Valor energético ²	43 (182)	45 (190)	2	2
Lipídios (g)	0,40	0,35	1	1
Proteínas (g)	1,40	1,26	2	2
Carboidratos disponíveis (g)	8,55	9,28	3	3
Fibra alimentar (FA) (g)	2,80	2,74	11	11
Amido resistente (AR) (g)	0,53	1,81	-	-
Carboidratos não-disponíveis (g)	3,33 ³	4,55 ³	13 ⁴	18 ⁴

¹ Tendo como base uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ; ² valor energético expresso em kcal (kJ); ³ soma de FA e AR; ⁴ % do valor de referência dos carboidratos não-disponíveis calculados a partir do valor de referência para fibra alimentar.

De acordo com a tabela 2, tanto as barras controle quanto as barras FBV possuem baixo valor energético, baixo conteúdo de carboidratos não-disponíveis e uma concentração elevada de fibra alimentar, o que possibilita seu consumo em substituição a biscoitos e outros confeitos industrializados, como por exemplo a bolacha maisena, que é facilmente encontrada e que fornece 109 kcal e apenas 0,7 g de fibra alimentar em uma porção de 25 g (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2010).

Dessa forma, a elaboração de barras de cereais com FBV resulta em um produto alternativo para garantir a ingestão diária de FA, pois o consumo diário de duas barras FBV supre 36% das recomendações diárias de carboidratos não-disponíveis (FA e AR) e somente 4% do valor energético diário de acordo com as recomendações da ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2010).

Com a finalidade de comparar os resultados de valor energético, proteínas, lipídios, fibra alimentar e carboidratos (totais e disponíveis) da tabela 1 com a composição de outros produtos similares, foram coletadas informações

nutricionais de barras de cereais a partir de rótulos e da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2010). Estes resultados estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Conteúdo de proteínas, lipídios, fibra alimentar e carboidratos de barras de cereais comerciais, barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) (g/100g base seca)

	Energia kcal (kJ)	Proteínas	Lipídios	Fibra alimentar	Carboidratos	
					Totais	Disp.
Barras controle	200 (839)	6,47	1,84	12,89	54,66	39,35
Barras FBV	208 (875)	5,80	1,62	12,61	63,55	42,64
Barras <i>diet</i> sabor pêssego Nutry ¹	312 (1311)	5,14	1,97	14,38	91,22	76,84
Barras sabor banana Nutry ¹	388 (1630)	5,20	2,39	4,40	90,91	86,51
Barras sabor banana Ritter ¹	384 (1614)	7,07	3,46	6,61	87,89	81,28
Barras sabor banana aveia e mel Nutry ²	397 (1667)	4,96	1,35	2,14	91,33	89,19
Barras sabor banana aveia e mel Trio ²	413 (1734)	5,70	3,80	-	90,18	90,18

¹ Dados de barras comerciais obtidos na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2010). ² Dados de barras comerciais obtidos de rótulos.

Por meio da tabela 3 observa-se que as barras produzidas neste estudo possuem, menor conteúdo de lipídios e de carboidratos (totais e disponíveis) quando comparadas às barras comerciais. Essas diferenças têm impacto no valor energético das barras de cereais, sendo que nas barras controle e barras FBV os valores energéticos são de 1,5 a 2,0 vezes menores do que os valores energéticos das barras comerciais utilizadas nessa comparação. Além disso, as barras FBV e controle apresentaram conteúdo de FA de 2 a 6 vezes superior ao das barras comerciais.

Essas diferenças são menores quando comparamos as barras produzidas com a barra de cereais *diet* sabor pêssego da Nutry, que também possui elevado conteúdo de fibra alimentar. Nesse caso, é possível observar que as barras analisadas apresentam uma composição bem próxima da observada na barra comercial *diet*, que pode ser decorrente dos ingredientes utilizados, uma vez que as amostras foram elaboradas sem a adição de óleos, gorduras ou açúcares e com diversos ingredientes que são fontes de fibra alimentar.

Com as informações obtidas nas tabelas 1, 2 e 3, é possível concluir que as barras utilizadas nesse estudo são alimentos de baixo valor energético e baixa concentração de lipídios, inclusive quando comparadas a barras comerciais. As barras produzidas também possuem conteúdo elevado de carboidratos não-disponíveis (FA e AR), sendo que as barras FBV se destacam por sua elevada concentração de AR. Assim, essas barras, em especial as barras FBV, podem ser incluídas na alimentação de seres humanos como fonte de carboidratos não-disponíveis, sem causar um grande impacto em relação ao valor energético da dieta.

4.2. Fermentação *in vitro*

Muitos trabalhos da literatura associam a fermentabilidade de um substrato à sua capacidade de produzir ácidos graxos de cadeia curta *in vitro*, isto é, quanto mais AGCC um substrato produzir após ser fermentado, maior será a sua fermentabilidade (TOPPING; CLIFTON 2001). No presente trabalho, além da quantificação dos AGCC, outros parâmetros foram avaliados como indicativos da fermentabilidade da fração não-disponível (FND) das amostras, como a alteração no pH, quantidade de resíduo não-fermentado (RNF) e aumento da pressão nos frascos (CAMBRODÓN; MARTIN-CARRÓN, 2001; CARDENETTE, 2006).

Os substratos utilizados neste ensaio consistiram na FND total isoladas das amostras (barras controle e barras FBV) e lactulose, considerada referência de 100% de fermentabilidade. Esses substratos foram fermentados durante 24h em ambiente anaeróbio, com inóculo do conteúdo cecal de ratos Wistar.

4.2.1. Variação de pH, pressão e Resíduo não-fermentado (RNF)

Sabe-se que o pH possui uma função importante no controle da microbiota em diferentes partes do trato gastrointestinal, inclusive no intestino grosso (WALKER et al., 2005; BELENGUER et al., 2007). Alguns estudos mostram que o pH no cólon proximal de humanos normalmente é menor que no cólon distal e nas fezes, o que é considerado um efeito da maior fermentação de substratos nesta parte do intestino, o que resulta em maiores concentrações de AGCC e consequente diminuição do pH (MACFARLANE et al., 1992; NUGENT et al., 2001). Na tabela 4 estão apresentados os valores iniciais e finais de pH e sua variação (Δ pH) após 24 horas de fermentação *in vitro*.

Tabela 4 - Variação de pH durante a fermentação *in vitro* da lactulose e da fração não-disponível isolada de barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)

Substrato	pH 0h	pH 24h	Δ pH ¹
Lactulose	6,71 $\pm$ 0,03	6,02 $\pm$ 0,03	-0,69 $\pm$ 0,01
Barras controle	6,80 $\pm$ 0,04	6,53 $\pm$ 0,04	-0,27 $\pm$ 0,01
Barras FBV	6,77 $\pm$ 0,02	6,47 $\pm$ 0,04	-0,30 $\pm$ 0,03

¹ Δ pH é igual à diferença entre o pH 24 h e o pH 0h das amostras. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão.

Como era esperado, o pH ao início da fermentação ficou mais próximo da neutralidade e, após 24 horas de fermentação, devido à formação de AGCC e outros metabólitos, este pH ficou mais baixo do que o inicial.

Apesar de outros trabalhos relacionados à fermentação *in vitro* utilizarem inóculo e amostras diferentes, essa diminuição de pH entre o início e o fim da fermentação é observada em estudos que utilizam esse parâmetro. Recentemente, Timm et al. (2010) fermentaram *in vitro* diferentes substratos, como

dextrina de trigo, inulina e *psyllium*, utilizando inóculo de voluntários saudáveis. Neste estudo eles avaliaram, entre outros parâmetros, o pH das amostras, que variou entre 9,3 e 8,9 no início da fermentação para 5,9 e 6,2 após 24 horas.

Essa variação de pH pode estimular ou inibir o crescimento de determinados tipos de microbiota. Duncan et al. (2009) observando a presença de diferentes grupos de bactérias encontrados no intestino humano notaram que, em pH 6,5 (que é próximo ao encontrado nas barras controle e barras FBV), cerca de 80% da população bacteriana era composta por *Bacteroides ssp* que possuem mecanismos de aproveitamento de polissacarídeos solúveis, competindo com outras bactérias por este tipo de substrato. Em pH 5,5, essa proporção de *Bacteroides ssp* cai para 20%, confirmando o papel exercido pelo pH no perfil de bactérias que podem ser encontradas no intestino grosso.

Esse perfil da microbiota vai interferir no aproveitamento dos substratos durante a fermentação colônica. Uma maneira de avaliar esse aproveitamento *in vitro* consiste na quantificação do resíduo que permanece ao final da fermentação, chamado de resíduo não-fermentado (RNF). Este RNF é inversamente proporcional à quantidade de substrato fermentado e seus resultados estão apresentados na tabela 5, juntamente com os resultados de pressão obtidos após 24h de fermentação.

Tabela 5 – Pressão interna nos frascos e resíduo não-fermentado (RNF) após 24h de fermentação *in vitro* da fração não-disponível isolada das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)

Substratos	Pressão (kPa)	RNF (mg)
Lactulose	73,54 ± 5,27	9,97 ± 0,99
Barras controle	44,82 ± 0,00	28,27 ± 0,56
Barras FBV	48,26 ± 3,45	25,87 ± 1,05

Resultados expressos em média ± desvio padrão.

Sabe-se que diferentes substratos possuem velocidades e perfis de fermentação distintos. Em geral, fibras solúveis e AR são fermentados com mais facilidade do que as fibras insolúveis, que por sua vez atuam aumentando a velocidade do trânsito intestinal, por absorverem água e aumentarem a massa fecal

(CARDENETTE, 2006; WONG, 2006). Assim, substratos contendo maiores quantidades de fibra insolúvel gerariam mais RNF, enquanto fibras solúveis e AR seriam rapidamente fermentados e convertidos a outros metabólitos como AGCC e gases.

Os gases gerados durante a fermentação são os responsáveis pelo aumento da pressão interna nos frascos. Em seres humanos, a pressão gerada pelo aumento dos gases pode provocar efeitos indesejáveis, como cólicas e flatulência. A tolerância a esses efeitos depende de alguns fatores, como o equilíbrio entre a formação e a excreção de gases e o local onde a pressão dos gases é notada (TIMM et al., 2010). Apesar dos efeitos causados pelo aumento na produção de gases durante a fermentação colônica em seres humanos, poucos estudos *in vitro* consideram esta variável, dificultando a comparação entre esses dois modelos e inviabilizando inferências sobre que valores *in vitro* poderiam gerar desconforto *in vivo*.

Após a quantificação do RNF e determinação da pressão interna nos frascos e da variação de pH das amostras, estes parâmetros foram utilizados para determinar a fermentabilidade das amostras, utilizando a lactulose como referência. Os resultados estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 – Fermentabilidade da fração não-disponível isolada de barras de cereal controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)

Amostras	Fermentabilidade (%) ¹		
	Pressão ²	Δ pH ³	RNF ⁴
Barras controle	60,94 $\pm$ 0,00 ^a	38,61 $\pm$ 1,49 ^a	31,26 $\pm$ 0,62 ^a
Barras FBV	65,63 $\pm$ 4,69 ^a	43,07 $\pm$ 4,46 ^a	34,19 $\pm$ 1,39 ^b

¹ Calculada tendo os valores da lactulose como referência (100%); ² pressão em 24 h; ³(média de pH 24 h)-(média de pH 0 h); ⁴ Resíduo não-fermentado (RNF) = 100 x (massa seca final de resíduo após a fermentação) / (massa seca inicial de amostra). Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05).

De acordo com a tabela 6, as amostras de FND isolada das barras controle e das barras FBV apresentaram fermentabilidade semelhante segundo os parâmetros de pressão e variação de pH. Esses resultados podem ser ocasionados

pelo conteúdo semelhante de FA nas duas barras, mas mesmo nestes parâmetros, as barras FBV apresentaram uma tendência a ter maior fermentabilidade em comparação às barras controle, o que pode ser evidenciado pela maior fermentabilidade de acordo com o RNF, que pode ser ocasionada pelo AR presente nessas barras, que é um substrato que apresenta fermentabilidade elevada.

Embora os dados de fermentabilidade apresentados na tabela 6 não sejam suficientes para afirmar que existe diferença entre a fermentabilidade das barras, esses parâmetros ainda não são amplamente utilizados e o principal indicador de fermentabilidade *in vitro* continua sendo a produção de ácidos graxos de cadeia curta, que também foi analisada neste estudo (TOPPING; CLIFTON, 2001).

4.2.2. Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Para a quantificação dos AGCC das amostras em cromatógrafo a gás foi necessário determinar inicialmente os tempos de retenção e a curva padrão de concentração de cada um dos AGCC avaliados. Para isso, padrões de acetato, propionato e butirato foram injetados no cromatógrafo tanto isoladamente quanto misturados em diferentes concentrações junto ao padrão interno (PI). Esse procedimento, além de permitir a identificação dos tempos de retenção também possibilitou a padronização do tempo de corrida. Em seguida, a curva padrão de cada um desses AGCC foi obtida utilizando mix de AGCC em diferentes concentrações, mas com uma concentração fixa de PI para corrigir eventuais perdas durante a quantificação. Para cada curva de AGCC foi calculada a equação da reta e a correlação entre a concentração de AGCC e área de seu respectivo pico dividida pela área do pico do padrão interno. Os resultados podem ser observados na tabela 7.

Tabela 7 - Equações de reta e correlações de diferentes concentrações de AGCC, obtidas após análise em cromatógrafo a gás

AGCC	Equação da reta ¹	Correlação (r^2) ²
Acetato	$y = 13,148x + 0,5356$	0,9923
Propionato	$y = 8,3824x$	0,9633
Butirato	$y = 5,4167x$	0,9905

¹Em cada equação, x corresponde à área do pico de cada AGCC/ área do pico do PI e y indica a concentração do AGCC (mmol); ² $r^2 > 0,75$ indica correlação forte; $0,75 > r^2 > 0,25$ indica uma correlação fraca e $r^2 < 0,25$ indica correlação nula.

Todas as retas apresentaram correlação forte entre as áreas de picos dos diferentes AGCC/ área do pico do PI e a concentração desses AGCC na mistura, o que indica que as equações de reta obtidas podem ser utilizadas para determinar a concentração de cada AGCC, gerando resultados confiáveis.

Utilizando as equações da tabela 7 para determinar a concentração de acetato, propionato e butirato foi possível quantificar os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos durante a fermentação das amostras de FND da barras controle e FBV e da lactulose (tabelas 8).

Tabela 8 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta formados durante a fermentação *in vitro* da lactulose e da fração não-disponível isolada das barras de cereais controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) (mmol/g de substrato)

Amostras	Acetato	Propionato	Butirato	Total
Lactulose	$4,19 \pm 0,56$	$1,93 \pm 0,23$	$2,64 \pm 0,26$	$8,76 \pm 1,05$
B. Controle	$1,82 \pm 0,05$	$1,07 \pm 0,04$	$0,62 \pm 0,04$	$3,51 \pm 0,09$
B. FBV	$2,19 \pm 0,29$	$1,12 \pm 0,15$	$0,73 \pm 0,09$	$4,04 \pm 0,05$

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão.

A produção total de AGCC em fermentações *in vitro* varia de 0,4 a 14,2 mmol de AGCC por grama de substrato (CARDENETTE, 2006). O total de AGCC produzidos durante a fermentação das amostras ficou dentro deste intervalo, sendo que as barras FBV apresentaram um valor total de AGCC superior ao das

barras controle. A proporção molar de cada AGCC em relação ao total pode ser visualizada na tabela 9.

Tabela 9 – Perfil de ácidos graxos de cadeia curta formados durante a fermentação *in vitro* da fração não-disponível isolada das barras controle e barras FBV (barras elaboradas com farinha de banana verde)

Amostras	Proporção molar (%)		
	Acetato	Propionato	Butirato
B. Controle	51,86 ± 0,62 ^a	30,55 ± 0,96 ^a	17,59 ± 0,96 ^a
B. FBV	54,29 ± 1,44 ^b	27,68 ± 1,09 ^b	18,02 ± 0,49 ^a

Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

No intestino grosso, acetato, propionato e butirato são encontrados na proporção de 60:25:15, respectivamente (GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001). Essa proporção depende do substrato a ser fermentado e as barras FBV apresentaram proporções molares mais próximas daquelas encontradas para a FBV em análise realizada recentemente neste laboratório (58% de acetato, 21% de propionato e 21% de butirato), ou ainda da massa de banana verde estudada por Cardenette (2006), que apresentou proporções de 58% de acetato, 21% de propionato e 21% de butirato.

A principal diferença entre as barras de cereais com FBV e estes dados está na proporção de propionato, que foi superior nas barras de cereais, inclusive nas barras controle. Isso pode indicar que, entre os ingredientes utilizados na confecção das barras de cereal, existe algum substrato capaz de produzir propionato quando fermentado, possivelmente o sorbitol presente na calda que, segundo Beards, Tuohy e Gibson (2010) quando fermentado produz 23% de acetato, 42% de propionato e 35% de butirato.

Alguns trabalhos observaram um efeito butirogênico do AR quando fermentado. No entanto, neste trabalho, a proporção de butirato produzida foi semelhante nas barras estudadas que, no entanto, apresentaram diferentes proporções de acetato e propionato. Como o butirato é utilizado principalmente pelos colonócitos enquanto acetato e propionato são absorvidos e transportados pela veia porta até o fígado, essa diferença na proporção molar das barras de cereais deve

influenciar mais em aspectos sistêmicos associados aos AGCC do que em relação ao seu efeito no intestino (WONG, 2006).

Por fim, a fermentabilidade das barras de acordo com a produção de AGCC foi calculada e está apresentada na tabela 10.

Tabela 10 – Fermentabilidade da fração não-disponível isolada das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde) avaliadas pela produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Amostras	Fermentabilidade (%)
	AGCC totais ¹
Barras controle	40,02 ± 0,98 ^a
Barras FBV	46,08 ± 5,88 ^b

¹ Soma de acetato, propionato e butirato. Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05).

Como pode ser observado na tabela 10, as barras FBV apresentaram maior fermentabilidade de acordo com os AGCC produzidos. Uma vez que o principal parâmetro para avaliar a fermentabilidade de um substrato é a formação de AGCC, apesar dos outros parâmetros não terem apresentado diferença estatística (exceto pelo RNF), ainda assim é possível afirmar que a fermentabilidade das barras FBV foi maior do que as barras controle.

Essa fermentabilidade de 46% nas barras FBV representa um resultado semelhante ao que foi obtido após a fermentação de uma refeição congelada adicionada de FBV (45% de fermentabilidade), que tinha conteúdo de carboidratos não-disponíveis similar ao que foi encontrado nas barras de cereal (DAN, 2010). Nesse mesmo trabalho, as refeições utilizadas como controle (sem FBV) apresentaram fermentabilidade de 41%, o que mostra uma diferença de 4% de fermentabilidade entre refeição controle e refeição adicionada de FBV, que é consistente com a diferença de 6% encontrada nas barras de cereal.

Apesar de muitos grupos de pesquisa utilizarem métodos de fermentação *in vitro*, a falta de padronização e diferenças entre inóculos utilizados e condições de fermentação dificulta a comparação de resultados entre laboratórios e

muitas vezes dificulta a interpretação dos resultados obtidos. Por isso, seria interessante que fossem feitos esforços internacionais buscando a padronização de metodologias e parâmetros avaliados durante esse tipo de ensaio, de forma a facilitar a comparação de resultados obtidos por diferentes pesquisadores e possibilitar o aperfeiçoamento das técnicas utilizadas.

4.3. Resposta glicêmica

Em voluntários saudáveis, foi avaliado o efeito do consumo de barras de cereais controle, barras FBV e pão francês (alimento de referência) sobre a resposta glicêmica. As porções de pão e de barras de cereal que foram oferecidas aos voluntários nesses ensaios continham 25 g de carboidratos disponíveis (resultado da soma de amido disponível e açúcares solúveis), o que equivale em média a 61 g de pão, 67 g de barras com FBV ou 73 g de barras controle. A curva glicêmica dos voluntários foi obtida a partir da glicemia quantificada em diferentes tempos após o consumo de cada alimento (pão, barras FBV e barras controle). As curvas glicêmicas médias de cada um desses alimentos podem ser vistas no gráfico 1 e na tabela 11 que apresenta os valores médios de glicemia em cada tempo, com o respectivo erro padrão e a área produzida abaixo da curva glicêmica.

Gráfico 1 – Resposta glicêmica dos voluntários saudáveis (n=16) após o consumo de alimento referência e das barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)

Tabela 11 – Glicemia dos voluntários (em mmol/L) e ASC obtidas para o pão francês, barras controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)

Amostras	Tempo (min)							ASC ¹
	0	15	30	45	60	90	120	
Pão Francês ²	4,69 ± 0,33	5,02 ± 0,39	6,54 ± 0,87	7,06 ± 0,86	6,61 ± 0,96	5,60 ± 1,00	5,16 ± 0,73	142,28 ± 60,47 ^a
Barras FBV	4,69 ± 0,23	5,02 ± 0,47	6,71 ± 0,80	6,15 ± 0,74	5,23 ± 0,84	4,59 ± 0,50	4,64 ± 0,28	80,35 ± 43,72 ^b
Barras Controle	4,69 ± 0,21	5,11 ± 0,39	6,83 ± 0,44	6,83 ± 0,83	5,98 ± 0,85	4,98 ± 0,37	4,69 ± 0,21	110,13 ± 43,14 ^{a,b}

¹ Área sob a curva; ² alimento de referência. Resultados expressos em média ± erro padrão (SEM). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05).

Pode ser observado no gráfico 1 e na tabela 11, que as maiores glicemias foram obtidas após 45 minutos no caso do pão, enquanto nas barras FBV o pico glicêmico se deu após 30 minutos de sua ingestão. Embora o pico glicêmico produzido pelas barras FBV tenha ocorrido antes, ele foi menor do que os picos obtidos para o pão francês, resultando em uma área sob a curva menor do que a área observada com a curva do pão francês. As barras controle apresentaram características intermediárias, apresentando uma área sob a curva que pode ser considerada semelhante tanto à área do pão francês quanto das barras FBV.

Isso indica que, embora as barras controle e barras FBV apresentem diversas características similares, nessas últimas, a adição de FBV foi capaz de promover diferenças significativas em relação à sua resposta glicêmica quando comparada ao alimento de referência, o que não ocorre com as barras controle.

Essas características observadas após o consumo das barras de cereal, principalmente das barras com FBV, conferem a elas um IG inferior ao do pão, conforme pode ser observado na tabela 12.

Tabela 12 - Índice glicêmico (IG) e carga glicêmica (CG) das barras de cereal controle e barras FBV (elaboradas com farinha de banana verde)

Amostras	IG (pão) ²	IG (glicose) ³	CG ⁴
Pão francês ¹	100,0 ^a Alto	70,0 Alto	14,0 Média
Barras controle	85,5 ± 8,7 ^a Médio	59,8 Médio	5,0 Baixa
Barras FBV	58,5 ± 15,7 ^b Baixo	40,9 Baixo	4,0 Baixa

¹Alimento referência; ²resultados expressos em média ± erro padrão; ³para obter valores de IG (glicose) a partir do valor de IG (pão), multiplica-se esse valor por 0,7; ⁴CG obtida a partir do IG calculado em relação à glicose. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05). Para classificação do IG e CG foram utilizados valores de referência utilizados pelo SUGIRS (2005).

Valores de referência IG: controle glicose (IG=100): baixo≤55; 56≤médio≤69; alto≥70

Valores de referência CG: controle glicose (IG=100): baixo≤10; 11≤médio≤19; alto≥20

As barras FBV apresentaram baixo IG e CG enquanto as barras controle apresentaram IG médio, porém estatisticamente similar ao IG do pão que é classificado como um alimento de alto IG. Apesar disso, a CG das barras controle foi considerada baixa, possivelmente devido ao tamanho da porção. A adição de ingredientes como banana desidratada e flocos de arroz, que possuem carboidratos

de rápida digestão, para compensar a ausência de FBV nas barras controle pode ser responsável pelo maior IG dessas barras em relação às barras FBV

Ao comparar essas barras com outros dados de barras de cereais publicados na tabela de IG elaborada por Foster-Powel, Holt e Brand-Miller (2002) é possível observar que as amostras de barras FBV e até mesmo as barras controle possuem IG consideravelmente menor do que as barras comerciais desse estudo, cujos IG variam de 51 a 78% (utilizando glicose como controle). Essa diferença é mais acentuada ao comparar as cargas glicêmicas, uma vez que a CG das barras comerciais variam de 9 a 19, enquanto as barras aqui analisadas tiveram CG de 4.

Alguns autores observaram que dietas de baixo IG e ricas em carboidratos não-disponíveis podem melhorar a sensibilidade à insulina, alterar o metabolismo dos adipócitos em ratos e em humanos e promover a saciedade a partir de mecanismos envolvendo AGCC e a ativação do peptídeo YY, que é um hormônio anorexígeno (FORD; FROST, 2010). Estudos também relacionam dietas de alto IG e CG com o aumento dos níveis de lipídios séricos e com o aumento do risco de doenças coronarianas (DENOVA-GUTIÉRREZ et al., 2010; HARDY et al., 2010). No entanto, as informações disponíveis sobre os efeitos de dietas de baixo IG e CG ainda são controversas e mais estudos envolvendo os possíveis benefícios dessas dietas necessitam ser realizados para esclarecer seus efeitos.

Vale ressaltar ainda que, durante o ensaio com voluntários, as barrinhas apresentaram boa aceitação, embora esta aceitação tenha sido relatada de forma informal. Mesmo consumindo porções maiores do que o habitual, em geral não houve reclamações por parte dos voluntários em relação às amostras e nem foram observados efeitos adversos após o seu consumo, indicando que essas barras podem apresentar boa aceitação quando comparadas a barras comerciais.

Desta forma, a adição de FBV nas barras de cereais contribuiu para que elas apresentassem baixo IG em relação às barras controle e ao pão francês. Os resultados obtidos nesse estudo mostram que, possivelmente as barras FBV ao serem incorporadas na dieta, podem contribuir positivamente no controle glicêmico, bem como podem auxiliar na saciedade e funcionamento intestinal por seu elevado conteúdo de carboidratos não-disponíveis (FA e AR) e pela elevada fermentabilidade dos carboidratos não-disponíveis presentes.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As barras utilizadas nesse estudo são produtos com baixa concentração de lipídios, reduzido valor energético e conteúdo elevado de carboidratos não-disponíveis (FA e AR), destacando-se as barras FBV por sua elevada concentração de AR. Assim, essas barras, principalmente as barras FBV, podem ser incluídas na alimentação de seres humanos como fonte de carboidratos não-disponíveis, sem causar um grande impacto em relação ao valor energético da dieta.

As barras FBV apresentam maior fermentabilidade *in vitro* quando comparadas às barras controle, produzindo mais AGCC e gerando menos RNF. Dessa forma a adição da FBV às barras de cereal sinaliza para uma possível fermentabilidade *in vivo*.

A adição de FBV nas barras de cereais contribui para proporcionar baixo IG em relação às barras controle e ao pão francês. Os resultados obtidos nesse estudo mostram que, possivelmente as barras FBV ao serem incorporadas na dieta, podem contribuir positivamente no controle glicêmico, bem como podem auxiliar na saciedade e funcionamento intestinal por seu elevado conteúdo de carboidratos não-disponíveis (FA e AR) e pela elevada fermentabilidade desses carboidratos.

Por estes atributos, seria interessante que projetos futuros buscassem comparar as barras FBV com outros produtos disponíveis no mercado, incluindo testes de aceitabilidade das barras entre os consumidores e verificando a viabilidade de comercialização deste tipo de produto. Novas preparações elaboradas com FBV também poderiam ser estudadas, ampliando a utilização deste ingrediente funcional.

6. CONCLUSÃO

A elaboração de barras de cereais com farinha de banana verde (barras FBV) proporciona um produto de baixo IG e baixa CG, com elevado conteúdo de AR e de carboidratos não-disponíveis (FA e AR), baixo valor energético e elevada fermentabilidade *in vitro*. Dessa forma, nas condições descritas, a FBV pode ser considerada um ingrediente funcional, que amplia as opções de produtos com perfil nutricional adequado.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Você sabe o que está comendo? Manual de orientação aos consumidores. Educação para o consumo saudável. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/299e50804004751bad1fafee27e7f6ac/guia_bolso.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 14 ago. 2010.

ASP, N.G. Resistant Starch-Proceedings from the second plenary meeting of EURESTA: European FLAIR Concerted Action, 11 on physiological implications of the consumption of resistant starch in man. Preface. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.46, S1, 1992.

BARBOSA, C.E.M. Barras de cereais: Lucre com esse mercado que cresce 20% ao ano. **Revista da Padaria Moderna**, v. 68, n. 8, ano 6, p.16-18, 2003.

BEARDS, E.; TUOHY, K.; GIBSON, G. Bacterial, SCFA and gas profiles of a range of food ingredients following *in vitro* fermentation by human colonic microbiota. **Anaerobe**. v.16, n.4, p. 420-425, 2010

BELENGUER, A. et al. Impact of pH on lactate formation and utilization by human fecal microbial communities. **Appl Environ Microbiol.**, v. 73, p. 6526–6533, 2007.

BJÖRCK, I. Starch: nutritional aspects. In: ELIASSON, AC., ed. **Carbohydrates in food**. Marcel Dekker, 1996, p.505-553.

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

BOUSTANI, P; MITCHELL, V.W. Cereal bars: a perceptual, chemical and sensory analysis. **British Food Journal**, v. 92, n. 5, p. 17-22, 1990.

BOWER, J.A.; WHITTEN, R. Sensory characteristics and consumer linking for cereal bar snack foods. **Journal of Sensory Studies**, v. 15, n. 3, p. 327-345, 2000.

BROUNS F. et al. Glycaemic index methodology. **Nutr Res Rev**, v.18, p.145-171, 2005.

BROWN, I.L. et al. High amylose maize starch as a versatile prebiotic for use with probiotic bacteria. **Food Australia**, v. 50, p. 602–609, 1998.

BUTTRISS J.L.; STOKES C.S. Dietary fibre and health: an overview. **Nutrition Bulletin**, v.33, n.3, p.186-200, 2008.

CAMBRODÓN, I.G.; MARTÍN-CARRÓN, N. Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. In: LAJOLO, F.M.; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E.W.; MENEZES, E.W. **Fibra dietética em Iberoamérica: tecnología y salud**. São Paulo: Varela, 2001. p. 311-38.

CARDENETTE, G.H.L. **Produtos derivados de banana verde (Musa spp.) e sua influência na tolerância à glicose e na fermentação colônica**. 2006. 146 f. Tese (Doutorado em Nutrição Experimental) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, **Report of the 30th session of the codex committee on nutrition and foods for special dietary uses**. África do Sul, 2008 (ALINORM 09/32/26).

CORDENUNSI, B.; SHIGA, T.; LAJOLO, F. Non-starch polysaccharide composition of two cultivars of banana (Musa acuminata L.: cvs Mysore and Nanicão). **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 26-31, 2008.

COSTA, L.A. et al. Desenvolvimento de alimento em barra à base de resíduo da fabricação de farinha de mandioca. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.16, n.4, p. 389-396, 2005.

COUTINHO, V.F.; MENDES, R.R.; ROGERO, M.M. Bioquímica e metabolismo de carboidratos. In: MAHAN, LK; ESCOTT-STUMP, EW. 11^a ed. **Krause - Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo: Ed. Roca, 2005. p. 21-53.

CUMMINGS, J.H. et al. Laxative properties of resistant starch. **Gastroenterology**, v.102, abstract A548, 1992.

CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. Colonic microflora: nutrition and health. **Nutrition**, v. 13, n. 5, p. 476-478 1997.

DAN, M.C.T. **Avaliação da potencialidade da farinha de banana verde como ingrediente funcional: estudo *in vivo* e *in vitro***. 2010. 120 f. Qualificação (Doutorado em Nutrição Experimental) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

DENOVA-GUTIÉRREZ E. et al. Dietary glycemic index, dietary glycemic load, blood lipids, and coronary heart disease. **J Nutr Metab**, v. 2010, p. 8, 2010

DEVRIES, J.W. Dietary fiber: the influence of definition on analysis and regulation. **J. AOAC Inter.**, v.87, n.3, p.682-706, 2004.

DUNCAN, S.H. et al. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**, v.11, n.8, p. 2112-2122, 2009.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA), Recursos Genéticos e Biotecnologia - **Cenargenda Online** - Ano I nº 31 - Semana de 8 a 14 de agosto de 2005.

ENGLYST, H.N. et al. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, v.107, p.307-318, 1982.

ENGLYST, H.N.; KINGMAN, S.M.; CUMMINGS, J.H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**. v. 46, n. 2, p. S33–50, 1992.

FASOLIN, L.H. et al. Cookies produced with banana meal: chemical, physical and sensorial evaluation. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, Campinas, v. 27, n. 3, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/ WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO) **Carbohydrates in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation**, Roma: Food and Nutrition Paper, FAO, 1998, 140p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 14 fev. 2010

FORD, H.; FROST, G. Symposium on 'Dietary management of disease' Session 3 (joint with the British Dietetic Association): Management of obesity glycaemic index, appetite and body weight. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.69, p. 199–203, 2010.

FOSTER-POWELL, K.; HOLT, S.H.A.; BRAND-MILLER, J.C. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. **Am J Clin Nutr**; v. 76, p. 5-56, 2002

FREITAS, D.G.C.; MORETTI, R.H. Caracterização e avaliação sensorial de barra de cereais funcional de alto teor protéico e vitamínico. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 26, n. 2, p.318-324, 2006.

GIBSON, G.R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. **Nutr Res Rev**, v. 17, p. 257–259, 2004.

GOÑI, I.; MARTÍN-CARRÓN, N. In: Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. In: LAJOLO, F.M.; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E.W.; MENEZES, E.W. **Fibra dietética em Iberoamérica: tecnología y salud**. São Paulo: Varela, 2001. p. 311-38.

GRAY, J. **Dietary fibre**: Definition, analysis, physiology and health. ILSI Europe Consise Monograph Series. Brussels, Belgium: ILSI Europe, 2006.

GUTKOSKI, L.C. et al. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v. 27, n. 2, p. 355-363, Campinas, abril/junho 2007.

HARDY D.S. et al. Association of glycemic index and glycemic load with risk of incident coronary heart disease among whites and african americans with and without type 2 diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities study. **Ann Epidemiol.**, v.20, n.8, p.610-616, 2010.

HIPSLEY, E. H. Dietary “fibre” and pregnancy toxæmia. **Brit. Med. J.** v.2, p.420, 1953.

HORWITZ W.; LATIMER G.W.Jr. (ed.). **Official methods of analysis of AOAC International**. 18th ed., revision 1. Maryland: AOAC International, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Banco de dados agregados, levantamento sistemático da produção agrícola – julho de 2009.**

Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

LEE S.C.; PROSKY L.; DEVRIES J.W. Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in foods. Enzymatic-gravimetric method, Mes-TRIS Buffer: collaborative study. **J AOAC Int**, v. 75, p. 395-416, 1992.

LIU, S. et al. A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. **Am J Nutr**, v. 71, p. 1455-1461, 2000.

LIVERSEY, G. Energy value of resistant starch. In: ASP, NG; VAN AMELSVOORT, JMM; HAUTVAST, JGAJ. eds, **Proceedings of the Concluding Plenary Meeting of EURESTA**, EURESTA, Wageningen, Holanda, 1994, p. 56–62.

MACFARLANE, G.T.; GIBSON, G.R.; CUMMINGS, J.H. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. **J Appl Bacteriol.**, v. 72, p. 57–64, 1992.

MARTEAU, P.; BOUTRON-RUAULT, M.C. Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, suplemento 2, p. s153-s157, 2002.

MARTIN, L.J.M.; DUMON, H.J.W.; CHAMP, M.M.J. Production of short-chain fatty acids from resistant starch in a pig model. **J Sci Food Agric**, v. 77, p. 71-80, 1998.

McCLEARY, B.V.; McNALLY, M.; ROSSITER, P. Measurement of resistant starch by enzymatic digestion in starch selected plant materials: collaborative study. **J AOAC Int**, v. 85, n. 5, p. 1103-1111. 2002;

McCLEARY, B.V.; ROSSITER P. Measurement of novel dietary fibres. **J AOAC Int**, v. 87, p. 707-711. 2004.

MCCREADY, R.M. et al. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. **Analytical Chemistry**. V.22, p. 1156-1158, 1950.

MENEZES, E.W.; LAJOLO, F.M. Marcadores *in vivo* e *in vitro* de carboidratos. In: LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. ed. **Carboidratos en alimentos regionales iberoamericanos. Proyecto CYTED/CNPq XI.18. Composición, Estructura, Propiedades Biológicas de Carbohidratos y su Utilización en Alimentos**. São Paulo: EDUSP, 2006. p. 309-334.

MENEZES, EW. et al. Measurement of carbohydrate components and their impact on energy value of foods. **J Food Comp Anal**, v. 17, p. 331-338, 2004.

MOTA, R.V. et al. Activity and expression of banana starch phosphorylases during fruit development and ripening. **Planta**, v. 216, n. 2, p. 325 – 333, 2002.

MURAKAMI, K. et al. Dietary fiber intake, dietary glycemic index and load, and body mass index: a cross-sectional study of 3931 Japanese women aged 18-20 years. **European journal of clinical nutrition**, v. 61, p. 986-995, 2007.

NOFRARÍAS, M. et al. Long-term intake of resistant starch improves colonic mucosal integrity and reduces gut apoptosis and blood immune cells. **Nutrition**, v. 23, p. 861-870, 2007.

NUGENT, S.G. et al. Intestinal luminal pH in inflammatory bowel disease: possible determinants and implications for therapy with aminosalicylates and other drugs. **Gut**, v. 48, p. 571–577, 2001

NUGENT, A.P. Health properties of resistant starch. **Nutrition Bulletin**, v. 30, p. 27-54, 2005.

PALAZZOLO, G. Cereal bars: they're not just for breakfast anymore. **Cereal Foods World**, v. 48, n. 2, p. 70-72, 2003.

PHILLIPS, G.O.; OGASAWARA, T.; USHIDA, K. The regulatory and scientific approach to defining gum Arabic (*Acacia senegal* and *Acacia seyal*) as a dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.24–35, 2008.

PRYDE, S.E. et al. The microbiology of butyrate formation in the human colon. **FEMS Microbiology Letters**, v. 217, p. 133-139, 2002.

ROBERFROID, M. Prebiotics: The concept revisited. **Journal of Nutrition**, v. 137, p. 830S-837S, 2007.

SAURA-CALIXTO, F. et al. *In vitro* determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. **J Agric Food Chem**, v. 48, n. 8, p. 3342-3347, 2000.

SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Determination of b-carotene and lutein available from green leafy vegetables by an *in vitro* digestion and colonic fermentation method. **J Agric Food Chem**, v. 53, n. 8, p. 2936-2940, 2005.

SILVA, I.Q. et al. Obtenção de barra de cereais adicionada do resíduo industrial de maracujá. **Alim. Nutr.**, Araraquara v.20, n.2, p. 321-329, 2009.

TIMM, D.A. et al. Wheat dextrin, psyllium, and inulin produce distinct fermentation patterns, gas volumes, and short-chain fatty acid profiles *in vitro*. **J Med Food**, v.13, n.4, p. 961–966, 2010.

TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiol Rev**; v. 81, n. 3, p. 1031-1060, 2001.

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

TROWELL, H. C. et al. Dietary fiber redefined. **Lancet**, a: 967, 1976.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Tadini, C.; Lajolo, F.M.; Tribess, T.; Menezes E.W. **Processo de produção de farinha proveniente da banana verde**. BR n. PI 0705778-4 A2. 12 jul. 2007.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS. DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Versão 5.0. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela>>. Acesso em 10 fev. 2010.

VITTI, A. **Análise de competitividade das exportações brasileiras de frutas selecionadas no mercado internacional**. 2009. 106 f. Dissertação (Mestrado em Economia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

WALKER, A.W. et al. pH and peptide supply can radically alter bacterial populations and short-chain fatty acid ratios within microbial communities from the human colon. **Appl Environ Microbiol**. v. 71, p. 3692–3700, 2005.

WONG, J.M.W. et al. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. **J Clin Gastroenterol**, v. 40, p. 235-243, 2006.

ZHANG, P. et al. Banana starch: production, physicochemical properties and digestibility – a review. **Carbohydrates Polymers**; v. 59, p. 443-458, 2005.

ANEXO A

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 99/2008

São Paulo, 20 de outubro de 2008.

Ilmo(a). Sr(a).
Juliana Ferreira dos Santos
Orientador: Prof(a). Dr(a). Elizabete Wenzel de Menezes
FBA

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 20 de outubro de 2008, **APROVOU** o projeto "Avaliação in vivo e in vitro das propriedades de barras de cereais elaboradas com farinha de banana verde" (Protocolo CEP nº 475) apresentado por Vossa Senhoria.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Prof. Dra. Elvira Maria Guerra Shinohara
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
FCF/USP