UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ENTERAL
OTIMIZADA PARA O FERRO DIALISADO ATRAVÉS
DA APLICAÇÃO DE UM MODELO DE SUPERFÍCIE
DE RESPOSTA**

Luciana Bueno

**Tese para obtenção do grau de
Doutor**

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Célia Colli

**SÃO PAULO
2004**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ENTERAL
OTIMIZADA PARA O FERRO DIALISADO ATRAVÉS
DA APLICAÇÃO DE UM MODELO DE SUPERFÍCIE
DE RESPOSTA**

Luciana Bueno

**Tese para obtenção do grau de
Doutor**

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Célia Colli

**SÃO PAULO
2004**

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Bueno, Luciana
B928e Elaboração de uma dieta enteral otimizada para o ferro
dialisado através da aplicação de um modelo de superfície
de resposta / Luciana Bueno. -- São Paulo, 2004.
80p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos
e Nutrição Experimental.

Orientador: Colli, Célia

I. Tecnologia de alimentos I. T. II Colli, Célia.
orientador.

664 CDD

Luciana Bueno

**ELABORAÇÃO DE UMA DIETA ENTERAL
OTIMIZADA PARA O FERRO DIALISADO ATRAVÉS
DA APLICAÇÃO DE UM MODELO DE SUPERFÍCIE
DE RESPOSTA**

**Comissão Julgadora
Tese para a obtenção do grau de Doutor**

**Orientadora: Prof.^a Dr.^a Célia Colli
Orientador/ Presidente**

1º Examinador

2º Examinador

3º Examinador

4º Examinador

*Aos meus pais, José e Marli, e a
minha irmã, Viviane*

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
São Paulo

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realizar o curso de Pós-graduação.

À Professora Célia Colli, pela orientação e oportunidade de desenvolver o trabalho.

À Professora Inar Alves de Castro pela amizade e pela valiosa colaboração na metodologia estatística utilizada neste trabalho.

Aos Professores: Silvia Maria Franciscato Cozzolino, Fernando Salvador Moreno e Júlio Tirapegui pela colaboração prestada durante o curso;

Ao Hospital Universitário da Universidade de São Paulo pelo fornecimento dos módulos para dieta enteral.

À Bungue Alimentos Ltda pelo fornecimento das amostras de isolado protéico de soja e lecitina de soja.

À Support Produtos Nutricionais Ltda pelo fornecimento dos módulos de triacilglicerídeos de cadeia média e vitaminas.

À Novartis Consumer Health Ltda, em especial a Yara Carnevalli Baxter, Mônica M.S. Meale e Roseli Borghio do Departamento de Pesquisa Clínica pela amizade, apoio e colaboração em todos os momentos, vocês são ótimas.

À Helena Chiebao pela colaboração nas análises experimentais.

À Viviane Bueno pela pelas figuras ilustrativas.

À Maria Marta Camparoni e Aniella Camparoni pela colaboração na revisão do texto.

À Maysa Bueno Pacagnela pela colaboração na revisão do texto.

Às colegas do laboratório: Aline Amorim Guimarães, Andréa Galante, Cezar Henrique de Azevedo, Eliane Teixeira da Luz Mari, Fátima Sardinha, Hosana Gonçalves dos Santos, Karina Ochsenhofer, Luciana Setero, Liliana Mistura, Maria Lucia Cocato, Raquel Simões Mendes Neto.

À bibliotecária Leila Bonadio, da biblioteca do conjunto das Químicas da Universidade de São Paulo, pela assessoria e revisão das Referências Bibliográficas.

Aos secretários Mônica Dealis Perussi, Tânia Cacheiro e Rogério Simões.

Aos secretários do curso de Pós-Graduação Elaine Midore e Jorge A. de Lima.

Às funcionárias Maria de Lourdes Pedrosa (Lurdinha) e Joana Santos pela colaboração na limpeza dos materiais.

A todos os colegas do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, que de alguma maneira colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de estudos.

'Uma pessoa sábia está aberta a tudo o que vem ao seu encontro: tanto faz se parece ser bom ou mau, ela o enfrenta. Quando você se torna senhor da sua mente, nada, em si, é bom ou mau. Tudo o que acontece faz parte do seu destino'

Gurumayi Chidvilasananda

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 - NUTRIÇÃO ENTERAL E FÓRMULAS ENTERAIS	2
2.2 – O FERRO EM DIETAS ENTERAIS.....	6
2.3 – BIODISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES EM DIETAS ENTERAIS..	10
2.3.1 – INTERAÇÃO DO FERRO COM NUTRIENTES DA DIETA...10	
2.3.2 – INTERAÇÃO DO FERRO COM AS FIBRAS NAS DIETAS ENTERAIS.....	12
2.3.3 –TRIACILGLICERÓIS DE CADEIA MÉDIA EM DIETAS ENTERAIS.....	14
2.4 – MÉTODOS “IN VITRO” PARA DETERMINAÇÃO DO FERRO DIALISADO.....	16
2.5 – METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	17
3 - OBJETIVO GERAL.....	19
4 – MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 – MATERIAL	20
4.2 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	25
4.2.1 – PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS.....	25
4.2.2 –FERRO TOTAL E FERRO DIALISADO.....	25
4.2.2.1 - LAVAGEM DO MATERIAL.....	25
4.2.2.2 – FERRO TOTAL.....	25
4.2.2.3 – FERRO DIALISADO.....	26
4.2.3 -- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	28
4.2.4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31

5 - RESULTADOS	32
5.1 – TESTES PRELIMINARES.....	32
5.2– FERRO TOTAL E DIALISADO.....	34
5.3 – MODELO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	35
5.4– CURVAS DE NÍVEL PARA O FERRO DIALISADO.....	38
5.5– OTIMIZAÇÃO DO FERRO DIALISADO.....	39
5.6 – VALIDAÇÃO DA RESPOSTA OTIMIZADA.....	40
5.7 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA "SOLUÇÃO DE COMPROMISSO".....	41
5.8 – FORMULAÇÃO DA DIETA ENTERAL OTIMIZADA PARA O FERRO.....	42
6 – DISCUSSÃO.....	43
7 - CONCLUSÃO.....	57
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
9 – APÊNDICE.....	71
I) – Mistura vitamínica utilizada na dieta experimental.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Forma, Fonte e Características dos Nutrientes	3
Tabela 2 – Alguns fatores promotores e inibidores do ferro não-heme.....	8
Tabela 3 - Formulação básica de dieta enteral elaborada no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo.....	20
Tabela 4 – Módulo Soyac.....	21
Tabela 5 – Composição estimada da Dieta Enteral Modular.....	22
Tabela 6 – Dieta experimental	23
Tabela 7 – Composição da mistura salina utilizada na dieta experimental.....	24
Tabela 8 – Formulações das dietas que compuseram o delineamento experimental.....	30
Tabela 9 – %FeD (% de ferro dialisado) em função da concentração de TCM.....	32
Tabela 10 - %FeD em função da concentração de fibra.....	32
Tabela 11 - %FeD em função da concentração de cálcio	33
Tabela 12 – Valores Mínimos e Máximos de TCM, Fibra e Cálcio utilizados no Delineamento Experimental.....	33

Tabela 13 – Valores de média, desvio padrão e número de determinações de ferro total para as dietas experimentais e para o controle.....	34
Tabela 14 - Ferro dialisado (%FeD) em dietas com diferentes proporções de TCM, fibra e cálcio.....	34
Tabela 15 – Análise de variância do modelo quadrático ajustado pelos dados experimentais	36
Tabela 16 – Análise dos coeficientes de regressão do modelo quadrático ajustado pelos dados experimentais.....	36
Tabela 17 – Valores de média e desvio padrão do ferro total e ferro dialisado obtidos através na reprodução da dieta enteral otimizada	40
Tabela 18 – Dietas Enterais: utilizada, dieta experimental e a otimizada para a máxima porcentagem do ferro dialisado (%FED).....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Absorção do Ferro não-heme.....	8
Figura 2 - Método de Determinação da Dialisabilidade do Ferro.....	27
Figura 3 - Delineamento "centróide-simplex"	29
Figura 4 – Interações binárias para a resposta ferro dialisado avaliados através do método "in vitro".	37
Figura 5 – Curvas de Nível para a Resposta do Ferro Dialisado.....	38
Figura 6 – Otimização da Resposta para o Ferro Dialisado.....	39
Figura 7 - Validação da Dieta Otimizada para o Ferro Dialisado.....	40
Figura 8 – "Solução de Compromisso" com os Três Nutrientes visando o Ferro Dialisado.....	41

Resumo

A terapia nutricional com dietas enterais vem se especializando muito nos últimos anos. Hospitais da rede pública e privada fazem uso dessas formulações que substituem a dieta tradicional para aqueles pacientes que precisam ser alimentados por sonda. Este trabalho teve por objetivo estudar o efeito dos componentes das formulações de dietas enterais: fibra, cálcio e triglicerídeos de cadeia média, visando otimizar uma formulação para a melhor dialisabilidade de ferro. A ferramenta utilizada foi a análise de múltiplas variáveis, através de modelos de Superfície de Resposta para Misturas. Os ingredientes utilizados para as formulações da dieta foram escolhidos de acordo com os comercializados nos módulos de dieta enteral padrão, com os quais foi feita uma dieta experimental e, em seguida, a aplicabilidade do delineamento experimental. Os resultados obtidos no modelo mostraram a dependência da resposta na proporção dos nutrientes que foram manipulados nas misturas elaboradas no delineamento experimental. No momento em que se obteve a curva de nível para o ferro dialisado, pode-se verificar que a interação binária fibra-cálcio foi a que mais apresentou sinergismo para a formulação avaliada. Diante dos fatos analisados, a melhor formulação de dieta enteral otimizada para a dialisabilidade do ferro foi a proporção de 60% de fibra e 40% de cálcio, mostrando ser essa a melhor formulação da dieta enteral para a dialisabilidade do ferro.

Abstract

The nutritional therapy with enteral diets has been getting specialized a lot last years. Public and private hospitals make use of those formulations to substitute the traditional diet for those patients who need to be fed by probe. This work's aim was to study the effect of the components of enteral diet formulation: fiber, calcium and medium-chain triglycerides, seeking optimize a formulation for the best dialysability of iron. The usage tool was the analysis of multiple variables, through models of Response Surface Methodology. The ingredients used for the formulations of the diet were chosen according to the ones commercialized in the modules of a standard enteral diet, with which it was made an experimental diet and, soon afterwards, the applicability of the experimental limits. The found results in the model have shown that it depends on the proportion of the nutrients that were manipulated in the experimental design. When the level curve was obtained for the iron dialysable, it could be verified that the binary interaction fiber-calcium was the one that presented more synergism for the appraised formulation. Before the analyzed facts, the best formulation of enteral diet optimized for the dialysability of the iron was the proportion of 60% of fiber and 40% of calcium, showing to be the best formulation of the enteral diet for the availability of the iron.

1 – INTRODUÇÃO

A terapia nutricional sofreu grandes avanços nos últimos tempos. Atualmente existem no mercado vários tipos de formulações de dieta enteral, além de nutrientes que passam por processos tecnológicos avançados, e, quando adicionados às dietas enterais, atingem alta qualidade. Porém, mesmo com esses recursos, ainda é grande o risco de pacientes apresentarem deficiências nutricionais, submetidos a esse tipo de alimentação.

Esse trabalho teve como principal meta propor uma formulação de dieta enteral que pudesse apresentar a melhor dialisabilidade de ferro, além de procurar compreender mecanismos interferentes na absorção do ferro, para que novas formulações sejam direcionadas a auxiliar no tratamento de pacientes que necessitam de um melhor aproveitamento do mineral, como nos casos de anemia ferropriva.

A proposta de se utilizar uma metodologia estatística de Superfície de Resposta para Misturas foi a possibilidade que ela pode oferecer em enriquecer a terapia nutricional, através de um estudo pioneiro, que se avaliasse com segurança o alcance de uma ferramenta como a que foi empregada no estudo, visando a aplicabilidade prática do desenvolvimento de uma formulação de dieta enteral.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - NUTRIÇÃO ENTERAL E FÓRMULAS ENTERAIS

A terapia nutricional com dietas enterais vem se especializando muito nos últimos anos. Hospitais da rede pública e privada fazem uso dessas formulações, que substituem a dieta tradicional, para aqueles pacientes que precisam ser alimentados por sonda.

A nutrição enteral é um método eficaz para assegurar um suporte nutricional adequado aos doentes graves com função gastrintestinal normal ou quase normal. O principal objetivo da nutrição enteral fornecida aos pacientes é a manutenção do estado nutricional básico para cada indivíduo, enquanto se combate a doença (SILK, 1999; WEIMANN et al., 1998; CZERMICHOW et al., 1996). A dieta enteral muitas vezes é o único meio de certos indivíduos receberem uma ingestão calórica e nutricional adequada.

O conceito da terapia nutricional, vigente no Brasil, foi regulamentado pela Anvisa- Portaria nº 449 que descreve: "Alimento para fins especiais, com ingestão controlada de nutrientes, na forma isolada ou combinada, de composição química definida ou estimada, especialmente elaborada para uso por sondas ou via oral, industrializados ou não, utilizado exclusiva ou parcialmente para substituir ou complementar a alimentação oral em pacientes desnutridos ou não, conforme suas necessidades nutricionais, em regime hospitalar, ambulatorial ou domiciliar, usando a síntese ou manutenção de tecidos, órgãos ou sistemas."

A formulação da dieta utilizada no trabalho foi a modular, que se caracteriza por uma mistura de módulos de nutrientes, onde seus ingredientes estão descritos na Tabela 1.

A proteína é digerida no trato gastrintestinal no estômago e absorvida na mucosa intestinal na forma de dipeptídeos, tripeptídeos ou aminoácidos livres. Quando a dieta enteral contém proteína intacta, o processo de digestão e

Tabela 1 – Forma, Fonte e Características dos Nutrientes

Forma	Fonte	Necessidade de digestão	Características
Proteína Intacta	IPS	Sim	Usada em pacientes com capacidade digestiva e absorviva normal do TGI; Promove maior estímulo na liberação de hormônios intestinais que os aminoácidos e são facilitadores da digestão; Promove maior estímulo de liberação de fatores de crescimento; Osmolaridade não alterada;
Polímeros de glicose	Maltodextrina	Sim	Maior absorção que a glicose livre na parte proximal do intestino delgado; Rápida hidrólise intestinal; Controle da diarreia e de constipação; Afetam a osmolaridade e a solubilidade;
Triacilgliceróis de cadeia longa.	Óleo de milho	Sim	Fornecem os ácidos graxos essenciais e produzem os eicosanóides; Auxiliam no transporte de lipídeos e de vitaminas lipossolúveis; Não afetam a osmolaridade;
	Óleo de canola		Triacilgliceróis reesterificados de cadeia média; Conteúdo de ácido linolênico que varia de 5-10%;
Triacilgliceróis de cadeia média	TCM	Não	Densidade calórica de 8,2 a 8,3 Kcal/g Auxilia nos processos de absorção de gordura; São rapidamente hidrolisados no intestino;
Goma Guar	Plantas	Sim	Devido ao aumento de massa bacteriana no cólon, maior peso fecal; Retardam o tempo de trânsito intestinal principalmente no cólon; Retardam o esvaziamento gástrico; Auxiliam a absorção de minerais no intestino delgado e de água e eletrólitos no cólon; Auxiliam a fermentação bacteriana no cólon, aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta na circulação;

Fonte: VASCONCELLOS, 2002; SILK, 1999; TORRE et al., 1995

absorção de proteínas não é diferente dos alimentos em geral que ocorre no estômago, pela ação do suco gástrico e de enzimas como a secretina e a colecistoquinina (CCK) (AIRES, 1999; SILK, 1999). Esses processos estão diretamente relacionados com a forma estrutural das moléculas de nitrogênio, ou seja, dispostas em formações de aminoácidos livres, ou em peptídeos tanto de cadeia curta ou longa ou ainda em grandes proteínas que se apresentam em estruturas tridimensionais, as chamadas intactas. Assim, essas estruturas, presentes em todos os tecidos, atuam no organismo formando anticorpos e enzimas, realizando atividades de coagulação e transporte, como também mediando quase todas as reações do organismo, como a contração muscular e o trofismo intestinal (WAITZBERG, 2004).

Pacientes com síndrome no intestino curto podem não ter uma ação satisfatória das enzimas proteolíticas pancreáticas que não são captadas pela hidrólise de pequenos oligopeptídeos sobre as proteínas. Por isso, muitos estudos se referem a dipeptídeos e tripeptídeos como sendo o ideal para formulações enterais como fonte protéica. Segundo Silk (1999) as proteínas hidrolisadas em dipeptídeos a pentapeptídeos resultaram em uma melhor absorção quando comparadas a proteínas maiores e aminoácidos livres, devido ao tempo em que o alimento leva para ser digerido, e conseqüentemente, absorvido pelo organismo.

Os carboidratos são adicionados as dietas para fornecer aos pacientes calorias e osmolaridade na dieta. Inicialmente, grandes volumes de dieta e alta osmolaridade fornecida a pacientes no estômago ou no jejuno pode ser prejudicial para aqueles indivíduos vagotomizados, esofagotomizados, gastrotomizados e disfunção intestinal porque a infusão pode induzir o transito rapidamente e causar a maabsorção de glicose, desconforto abdominal e diarreia (SILK, 1999).

Os pacientes com trato gastrintestinal normal hidrolizam rapidamente polímeros de glicose de cadeia longa. A maior parte da glicose é absorvida na parte proximal do intestino delgado. Os pacientes com insuficiência pancreática, que tem em sua dieta como fonte de carboidratos os oligossacarídeos, talvez possam hidrolisar e absorver glicose, no intestino delgado, através da ação da enzima alfa-dextrinase, na borda em escova (AIRES, 1999; SILK, 1999).

As gorduras utilizadas, nas formulações de dietas enterais, são triacilgliceróis de cadeia longa poliinsaturados ou triacilgliceróis de cadeia média, adicionados na forma de óleos vegetais como canola, girassol, soja e milho ou na forma de módulos isolados de cadeia média como os TCMs. Pode-se utilizar os óleos de palmiste ou de caroço de palma, como fonte de TCMs a serem incorporados nessas dietas.

Os óleos usualmente utilizados nas dietas enterais são o de milho ou de soja, por apresentarem em sua estrutura molecular os ácidos graxos poliinsaturados. Em algumas formulações são acrescentadas lecitina de soja para a emulsificação e homogeneidade da dieta, preparo este realizado para o momento em que se adiciona o solvente, o que favorece ainda mais a absorção pelo organismo. Os óleos que tem em sua estrutura os triacilgliceróis de cadeia média possibilitam, ao serem adicionados nas dietas, maior absorção por não necessitarem de nenhuma ação hidrolítica para serem absorvidos mesmo diante de um quadro clínico de má absorção (BACH & BABAYAN, 1982).

Para Weimann et al. (1998) o mais importante em estudos de dietas enterais é ressaltar que nenhum nutriente tem seu efeito desejado isoladamente mas uma mistura adequada de nutrientes pode beneficiar de modo satisfatório o estado clínico do paciente. Com isso, estudos de interações são importantes para mensurar interferentes e poder contribuir para avanços em terapias nutricionais.

Decorrente das múltiplas formulações de dieta enteral existentes no mercado, observa-se os vários fatores que podem orientar o profissional de saúde na escolha da dieta a ser ministrada a um determinado paciente tais como:

- as condições clínicas do paciente;
- os benefícios que a dieta pode fornecer ao paciente;
- os riscos que a dieta pode fornecer ao paciente.

A composição da dieta pode afetar as funções celulares e metabólicas do organismo, a resposta aos fármacos que são administrados, aos aspectos biológicos e integridade do sistema imunológico associado a doentes e traumatizados com elevado grau de stress metabólico (SILK, 1999)

A nutrição enteral é mais eficiente que a parenteral. Pois auxilia a manutenção do trato gastrointestinal, está associada à estrutura e a função do organismo humano, apresenta poucas complicações para os pacientes com esse tipo de intervenção, principalmente com relação à infecção e contaminação. A melhor tolerância do paciente a favor da dieta enteral foi observada através de refluxo gástrico, diarreia, distensão abdominal e constipação apresentada pelos pacientes em estudos comparativos com dietas parenterais em humanos (BRAUNSCHWEIG et al., 2001; HSU et al., 2000; WEIMANN et al., 1998).

Segundo vários autores, os cuidados com a elaboração das dietas, manipulação tanto no preparo quanto na distribuição aos pacientes (mesmo na utilização por sondas), armazenamento, condicionamento, temperatura e a água utilizada na formulação podem evitar contaminações que agravem o estado clínico dos pacientes (BRAUNSCHWEIG et al., 2001; HSU et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2000; WEIMANN et al., 1998).

O termo interação de um nutriente deve incluir tanto os efeitos antagônicos como sinérgicos de cada nutriente, atuando no metabolismo de cada indivíduo e são freqüentes quando apresentam comportamento físico-químico similar como, por exemplo, minerais traços (SANCHEZ-MORITO et al., 1999; CABALLERO, 1988)

2.2 – O FERRO EM DIETAS ENTERAIS

A anemia ferropriva é causada pela deficiência do mineral, e é um grave problema de saúde pública em países em desenvolvimento. Os programas para o combate de carências nutricionais tendem a estimular a fortificação de alimentos. O ferro, devido as interações entre nutrientes, tem se mostrado ainda deficiente nessas populações e o risco de doença aumenta mesmo em se tratando desse tipo de intervenção (SOLOMONS & RUIZ, 1997).

Em São Paulo, cerca de 40% das crianças tem anemia, e a prevalência da doença no Brasil é de 50% (OSÓRIO et al., 2001). Em recentes estudos,

observou-se que o metabolismo dos minerais não pode ser considerado de maneira isolada, e sim, visto de maneira ampla para que se possa compreender os mecanismos envolvidos na absorção desses nutrientes (GÁRCIA-AREAS et al., 2003).

Ao longo do tempo, indivíduos que por alguma razão estão sendo tratados com terapia nutricional, apresentam grandes riscos de desenvolver quadros de deficiências nutricionais, principalmente de minerais.

O ferro é o elemento chave para a manutenção metabólica e para a condição de vida do organismo humano. A absorção de ferro ocorre no intestino delgado no duodeno. Um dos fatores importantes para auxiliar esse processo está relacionado à secreção gástrica ácida do estômago. Existem receptores específicos para o ferro heme, na membrana borda em escova, que já foram identificados e permitem a passagem do elemento para dentro da célula (TAPIERO et al., 2001; BENITO & MILLER, 1998).

O ferro heme, nas carnes vermelhas e vísceras de animais, é absorvido diretamente pelas células da mucosa intestinal, após proteólise (TAPIERO et al., 2001; BENITO & MILLER, 1998; HURRELL, 1997).

Nutriente indispensável, além de exercer as funções de transporte de oxigênio no sangue (hemoglobina) e no músculo (mioglobina) o ferro faz parte de diversas enzimas relacionadas aos processos oxidativos e à proliferação celular (BENITO & MILLER, 1998; LYNCH, 1997). A quantidade de ferro recomendada numa dieta balanceada é de 6 a 8 mg/1000 cal, o que representa cerca de 10 a 15 mg de ferro por dia segundo a RDA de 1989.

A Dietary Reference Intake (2001) recomenda uma quantidade de ingestão diária de ferro de 3 a 8 mg/dia, variando de acordo com o estágio de vida e o sexo.

A absorção do ferro é influenciada pela reserva do mineral existente no organismo, por sua valência ou forma de ligação e pela presença de diversos fatores dietéticos que aumentam ou diminuem sua biodisponibilidade (BENITO & MILLER, 1998; LYNCH, 1997; REDDY & COOK, 1997).

A Tabela 2 apresenta alguns fatores promotores e inibidores da absorção do ferro não-heme, relacionado a variabilidade dos componentes presentes em dietas e alimentos, associado a biodisponibilidade do ferro pelo organismo.

Tabela 2 – Alguns fatores promotores e inibidores do ferro não-heme

Fatores Promotores	Fatores Inibidores
Glutamina	Dieta deficiente em carne e rica em cereais
Cisteína e produtos da digestão da carne	Tempo de trânsito intestinal rápido
Ácidos: cítrico, ascórbico, málico, láctico	Fosfatos, fitatos, oxalatos
Forma química (Fe^{2+} , Fe^{3+})	Sais Inorgânicos de Cálcio, Zinco e Cobre
Acidez gástrica	Chá e café (cafeína)
Frutose, Inulina	Alcalinização do meio
Produtos fermentados	Atrofia gástrica e acloridria
Fibra solúvel: goma guar, pectina	Fibra Insolúvel: polissacarídeos de soja, pectinas

Adaptação: FAIRWEATHER, 1995

Alguns fatores fisiológicos são importantes e necessários para a absorção do ferro não-heme: secreção de ácido clorídrico, retenção e mistura dos alimentos no estômago. Pacientes com acloridria, particularmente aqueles submetidos a extensa cirurgia gástrica, geralmente desenvolvem anemia por deficiência de ferro (OLIVARES et al., 1999; BENITO & MILLER, 1998; HURRELL, 1997; LYNCH, 1997), no entanto, a absorção de ferro heme aumenta com a presença de tecido muscular, provavelmente devido a produtos da digestão de proteínas que previnem sua polimerização (HURRELL, 1997).

O ferro está presente no alimento como Fe^{2+} , Fe^{3+} e Fe^{0+} (contaminação). O enterócito tem papel fundamental no metabolismo e no balanço do ferro no

organismo, constituindo-se na principal porta de entrada para este íon no organismo (HURRELL, 1997; CORNEAU et al., 1996).

A Figura 1 apresenta uma ilustração da absorção do ferro não-heme na célula do enterócito no intestino delgado.

Figura 1 - Absorção do Ferro não-heme

As dietas enterais têm complexidade química e biológica e o estudo dessas interações, principalmente de minerais, vem interessando pesquisadores da área de alimentos e nutrição, nos últimos 20 anos (PALLARÉS et al., 1999; SANCHEZ-MORITO et al., 1999; CABALLERO, 1988).

Clydesdale (1983) sugeriu o estudo dos minerais presentes nos alimentos para avaliar processos de interação e absorção, chamando a atenção para o cálcio como interferente na absorção do ferro.

De acordo com esses direcionamentos científicos, observou-se a necessidade de se avaliar diversas formulações com o propósito de serem

produzidas novas dietas enterais, preferencialmente específicas para cada tipo de patologia, visando contribuir para manter o estado nutricional de um paciente satisfatório, uma vez que se possa estimar a biodisponibilidade dos nutrientes envolvidos em uma mesma dieta e principalmente, conhecer as interações entre os componentes de uma mesma formulação.

2.3 – BIODISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES EM DIETAS ENTERAIS

A biodisponibilidade de minerais é geralmente definida pela medida da proporção do total do elemento contido no alimento, refeição ou dieta que é utilizada para a manutenção normal das funções do organismo. Para muitos minerais, a quantidade absorvida no trato gastrointestinal é o principal determinante da biodisponibilidade (HARVEY, 2001).

2.3.1 – INTERAÇÃO DO FERRO COM NUTRIENTES DA DIETA

Ferro heme e não-heme compõem o “pool” de ferro dos alimentos a ser absorvido no trato gastrointestinal. O ferro heme está contido em maior quantidade em alimentos derivados de produtos de origem animal, no qual está presente principalmente na hemoglobina e na mioglobina, sendo que cerca de 20 a 30% do ferro total contido no alimento é absorvido. O ferro não-heme, encontrado principalmente nas plantas, contém o ferro que complementa uma dieta e supre uma pequena porção a necessidade de ferro total ingerida diariamente, onde cerca de 1 a 10% do mineral presente nesses alimentos é absorvido pelo organismo (TAPIERO et al., 2001; BENITO & MILLER, 1998; LYNCH, 1997, WHARTON, 1992).

A presença de cálcio proveniente do alimento (leite, por exemplo) ou como sal inorgânico em uma refeição reduz a absorção de ferro não-heme. A causa dessa interferência é complexa e pouco compreendida (LYNCH, 1997).

O zinco é um outro mineral importante que deve ser avaliado em dietas enterais. Sua presença é essencial para o metabolismo normal e de grande valor na proteção das células contra radicais livres (NOH & KOO, 2001; WHITTAKER, 1998; TOBA et al., 1999; PERÉZ LLAMAS et al., 1997; SOLOMONS & RUZ, 1997; FAIRWEATHER-TAIT, 1995).

Do zinco ingerido contido nos alimentos ou em dietas, cerca de 20 a 40% são absorvidos e a diminuição da biodisponibilidade do mineral tem sido associada com os teores de fitatos, quantidades de ferro e compostos de estruturas complexas presentes nos alimentos e nas dietas, como por exemplo fibras (RIBEIRO, 2002; MANEIRO, 2002; MAFRA, 2001; SOLOMONS & RUZ, 1997).

Van Dyck et al. (1996) estudaram a influência dos componentes das dietas alimentares pelo método "*in vitro*" na biodisponibilidade de ferro, zinco e cálcio presentes em dietas enterais e concluíram que componentes vegetais como fibras e fitatos prejudicaram a absorção dos três nutrientes, principalmente o ferro e o zinco. O estudo também mostrou a interferência do ferro na presença de grandes quantidades de cálcio, indicando a interação entre os dois minerais.

Van Dukkum et al. (1996) ao avaliar a água mineral, rica em cálcio, ressaltou para aqueles que formulam dietas enterais que concentrações de cálcio elevadas podem prejudicar a biodisponibilidade do ferro nas dietas, devido a interação cálcio/ferro.

Segundo Pallarés et al. (1999) estudos realizados para serem observadas as interações ferro-cálcio, considerando a importância desses minerais na saúde dos indivíduos, mostraram que, na presença do cálcio houve uma diminuição significativa da absorção do ferro. As observações dessa interação foram importantes na prevenção da anemia, porém os estudos ainda são pouco abrangentes porque os mecanismos de interação ainda não são totalmente conhecidos.

A forma química dos minerais e fibras contidas em alimentos ou em dietas, principalmente na presença de oxalatos e fitatos, impedem a absorção de ferro, zinco, cobre e cálcio. Por isso, em dietas enterais, existe a preocupação de serem

adicionados substratos que não venham a impedir a biodisponibilidade de nutrientes, podendo ocasionar riscos de desnutrição de minerais essenciais para as funções metabólicas do organismo desses pacientes (SANCHEZ-MORITO et al., 2000; OLIVARES et al., 1999; PÉREZ-LLAMAS et al., 1997; CORNEAU et al., 1996, TORRE et al., 1995; TOMA & CURTIS, 1996).

2.3.2 – INTERAÇÃO DO FERRO COM AS FIBRAS NAS DIETAS ENTERAIS

As fibras vêm sendo adicionadas às dietas enterais em formulações mais recentes. A adição de polissacarídeos de soja, nas dietas enterais, foi proposta para regular as funções intestinais nos pacientes, diminuindo os riscos de esteatorréia e constipação, favorecendo principalmente a motilidade intestinal (SILK, 1999; CORNEAU et al., 1996).

É muito importante considerarmos na elaboração de uma dieta enteral o tipo e a quantidade de fibra a ser utilizada, mas deve-se ressaltar que a qualidade também é crucial, pois pode melhorar ou piorar a qualidade da dieta como um todo (CORNEAU et al., 1996).

De acordo com Toma & Curtis (1996) uma quantidade de fibra superior a 20g/dia adicionada à dieta, pode ocasionar efeito negativo na disponibilidade de ferro, zinco e cálcio, sendo esta considerada uma recomendação limite.

Segundo Sabotka et al. (1997) as fibras são classificadas em dois tipos distintos:

- as insolúveis que tem características estruturais complexas e ramificadas como as celulosas, as hemicelulosas, pectinas insolúveis e as ligninas;
- as solúveis que não apresentam estruturas complexas e nem ramificações como as pectinas, gomas, mucilagens, β -glicanos, exsudatos e hemicelulosas solúveis.

As fibras também podem ser classificadas em fermentáveis e não fermentáveis. As fibras fermentáveis são digeridas pela ação anaeróbica das

bactérias do colón produzindo ácidos graxos de cadeia curta, predominantemente o acetato, o propionato e o butirato. Esse último tem se mostrado um substrato energético de extrema importância, no irrigamento sanguíneo da região do colón, podendo até prevenir alguns tipos de colite e auxiliar na absorção de substratos nutricionais pelo colón, como os minerais (HOWARTH et al., 2001; DAVIDSON & MC DONALD, 1998; SABOTKA et al., 1997; TORRE et al., 1991).

As fibras solúveis, podem influenciar nos processos de motilidade, secreções gástricas e intestinais uma vez que aumentam a viscosidade do bolo alimentar, tornando a absorção mais lenta. As fibras também atuam na ação da atividade bacteriana no colón, auxiliando principalmente nos efeitos digestivos e absorptivos de substratos (GREGÓRIO et al., 2001; MARIOTTI et al., 2001; SILVA, et al., 2000, DAVIDSSON et al., 1998).

Segundo os trabalhos dos autores Sabotka et al. (1997) e Torre et al. (1991), a digestão e a absorção de macronutrientes pode ser modificada com a introdução de fibras dietéticas em dietas enterais, o que melhoraria o estado nutricional dos pacientes. A ação fisiológica da fibra dietética é baseada em quatro propriedades distintas: potencial de degradação por bactéria, solubilidade, capacidade de adsorção de moléculas orgânicas e de troca catiônica.

As fibras insolúveis não têm o papel de auxiliar tanto como as solúveis por suas características químicas de estruturas complexas e cadeias ramificadas. Elas interferem nas secreções endógenas e na hidrólise enzimática da borda em escova dos enterócitos, resumindo seus efeitos na ação direta ou indireta da regulação intestinal e funções do colón na ação bacteriana e no metabolismo de carboidratos e lipídeos (GREGÓRIO et al., 2001; MARIOTTI et al., 2001; SABOTKA et al., 1997; TORRE et al., 1991).

Portanto, em pessoas que são submetidas as dietas enterais como fonte de nutrientes, a fibra solúvel torna-se mais atuante que as insolúveis, no organismo, por suas características fisiológicas. A importância das fibras solúveis, na disponibilidade de minerais, tem auxiliado nos processos de absorção desses nutrientes, podendo reduzir os riscos de deficiência dos mesmos, causados, na

maior parte das vezes, pela dificuldade do aproveitamento e pelo tempo em que são submetidos ao aporte nutricional ou por traumas graves (MARIOTTI et al., 2001; GREGÓRIO et al., 2001; SILK, 1999; FROST & BIHARI, 1997; SABOTKA et al., 1997; VAN DYCK et al., 1996; TORRE et al., 1995, TORRE et al., 1991).

Segundo Waitzberg (2004) as fibras passarão obrigatoriamente a fazer parte das novas formulações de dietas enterais, devido as suas propriedades e principalmente os benefícios que podem produzir na saúde dos pacientes que são submetidos a terapia nutricional.

2.3.3 –TRIACILGLICERÓIS DE CADEIA MÉDIA EM DIETAS ENTERAIS

Outro componente que vem sendo usado nas formulações de dietas enterais são os triacilgliceróis de cadeia média (TCMs). As características das estruturas lipídicas moleculares dos TCMs são de apresentarem 6 a 12 carbonos. Mais solúveis em água e em solventes orgânicos do que os outros óleos, os TCMs são líquidos a temperatura ambiente. Os ácidos graxos podem ser saturados ou insaturados quando nas suas cadeia carbônicas apresentam (BACH & BABAYAN, 1982):

- saturados: ligações simples carbono-carbono, como os TCMs;
- insaturados: ligações duplas entre carbonos, como os monoinsaturados e os poliinsaturados.

As moléculas de triacilgliceróis de cadeia média, por serem menores que as de ácidos graxos de cadeia longa ou poliinsaturados, são mais facilmente e rapidamente hidrolisadas e por isso essas espécies de lipídeos têm a vantagem de ser mais rapidamente absorvidos no trato gastrointestinal, além de não necessitarem sofrer ação dos sais biliares e da lipase pancreática. Por não serem armazenados no fígado ou no tecido adiposo, são utilizados rapidamente em conjunto com a glicose, como fonte energética para o organismo. Também não necessitam da ação plasmática com a albumina, no metabolismo celular, e quando ativados na mitocôndria para a sua oxidação não necessitam do

transporte pela carnitina. Devido a essas características, sua utilização em dietas enterais visa pacientes com insuficiência pancreática ou outros quadros que afetem a absorção de lipídios pelo organismo (D' AGOSTINI, 2001; SILK, 1999; CZERNICHOW et al., 1996; BACH & BABAYAN, 1982).

Diversos autores, ao avaliarem lipídeos em dietas enterais, defendem a utilização de uma mistura contendo ácidos graxos de cadeia longa, principalmente, fonte de substâncias essenciais como o ácido linoléico que forma no organismo o ácido α -linolênico, um bioprecursor da síntese de eicosapentaenóico (EPA) e do docosaexaenóico (DHA), mediadores bioquímicos potentes específicos da família ω -3, com cerca de 25 a 50% de triacilgliceróis de cadeia média, no qual vem se observando a diminuição da incidência de quadros de intolerância em pacientes com má absorção, além de favorecer a entrada de nutrientes nas células dos enterócitos na borda em escova através da solubilidade dos triacilgliceróis de cadeia média (SILK, 1999; CZERNICHOW et al., 1996; BACH & BABAYAN, 1982).

É quimicamente interessante a mistura de triacilgliceróis de cadeia longa com os triacilgliceróis de cadeia média, porque esses últimos são facilmente incorporados ao glicerol hidrolizando e reesterificando a molécula de triacilglicerol, além de serem mais solubilizados e provocarem rápida hidrólise e absorção lipídica, diminuindo a intolerância gastrointestinal em pacientes com má absorção que passam a apresentar maior tolerância ao receber a dieta enteral (TSO et al., 1999; SILK, 1999).

Weimann et al. (1998) estudaram pacientes submetidos a dieta enteral hospitalizados com quadro de trauma recente (<24h), onde as dietas normoproteicas foram separadas em dois tipos: uma dieta controle e a outra enriquecida com ácidos graxos ω -3, na concentração de 10% do total de lipídeos da dieta, l-arginina e nucleotídeos (RNA). A duração do experimento foi de 8 dias e os pacientes que receberam a dieta diferenciada apresentaram efeitos benéficos estatisticamente significativos de tolerância (suportaram maior quantidade de dieta e não apresentaram rejeição da mesma), e avanços de melhora da integridade

das funções metabólicas no quadro clínico, comparados com o início do tratamento.

2.4 – MÉTODOS “IN VITRO” PARA DETERMINAÇÃO DO FERRO DIALISADO

Os métodos “in vitro” de avaliação da biodisponibilidade de ferro são relativamente simples, rápidos e baratos, relacionando-se com a biodisponibilidade “in vivo” e constituem-se numa simulação da digestão gástrica e duodenal, seguida de diálise. A proporção do elemento difundida através da membrana semipermeável, durante o processo, representa a dialisabilidade do elemento, após um período de equilíbrio, sendo utilizado como estimativa da biodisponibilidade do nutriente (CHIPLONKAR, et al., 1999; LUTEN et al., 1996; MILLER et al, 1981).

Luten et al. (1996) em um estudo interlaboratorial utilizando a comparação dos métodos “in vitro” e “in vivo” para avaliar a absorção do ferro, observaram uma correlação estatisticamente significativa indicando que os resultados obtidos através do emprego do método “in vitro” podem ser extrapolados para seres humanos, se tratando do ferro não-heme, por não sofrerem interferência enzimática ou de condições típicas do trato gastrointestinal, pois os interferentes são provenientes da variabilidade dos componentes da dieta. No entanto vários autores ressaltam que para o ferro heme seriam mais indicados os métodos de cultivo de células Caco 2, para melhor compreensão dos mecanismos de absorção, pois os interferentes são provenientes das condições do trato gastrointestinal (LATUNDE-DADA et al., 1998; HURREL, 1997; LUTEN et al., 1996; NAVARINGA RAO, 1994).

Alguns autores, ao estudarem vários tipos de dietas e alimentos com o propósito de mensurar a dialisabilidade do ferro e zinco em diferentes concentrações e componentes, comparando os métodos “in vitro” e “in vivo”, mostraram uma correlação estatisticamente significativa de $r=0,94$ e $r=0,96$ para o ferro e $r=0,92$ para o zinco, mostrando que os métodos “in vitro” podem ser

extrapolados para humanos uma vez que se reproduzam as condições do sistema digestório humano (CHIPLONKAR et al., 1999; KHOKHAR & PUSHJANJALLI, 1996).

Com relação a biodisponibilidade do ferro em dietas, o sulfato ferroso foi avaliado pelos métodos "*in vitro*" e "*in vivo*", em um modelo de análise compartimental utilizando radioisótopos, e houve uma correlação estatisticamente significativa entre os dois métodos de $r=0,9995$, o que propõe que os resultados obtidos dos métodos "*in vitro*" podem refletir a absorção do ferro não-heme em humanos (NAVARINGA RAO, 1994).

2.5 – METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

A metodologia de superfície de resposta (RSM) vem sendo proposta para a otimização de formulação de alimentos. Segundo Castro et al. (2000) tem uma eficiência maior quando comparada aos métodos tradicionalmente aplicados. A modelagem normalmente é feita buscando-se ajustar as funções polinomiais aos resultados experimentais obtidos a partir de planejamentos fatoriais. A otimização se dá ao longo do caminho de máxima inclinação do modelo adequadamente ajustado, que é a trajetória na qual a resposta varia de forma mais pronunciada (BARROS NETO et al., 2001).

Para o ajuste dos dados experimentais com a técnica de RSM, busca-se a aplicação do método dos mínimos quadrados para estimar o modelo preditivo aos dados experimentais, e, para isso, a análise de regressão e de variância se faz necessária, nas quais é possível se observar a magnitude dos efeitos e das interações decorrentes da influência dos diferentes fatores estudados. Também é importante a observação dos contornos demarcados na curva de nível possibilitando o melhor caminho para a maximização da resposta a ser avaliada (BOTA et al., 2000; SPRUMONT et al., 2000; JOSHI et al., 1998).

A análise de dados experimentais, através de modelos preditivos obtidos por metodologia de RSM, se correlaciona aos obtidos por ensaios experimentais

convencionais, enfatizando a vantagem em se aplicar a RSM quando se busca a otimização, visando a maximização de uma determinada resposta com menor número de experimentos, além da obtenção de resultados confiáveis e de aplicabilidade na padronização de desenvolvimentos de processos analíticos (BOTA et al., 2000; D'ANGELO et al., 1998; JOSHI et al., 1998).

O problema que os pesquisadores de alimentos enfrentam é a complexidade de seu objeto de estudo que abrange aspectos funcionais, nutricionais e sensoriais dos alimentos e seus componentes. O emprego de técnicas de superfície de resposta e o tratamento de dados em conjunto, permitem uma abordagem mais eficiente, uma vez que a realização da análise multivariada pode permitir um melhor julgamento da importância de cada resposta, podendo auxiliar o pesquisador na tomada de decisão (SILVA et al., 2000).

Vários autores ao utilizarem a metodologia de superfície de resposta e otimização de experimentos para maximizar ou minimizar processos industriais ou analíticos, e para elaborações de formulações de alimentos na melhoria da qualidade nutricional, ressaltam as vantagens da aplicabilidade do delineamento experimental, onde os resultados mostraram maior rapidez na determinação quantitativa de interesse e a capacidade de determinação dos fatores sinérgicos ou antagônicos que influenciaram as respostas avaliadas, propondo a ampliação da utilização dessa ferramenta em diversos compostos e tipos de alimentos (CANETTIERI et al., 2002; CHIANG et al., 2001; BLOMBERG et al., 1999; CASTRO et al., 1999).

Azevedo (2001) avaliou a dialisabilidade do ferro em dietas enterais comercializadas e concluiu que a proporção de cálcio e ferro de 50:1 a 60:1 interfere fortemente na porcentagem de ferro dialisado. A concentração de triacilgliceróis de cadeia média apresentou forte correlação positiva com a dialisabilidade do ferro nas dietas enterais analisadas. De acordo com o mesmo autor, as fibras adicionadas a essas dietas, que na sua maioria são polissacarídeos de soja, interferem negativamente na disponibilidade de ferro para a absorção.

3 - OBJETIVO GERAL

Elaborar uma dieta enteral que apresente o máximo de dialisabilidade de ferro, variando a concentração dos componentes TCM, fibra e cálcio em uma formulação, utilizando a análise de múltiplas variáveis de superfície de resposta.

4 – MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – MATERIAL

Dieta Modular

A dieta enteral padrão usada no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo é composta dos módulos: **proteína** (contendo macronutrientes e micronutrientes), **carboidrato** (maltodextrina), **fibra** (goma guar parcialmente hidrolisada), **óleo de milho** (ou de soja) e **água filtrada** (Tabela 3). Os componentes são homogeneizados em liquidificador e a dieta é armazenada em congelador a -8°C por, no máximo, 10 horas.

Tabela 3 - Formulação básica de dieta enteral elaborada no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo

Módulos		g
Soyac ¹	proteína, carboidrato, gordura, minerais e vitaminas	180
Oligossac ¹	maltodextrina	35
Óleo de milho		5
Benefiber ²	goma guar parcialmente hidrolisada	10
Água filtrada		q.s.p
Total		1000

¹Oligossac e Soyac (Support Produtos Nutricionais Ltda)

²Benefiber (Novartis Consumer Health Ltda)

A Tabela 4 apresenta a descrição dos ingredientes presentes no rótulo do módulo Soyac, de acordo com o fabricante.

Tabela 4 – Módulo Soyac

Componentes	Valores em 100 (g) de pó	Valores em 1L de dieta diluída ⁶
Proteína Total (g)		
IPS ¹	17,00	31,00
Carboidrato Total (g)		
Maltodextrina	56,80	102,00
Gordura (g)		
Óleo de Canola	10,90	20,00
Óleo de Milho	4,60	8,00
TCM ²	2,70	5,00
Lecitina de soja	nc ³	
Minerais (mg)		
Sódio	256,00	461,00
Cloro	447,00	805,00
Potássio	390,00	702,00
Cálcio	235,00	423,00
Fósforo	327,00	590,00
Magnésio	64,00	115,00
Ferro	1,20	2,20
Zinco	2,00	3,60
Cobre	0,33	0,60
Manganês	0,49	0,80
Iodo	0,40	0,72
Vitaminas		
Vitamina A (µg – ER*) ⁴	285,00	513,00
Vitamina B1 (mg)	0,41	0,74
Vitamina B2 (mg)	0,51	0,92
Vitamina B6 (mg)	0,58	1,00
Vitamina B12 (µg)	0,54	0,97
Vitamina C (mg)	28,00	50,00
Vitamina D (µg TE) ⁵	45,00	81,72
Vitamina E (mg TE) ⁵	4,30	7,74
Vitamina K (µg)	20,00	37,00
Niacina (mg)	4,40	7,92
Ácido Pantotênico (mg)	2,00	3,60
Ácido Fólico (mg)	0,06	0,10
Biotina (mg)	31,00	55,00

¹IPS=Isolado Protéico de Soja²TCM= triacilgliceróis de cadeia média³nc = rótulo não apresenta a quantidade utilizada⁴ER=equivalentes de retinol⁵TE=dose diária recomendada pela DDR para adultos, E.U.A.⁶1 litro de dieta diluída apresenta 180g de pó

A composição nutricional estimada da dieta modular está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 – Composição estimada da Dieta Enteral Modular

Ingredientes	g/L
Proteínas	30,6
Carboidratos	137,2
Lipídios	37,8
Energia (Kcal)	1011,0

A dieta modular padrão, utilizada no Hospital Universitário, foi adotada como base para a formulação da dieta experimental a ser avaliada neste estudo, cuja composição está apresentada na Tabela 6.

Os ingredientes para a formulação dessa dieta experimental estão presentes nos módulos comercializados e foram selecionados a partir dos rótulos dos produtos. A fonte de proteína foi o isolado protéico de soja. Todos os outros ingredientes foram selecionados da mesma maneira: a maltodextrina, os óleos (canola, milho e TCM), os sais (que constituíram a formulação da mistura salina) e a mistura vitamínica.

A mistura salina adicionada à dieta experimental está descrita detalhadamente na Tabela 7.

Tabela 6 – Dieta experimental

Componentes	Valores em 100 (g) da mistura	Valores em 1L de dieta diluída ⁶
Proteína Total (g)		
IPS ¹	13,34	31,00
Carboidrato Total (g)		
Maltodextrina ²	59,12	137,40
Gordura (g)		
Óleo de Canola	7,74	18,00
Óleo de Milho	5,38	12,50
TCM ³	1,93	4,50
Lecitina de soja ⁴	1,30	3,00
Minerais (g)		
Mistura salina	2,15	5,00
Carbonato de cálcio	0,43	1,00
Vitaminas (g)		
Mistura vitamínica ³	4,30	10,00
Fibra (g)		
Goma guar parcialmente hidrolisada ⁵	4,30	10,00
Água destilada (g)		767,60
Total (g)	100,00	1000,00

¹Samprosoy NB 90 (Bungue Alimentos do Brasil Ltda.)

²Mor-Rex® 1920 (Corn Products Brasil-Ingredientes Industriais Ltda.)

³Support Produtos Nutricionais Ltda. A quantidade de cada item está descrita no Anexo 1

⁴Lecitina de soja (Bungue Alimentos do Brasil Ltda.)

⁵Novartis Consumer Health Ltda.

⁶1 litro de dieta diluída apresenta 232,4g de pó

Tabela 7 – Composição da mistura salina utilizada na dieta experimental

Sais	Valor em 100g da mistura salina	Elemento	Quantidade do elemento em 100g da mistura salina	Quantidade do elemento em 1L de dieta diluída ¹
FeSO ₄ .7H ₂ O	1,00 g	Ferro	200,00 mg	10,00 mg
MgCO ₃	8,00 g	Magnésio	2,29 g	115,00 mg
KH ₂ PO ₄	48,00 g	Fósforo	11,13 g	557,00 mg
		Potássio	14, 04 g	702,00 mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,316 g	Zinco	72,00 mg	3,60 mg
KIO ₃	0,024 g	Iodo	14, 40 mg	0,72 mg
MnSO ₄ .H ₂ O	0,054 g	Manganês	17, 64 mg	0,88 mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,046 g	Cobre	11, 88 mg	0,59 mg
NaCl	24,00 g	Sódio	9, 22 g	461,00 mg
		Cloro	14, 24 g	712,00 mg
Maltodextrina	18,56 g	Enxofre	66,00 mg	3,30 mg
Total	100g			

¹Diluição: 5g de mistura salina/1L de dieta

4.2 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.2.1 – PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

Os procedimentos analíticos foram realizados segundo as normas propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (1985) e AOAC (1995), com amostras em duplicatas ou triplicatas, utilizando-se a ração à base de caseína AIN – 93G (Reeves et al., 1993), como padrão de referência secundário.

4.2.2 – FERRO TOTAL E FERRO DIALISADO

4.2.2.1 - LAVAGEM DO MATERIAL

A vidraria foi colocada em banho de ácido nítrico 3,6 N por 24 horas e enxaguada em água desionizada e secada em estufa a 37°C. O controle de qualidade da água desionizada foi feito por meio da leitura da condutividade, sendo considerada adequada para o uso quando os valores fossem iguais ou inferiores a 1,0 µS à 25°C. Utilizou-se padrão de condutividade Digimed de 1,412 µS/cm a 25°C.

O liquidificador utilizado para homogeneização das dietas foi, primeiramente, lavado com detergente, em seguida, com uma solução de EDTA 1%, enxaguado com água desmineralizada por 10 vezes e seco.

4.2.2.2 – FERRO TOTAL

Para a determinação da concentração de ferro total presente nas dietas foi utilizado o método de Espectrometria de Absorção Atômica (EAA), segundo as normas da AOAC, 1995.

As dietas enterais foram digeridas com ácido nítrico (HNO₃) e ácido perclórico (HClO₄) em proporção de 5:1, a 100°C, em bloco digestor (Pyrotec®). As leituras das

amostras e das respectivas curvas padrão foram realizadas no Polarized Zeeman AAS Hitachi Z-5000, por chama e Ar/Acetileno oxidante, nas seguintes condições: lâmpada de cátodo oco, comprimento de onda de 248,3nm; fenda 0,2nm. A solução para curva-padrão do ferro foi preparada com o Cloreto Férrico Titrisol Merck® 9972 nos intervalos de concentração de 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; e 5,0 µg Fe/mL. Na análise do ferro total foi utilizado o padrão secundário AIN-093G.

4.2.2.3 – FERRO DIALISADO

Utilizou-se o método de Miller (1981) modificado por Luten et al. (1996) para a determinação do ferro dialisado que envolve a simulação da digestão gastrointestinal (gástrica e duodenal), seguida da determinação do ferro dialisável.

Em linhas gerais, a dieta foi submetida à digestão com pepsina, após acidificação do meio com HCl 6N até pH 2, seguida de digestão com pancreatina/bile, após a alcalinização do meio a pH 7, com NaHCO₃ contido em tubos de diálise.

No final do último período de digestão, os segmentos de tubos de diálise foram lavados com água desionizada e seu conteúdo colocado em balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume final completado com água desionizada, e mantidas em freezer até o momento da leitura.

A aplicabilidade do método do ferro dialisado pode ser observada no esquema apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Método de Determinação da Dialisabilidade do Ferro

4.2.3 -- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As variáveis independentes selecionadas neste estudo foram TCM (x_1), Fibra (x_2) e Cálcio (x_3). Tratando-se de uma formulação em pó para dieta enteral, as variáveis devem obedecer a relação $\sum_{i=1}^q x_i = 1,0=100\%$.

A equação polinomial, que descreve o modelo mais simples (linear) para se avaliar o efeito desses três componentes na resposta ferro dialisado, pode ser representada por: $y_i = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + e$, onde y_i representa a variável dependente “resposta” de interesse, b_0 e b_i são os coeficientes do modelo a serem estimados pelo método dos mínimos quadrados, x_i representa as variáveis dependentes codificadas e o e representa o erro aleatório.

Multiplicando-se b_0 pela identidade ($x_1 + x_2 + x_3$) e se isolando as variáveis, tem-se a chamada equação polinomial canônica de Sheffé ou polinomial $\{q,m\}$ onde q é igual ao número de componentes e m ao grau da equação. Neste caso teremos:

$$y_i = b^*_1 x_1 + b^*_2 x_2 + b^*_3 x_3, \text{ onde } b^*_i = b_0 + b_i \text{ (modelo linear)}$$

$$y_i = b^*_1 x_1 + b^*_2 x_2 + b^*_3 x_3 + b^*_{12} x_1 x_2 + b^*_{13} x_1 x_3 + b^*_{23} x_2 x_3, \text{ onde } b^*_i = b_0 + b_i + b_{ii} \text{ (modelo quadrático)}$$

$$y_i = b^*_1 x_1 + b^*_2 x_2 + b^*_3 x_3 + b^*_{12} x_1 x_2 + b^*_{13} x_1 x_3 + b^*_{23} x_2 x_3 + b^*_{123} x_1 x_2 x_3 \text{ (modelo cúbico)}$$

Portanto, para a estimativa do valor dos coeficientes b^*_i são necessários pelo menos três ensaios experimentais. Da mesma forma, para modelos mais complexos como o quadrático ou o cúbico especial, necessita-se de seis e sete ensaios, respectivamente. De forma geral, o emprego de técnicas de Superfície de Resposta, tanto para variáveis de misturas como de não-misturas, permite que o pesquisador inicie com um modelo complexo e siga simplificando, sem perda significativa de informações, respeitando dessa forma a aleatorização dos ensaios (BARROS NETO et.al., 2001; CASTRO, 1999; CORNELL, 1990).

Como o modelo cúbico especial requer um ensaio a mais do que o modelo quadrático, optou-se pela utilização de um planejamento experimental do tipo centróide-simplex com sete ensaios. Buscou-se posteriormente uma simplificação da equação, testando-se a significância (teste t) de seus coeficientes, analisando-se o resíduo e comparando a estatística F com alteração dos graus de liberdade do resíduo (BARROS NETO et al., 2001; CASTRO,1999).

A Figura 3 apresenta o delineamento "centróide-simplex" com as respectivas proporções das três variáveis independentes.

Figura 3 - Delineamento "centróide-simplex"

Dietas Proporções das variáveis na formulação

	TCM	Fibra	Cálcio
01	1,00	0,00	0,00
02	0,00	1,00	0,00
03	0,00	0,00	1,00
04	0,50	0,50	0,00
05	0,50	0,00	0,50
06	0,00	0,50	0,50
07	0,33	0,33	0,33

Sete dietas foram preparadas com base na dieta experimental elaborada a partir daquela utilizada no Hospital Universitário (Tabela 5), alterando-se apenas os ingredientes selecionados. A Tabela 7 apresenta a composição das sete dietas formuladas de acordo com o delineamento experimental. O óleo de milho e a maltodextrina foram utilizados para complementar as dietas, mantendo-se o mesmo aporte calórico.

Este procedimento permitiu que as sete dietas recomendadas no delineamento "centróide-simplex" mantivessem a mesma proporção de diluição final (232,4g de pó para 767,6g de água) e aproximadamente o mesmo valor calórico (kcal=1.011,0/kg)

As dietas foram, então, formuladas seguindo as proporções apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 – Formulações das dietas que compuseram o delineamento experimental

Ingredientes (g)	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5	Dieta 6	Dieta 7
(x_1, x_2, x_3)	(1,0,0)	(0,1,0)	(0,0,1)	(1/2, 1/2, 0)	(0, 1/2, 1/2)	(1/2, 0, 1/2)	(1/3, 1/3, 1/3)
IPS	31,0	31,0	31,0	31,0	31,0	31,0	31,0
Maltodextrina	148,4	131,4	131,4	139,9	131,4	139,9	137,0
Óleo de milho		17,0	17,0	8,5	17,0	8,5	11,3
Óleo de canola	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
TCM (x_1)	17,0			8,5		8,5	5,7
Lecitina de soja	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Fibra (x_2)		17,0		8,5	8,5		5,7
Mistura salina	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Carbonato de cálcio (x_3) ¹			17		8,5	8,5	5,7
Mistura vitamínica	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Água	767,6	767,6	767,6	767,6	767,6	767,6	767,6
Total (g)	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0

¹Mistura de carbonato de cálcio contendo 15,0g de maltodextrina e 2,0g de carbonato de cálcio

4.2.4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

A estimativa do valor dos coeficientes de todas as regressões foi obtida pelo método dos mínimos quadrados, sendo sua significância avaliada pelo teste t, adotando-se um valor de $\alpha \leq 5\%$, para todos os ensaios.

A análise estatística dos resultados dos ensaios de fibra e TCM dos testes preliminares foi realizada por análise de variância (Anova) e teste de Tuckey para identificar os contrastes quando significativos. O teste t foi utilizado para a análise do teste preliminar para o cálcio.

A adequação dos modelos propostos foi avaliada pela análise do resíduo, classificado como “falta de ajuste” e “erro puro”, comparando-se a proporção da variação que é explicada pelo modelo, isto é, pela análise do coeficiente de determinação R^2 ajustado.

Uma vez obtido um modelo polinomial ajustado à resposta, sua otimização foi feita pela técnica proposta por Derringer e Suich (1980) para variáveis dependentes. Esta baseia-se na definição de uma função de desejabilidade restrita no intervalo de [0,1], para a qual adotou-se como limites inferior, médio e superior nos valores de 0, 0.5 e 1.0, respectivamente. Cálculos e gráficos foram elaborados utilizando-se o programa Statistica V.6 (STATASOFT INC., TULSA, OK).

Para a validação dos resultados, o teste Qui-quadrado corrigido pelo erro experimental, foi aplicado porque compara as proporções observadas com as esperadas de acordo com a otimização feita neste estudo (BEIGUELMAN, 2002), e uma análise de variância para a avaliação dos ensaios que foram repetidos de acordo com a formulação da dieta proposta.

Os resultados serão apresentados a seguir, de acordo com o obtido através da aplicabilidade do delineamento experimental e a avaliação da metodologia empregada para o estudo na escolha do modelo.

5 - RESULTADOS

5.1 – TESTES PRELIMINARES

Para observar o efeito das três variáveis na dialisabilidade do ferro e definir as proporções utilizadas no delineamento experimental, foram feitos testes com diferentes concentrações de TCM, fibra e cálcio.

Inicialmente foi avaliado o efeito do TCM na dialisabilidade do ferro, num intervalo de 4,5 a 17 gTCM/L de dieta (Tabela 9).

Tabela 9 – %FeD (% de ferro dialisado) em função da concentração de TCM

TCM (g/L)	Fe Total (mg/L) ¹	%FeD ¹
17,0	8,80 (0,81)	5,40 (0,54)
9,50	6,00 (1,38)	3,84 (0,15)
4,50	9,50 (0,74)	3,50 (0,31)

¹Valores expressos como média (desvio padrão), n=3

Em seguida, praticaram-se os ensaios com fibra nas concentrações de 10, 20 e 25g/L, como pode ser observado na Tabela 10. Verificou-se que, acima de 17 g/L a elevação da viscosidade não justificava as alterações observadas na porcentagem de ferro dialisado. Fixamos esse valor como o extremo para a fibra.

Tabela 10 - %FeD em função da concentração de fibra

Fibra (g/L)	Fe Total (mg/L) ¹	%FeD ¹
25	9,60 (0,82)	5,60 (0,14)
20	11,66 (1,30)	5,20 (0,63)
10	9,50 (0,92)	3,20 (1,00)

¹Valores expressos como média (desvio padrão), n=3

As proporções de cálcio utilizadas no delineamento basearam-se nos resultados obtidos por Azevedo (2001) que mostraram uma interferência na

dialisabilidade do ferro a partir da proporção de 50:1, entre os dois minerais. Um teste inicial foi feito então com as proporções de 60:1 e 80:1 e esta última foi escolhida para o delineamento (Tabela 11).

Tabela 11 - %FeD em função da concentração de cálcio

Cálcio (mg/L)	Fe Total (mg/L) ¹	Ca/Fe	%FeD ¹
600	10,75 (0,88)	56:1	5,80 (1,89)
800	10,12 (0,53)	79:1	1,60 (0,07)

¹Valores expressos como média (desvio padrão), n=3

Portanto, com base nos três testes preliminares definiu-se a seguinte faixa de variação (Tabela 12):

Tabela 12 – Valores Mínimos e Máximos de TCM, Fibra e Cálcio utilizados no Delineamento Experimental

	Mínimo	Máximo	
TCM (x ₁)	0	17g/L	
Fibra (x ₂)	0	17g/L	
Cálcio (x ₃) ¹	0	800mg/L	

¹2g de CaCO₃ + 15g de maltodextrina.

5.2 – FERRO TOTAL E DIALISADO

Os valores de ferro total e dialisado obtidos nas condições estabelecidas no delineamento experimental proposto para esse estudo estão representados na Tabela 13 e 14.

Tabela 13 – Valores de média, desvio padrão e número de determinações de ferro total para as dietas experimentais e para o controle

	n	Ferro Total (mg/L)	Desvio Padrão (DP)
Dieta Experimental	21	10,64	2,86
AIN93G160497	06	32,84	1,77

Tabela 14 - Ferro dialisado (%FeD) em dietas com diferentes proporções de TCM, fibra e cálcio

Dietas	TCM	Fibra	Cálcio	Media (%FeD)	DP
1	1	0	0	5,40	0,44
2	0	1	0	4,32	0,10
3	0	0	1	1,25	0,18
4	0,5	0,5	0	5,50	0,49
5	0	0,5	0,5	6,90	0,64
6	0,5	0	0,5	4,90	0,64
7	0,33	0,33	0,33	5,70	0,33

(n=3)

5.3 – MODELO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Três repetições foram preparadas para cada ensaio e os valores obtidos para a estimativa da resposta y “porcentagem de ferro dialisado” foram utilizados para a obtenção inicial de um modelo linear conforme a equação (1):

$$\begin{array}{ccc} \text{TCM} & \text{Fibra} & \text{Cálcio} \\ \hat{y} = 5,80 x_1 + 5,73 x_2 + 3,05 x_3 & & \text{Eq (1)} \\ (0,73) & (0,73) & (0,73) \end{array}$$

A análise do resíduo apontou uma falta de ajuste significativa ($p < 0,05$), induzindo à busca de um modelo mais complexo para o ajuste dos dados experimentais. Uma equação polinomial quadrática foi então desenvolvida (equação 2):

$$\begin{array}{cccccc} \hat{y} = 5,45 x_1 + 4,38 x_2 + 1,30 x_3 + 1,50 x_1 x_2 + 5,40 x_1 x_3 + 15,50 x_2 x_3 & & \text{Eq (2)} \\ (0,34) & (0,34) & (0,34) & (1,58) & (1,58) & (1,58) \end{array}$$

que foi posteriormente simplificada, porque não houve significância estatística da interação binária $x_1 x_2$, sendo adotada como o modelo final a equação (3), onde foram avaliados novamente a “falta de ajuste”, estatisticamente não significativa ($p > 0,05$).

$$\begin{array}{ccccc} \hat{y} = 5,58 x_1 + 4,50 x_2 + 1,30 x_3 + 5,32 x_1 x_3 + 15,42 x_2 x_3 & & \text{Eq (3)} \\ (0,31) & (0,31) & (0,34) & (1,57) & (1,57) \end{array}$$

Para o estudo do melhor modelo, o modelo cúbico especial também foi elaborado, no qual constatou-se que a interação terciária e a interação binária $x_1 x_2$ não apresentaram significância estatística, como pode ser observado na equação (4), o que foi importante para concluir que de fato o modelo quadrático foi o mais adequado para a avaliação da resposta.

$$\begin{array}{ccccccc} \hat{y} = 5,40 x_1 + 4,32 x_2 + 1,25 x_3 + 2,57 x_1 x_2 + 6,46 x_1 x_3 + 16,57 x_2 x_3 - 21,35 x_1 x_2 x_3 & & & & & & \\ \text{Eq (4)} & (0,32) & (0,32) & (0,32) & (1,55) & (1,55) & (1,55) & (10,93) \end{array}$$

A Tabela 15 apresenta a análise de variância para o modelo selecionado onde verifica-se a não significância da "falta de ajuste" e o valor do coeficiente de determinação R^2 .

Tabela 15 – Análise de variância do modelo quadrático ajustado pelos dados experimentais

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	p
Regressão	4	55,64	13,91	39,08 (**)	0,0000
Resíduo	16	5,69	0,355		
Falta de ajuste	2	1,47	0,73	2,43 (ns)	0,1236
Erro puro	14	4,22	0,30		
% da Variação explicada	88,40	-	-	-	
% da Variação explicável	90,72	-	-	-	

(**) significativo ao nível de 95% de probabilidade ($p < 0,01$)

(ns) não significativo ao nível de 95% de probabilidade ($p < 0,01$)

A Tabela 16 apresenta os coeficientes de regressão do modelo quadrático ajustados pelos dados experimentais, com seus respectivos erros padrão e intervalo de confiança estimados no modelo global. A Figura 4 apresenta os resultados da aplicabilidade do delineamento experimental, visando a observação do comportamento das interações binárias diante dos valores observados na Tabela 14.

Tabela 16 – Análise dos coeficientes de regressão do modelo quadrático ajustado pelos dados experimentais

Variáveis	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t-Student	Intervalo de confiança	p
TCM	5,58	0,31	17,81	[4,92;6,25] (**)	0,0000
Fibra	4,51	0,31	14,37	[3,84;5,17] (**)	0,0000
Cálcio	1,29	0,34	3,77	[0,57;2,02] (**)	0,0016
TCM/Cálcio	5,32	1,57	3,37	[1,98;8,66] (**)	0,0038
Fibra/Cálcio	15,42	1,57	9,78	[12,08;18,76] (**)	0,0000

(**) significativo ao nível de 95% de probabilidade ($p < 0,01$)

—	Observados
—	Estimados

Figura 4 – Interações binárias para a resposta ferro dialisado avaliados através do método "in vitro".

5.4 – CURVAS DE NÍVEL PARA O FERRO DIALISADO

A Figura 5 apresenta as curvas de contorno obtidas para a resposta $\hat{y}(x)$ porcentagem de ferro dialisado para as 3 variáveis (x_1 , x_2 , x_3), nas quais se observa que os maiores valores de $\hat{y}(x)$ estão associados à interação fibra e cálcio.

Figura 5 – Curvas de Nível para a Resposta do Ferro Dialisado

5.5 – OTIMIZAÇÃO DO FERRO DIALISADO

A Figura 6 apresenta a otimização do modelo na busca da melhor resposta para o ferro dialisado de acordo com os resultados obtidos no modelo quadrático ajustado pelos dados experimentais.

Figura 6 – Otimização da Resposta para o Ferro Dialisado

5.6 – VALIDAÇÃO DA RESPOSTA OTIMIZADA

A Figura 7 mostra a análise de variância que foi realizada com os dados experimentais mostrados na Tabela 17, obtidos através da reprodução na dieta enteral nas proporções apresentadas na Figura 6.

Tabela 17 – Valores de média e desvio padrão do ferro total e ferro dialisado obtidos através da reprodução da dieta enteral otimizada

Dieta Reproduzida	Ferro Total (mg/L)	%FeD
Ensaio 1	8,00 (0,63)	6,00 (0,20)
Ensaio 2	12,00 (0,38)	7,00 (0,30)

n=3, para os dois ensaios

() desvio padrão

Figura 7 - Validação da Dieta Otimizada para o Ferro Dialisado

5.7 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA "SOLUÇÃO DE COMPROMISSO"

Com a utilização das três variáveis na formulação (ensaio 7, Tabela 14), foram inseridos na equação 3 proporções onde podem-se determinar valores estimados para a porcentagem do ferro dialisado. A Figura 8 apresenta uma "solução de compromisso" que insere na formulação proposta o TCM.

Figura 8 – "Solução de Compromisso" com os Três Nutrientes visando o Ferro Dialisado

5.8 – FORMULAÇÃO DA DIETA ENTERAL OTIMIZADA PARA O FERRO

Para se aplicar o delineamento experimental, como já vimos, as sete dietas foram baseadas na dieta que é utilizada no Hospital Universitário (HU). A Tabela 18 compara os valores da dieta do HU, a dieta experimental e a dieta otimizada nesse trabalho, para alguns nutrientes que compõem a dieta enteral.

Tabela 18 – Dietas Enterais: utilizada, dieta experimental e a otimizada para a máxima porcentagem do ferro dialisado (%FED)

Ingredientes	HU	Dieta Experimental	Otimizada
Prot. (g)	30,6	31,0	31,0
Carb. (g)	135,8	138,0	136,4
Fibra (g)	10,0	10,0	10,2
Óleo milho (g)	13,3	12,5	17,0
Óleo canola (g)	20,0	18,0	18,0
TCM (g)	5,0	4,5	-
Lecitina (g)	nc*	3,0	3,0
Ca (mg)	423,0	400,0	320,0
Fe (mg)	2,2	10,0	10,0
Zn (mg)	3,6	3,6	3,60
Mg (mg)	114,6	115,3	115,3
Vit.C (mg)	49,5	50,0	50,0
Total de dieta (g)	1000,0	1000,0	1000,0

nc* = não continha no rótulo a quantidade utilizada no produto

6 – DISCUSSÃO

Neste estudo buscou-se formular uma dieta enteral que apresentasse o máximo de dialisabilidade de ferro e conhecer as possíveis interações que ocorrem com o ferro nas dietas enterais, realizado nesse tópico.

Para o estudo foi selecionada uma dieta modular padrão, formulada de acordo com módulos comerciais, que é utilizada em hospitais da rede pública como o Hospital Universitário. A dieta experimental mostrada na Tabela 6 foi a formulação base para a aplicabilidade do delineamento experimental proposto (Figura 3).

Com o objetivo de evitar qualquer variação na quantidade de carboidratos, nos sete ensaios propostos no delineamento experimental, estabeleceu-se a partir do substrato a maltodextrina, o componente que representaria fibra e cálcio nas formulações das dietas, para obter sempre a mesma proporção equivalente à cerca de 67% de carboidrato em cada 100g de mistura, utilizando-se a maltodextrina na padronização.

No delineamento feito, a quantidade total de lipídeos manteve-se cerca de 18% do valor calórico total, ou seja 38g/L. Desses, 47% foram de óleo de canola e 8% de lecitina de soja. Os restantes 45% variaram entre o TCM e o óleo de milho para cada uma das dietas formuladas, utilizando-se o óleo de milho na padronização.

Assim, as dietas enterais mantiveram cerca de 50% de triacilgliceróis poliinsaturados e 50% de triacilgliceróis de cadeia média. Diversos autores demonstraram que essa formulação resultou em melhor aproveitamento dos lipídeos, não havendo relatos de intolerância e esteatorréia após o consumo desse tipo de dieta (SILK, 1999; TSO et al., 1999; CZERMICHOW et al., 1996; BACK & BABAYAN, 1992).

A mistura salina livre de cálcio utilizada nas formulações foi preparada no laboratório (Tabela 7). O nutriente foi acrescido nas quantidades definidas no delineamento experimental, como sal à parte da mistura mineral. A fonte de ferro

na mistura foi o $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ que é muito usado em formulações de dietas enterais. Existem diferentes tipos de sais de ferro a serem empregados para administração oral, tais como o sulfato, fumarato e gluconato, mas o sulfato ferroso (FeSO_4) é o mais barato e eficiente utilizado pelo organismo (BRUNKEN & SZARFARC, 1999)

O método "*in vitro*" utilizado para a determinação da porcentagem do ferro dialisado foi o descrito por Miller et al. (1981) modificado por Luten et al. (1996), e, de acordo com a literatura, tem uma correspondência grande com os métodos "*in vivo*". No caso das dietas enterais, é importante ressaltar que existe uma variabilidade individual na absorção de nutrientes correlacionada com o estado clínico dos pacientes. O esquema do método para determinação da dialisabilidade do ferro está apresentado na Figura 2.

Alguns autores, ao compararem a biodisponibilidade do ferro não-heme obtida por métodos "*in vitro*" e "*in vivo*", obtiveram uma correlação estatisticamente significativa indicando que é possível a extrapolação dos resultados obtidos pelos métodos "*in vitro*" para humanos, uma vez que se reproduzam as condições do sistema digestório, como foi o caso deste estudo (CHIPLONKAR, 1999; LATUNDE-DADA et al., 1998; HURREL, 1997; LUTEN et al., 1996; KHOKHAR & PUSHJANJALLI, 1996; NAVARINGA RAO, 1994; MILLER et al., 1981).

Ao se utilizar a ferramenta de superfície de resposta usada para mistura na formulação das dietas enterais, foi fundamental o efeito do isolamento de cada componente avaliado. Assim, cada vértice do triângulo (x_1, x_2, x_3) correspondeu à formulação em que o único interferente ou era o cálcio, ou o TCM ou a fibra. Caso contrário, os erros aleatórios poderiam ser confundidos com os efeitos e nenhuma função conseguiria descrever a relação entre o fator selecionado e a resposta obtida (BARROS NETO et al., 2001).

Antes de se proceder ao delineamento experimental (Figura 3), foram realizados testes preliminares (Tabelas 9, 10 e 11) nos quais se definiram as concentrações máximas de cada um dos nutrientes que compuseram o

delineamento. Através da análise de variância em que se compararam os resultados obtidos nas condições de máxima interferência de TCM e fibra e do teste t para o cálcio, pode-se observar o comportamento desses nutrientes na dialisabilidade do ferro. A partir dessas observações, definiram-se as quantidades máximas dos três nutrientes que seriam modificados no delineamento: a quantidade máxima estabelecida de TCM e fibra foi de 17g/L e de cálcio foi de 800 mg/L.

Pode-se observar, através da variação da porcentagem do ferro dialisado obtida nas dietas que compuseram o delineamento experimental (Tabela 14), que a resposta é dependente das variáveis estudadas, o que possibilitou o tratamento de dados utilizando a ferramenta estatística proposta.

Inicialmente, todos os modelos de regressão (linear, quadrático e cúbico especial) para a resposta (ferro dialisado) avaliada, mostraram-se altamente significativos ($p < 0,05$). Portanto, para todos os modelos rejeitamos a hipótese de nulidade ($H_0 = \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$), demonstrando a dependência da resposta do ferro dialisado da proporção dos nutrientes estudados.

No entanto, como a avaliação da falta de ajuste no modelo linear foi significativa, optou-se por um modelo mais complexo, como o da regressão quadrática, que inclui os efeitos das interações binárias (β_{12} , β_{13} e β_{23}) na resposta.

A análise de variância (Tabela 15), dos resultados obtidos do modelo polinomial quadrático, ajustado pelos dados experimentais, mostrou que o modelo foi adequado com o F calculado maior que o F tabelado ($F_{4,16} = 3,01$), e não houve evidência de falta de ajuste ($F_{2,14} = 3,74$) para um nível de 95% de significância. O coeficiente de determinação do modelo ($R^2 = 0,91$) que de acordo com Henika (1992) e Cornell (1990) pode ser considerado adequado.

De acordo com Barros Neto et al. (2001) e Castro et al. (2000), para uma regressão significativa ser útil para a finalidade preditiva, o F calculado para a regressão deve ser de 4 a 5 vezes maior do que o F tabelado. Portanto, uma vez que esta condição é amplamente satisfeita pelo modelo polinomial quadrático (F calculado = 14 x F tabelado) este foi considerado um modelo adequado. Além

disso, o modelo cúbico não pode ser considerado preditivo da resposta avaliada porque a interação terciária do modelo não foi estatisticamente significativa.

Na Tabela 16 estão apresentados os coeficientes de regressão, os valores de β , estimados após o ajuste dos dados experimentais, a estimativa do erro padrão para cada variável e o intervalo de confiança das mesmas para o nível de 95% de confiança. É importante lembrar que os modelos empíricos não podem ser extrapolados a condições diferentes das utilizados no delineamento experimental, ou seja, que os ajustes nos modelos estão relacionados com os dados obtidos nessas condições (BARROS NETO et al., 2001).

O modelo final foi representado pela equação 3. A interação binária TCM - fibra, em razão da falta de significância estatística, foi excluída do modelo global. Para todas as variáveis delineadas através do modelo preditivo para a porcentagem do ferro dialisado, o efeito sinérgico foi observado em todos os nutrientes que compuseram o estudo e nas interações binárias avaliadas, mostrando a importância de todos os parâmetros na avaliação da resposta.

Para a disponibilidade de ferro dialisado na dieta enteral, a interação binária fibra - cálcio foi estatisticamente significativa no nível de 95% de confiança, sendo o efeito sinérgico mais pronunciado averiguado na Figura 4.

Torre et. al. (1995) & Torre et. al. (1991) ao avaliarem os efeitos das fibras alimentares na disponibilidade de minerais, pelos métodos "*in vitro*" e "*in vivo*", utilizando frações isoladas de fibra, observaram que a fibra solúvel do tipo goma guar tem a capacidade de se agrupar em estruturas não complexas, onde o mineral passa a fazer parte da composição estrutural e química do composto formado, sem formar colóides e complexos de difícil hidrólise, mantendo as valências (+2) dos minerais ferro e zinco livres. Assim, a goma guar, saindo de sua característica natural de neutralidade, passa a apresentar muita afinidade aniônica, o que facilita a formação de complexos com o cálcio. Para os autores, esse fato pode conduzir a um importante entendimento da química dos hidrocolóides e seus efeitos, que variam linearmente com a densidade dos substratos. Os resultados mostraram que, ao reduzirem a solubilidade catiônica, as gomas aumentam naturalmente a capacidade da ligação metal-fibra

(mecanismo esse que não é ainda totalmente compreendido), porém seus efeitos são positivos, pois fazem com que as fibras atuem melhor no organismo como carregadoras de metais para seus sítios absortivos, uma vez que suas estruturas não complexas fazem com que essas ligações sejam covalentes e possam ser facilmente hidrolisadas, para que ambos os nutrientes possam agir no organismo.

Outros autores ao avaliarem a bisponibilidade do ferro, através dos resultados obtidos da aplicação de métodos "*in vitro*", em estudos que visavam a variabilidade de fibras com minerais, observaram que existe uma capacidade de ligação das fibras com o cálcio e a formação de complexos insolúveis entre os dois nutrientes, o que beneficiaria a disponibilidade do ferro, uma vez que existe uma forte interação entre os dois minerais, ressaltando a capacidade ligante do cálcio na estrutura das fibras (CLAYE et al., 1998; HALLBERG et al., 1992).

Slavin & Greenberg (2003) mostraram que pelo fato de as fibras solúveis serem altamente fermentáveis, atuarem através da ação bacteriana no cólon e apresentarem uma capacidade de ligação com minerais, principalmente com o cálcio, têm sido recomendadas para serem utilizadas em dietas enterais para auxiliarem na absorção de minerais, por causa da capacidade de translocação dos locais absortivos do cálcio do intestino delgado para o ceco e cólon, onde, ao serem degradadas, aumentam a produção de ácidos graxos de cadeia curta, o que leva a uma diminuição do pH, o que induziria o aumento da absorção do cálcio nessa região do intestino.

Assim, esse mesmo mecanismo pode explicar o sinergismo observado entre a fibra - cálcio na resposta do ferro dialisado.

A dificuldade de acrescentar fibra solúvel a formulações de dietas enterais, relaciona-se com problemas de alterações na viscosidade da dieta, o que aumenta o risco de obstrução da sonda no fornecimento da alimentação. Esses problemas foram controlados com a utilização das fibras hidrolisadas, como a goma guar usada neste trabalho (Slavin & Greenberg, 2003; Velásquez et al., 2001).

Velásquez et al. (2001) mostraram que a goma guar e a goma guar parcialmente hidrolisada ao atuarem na microflora intestinal em humanos, são

mais importantes do que outros tipos de fibras na produção de ácidos graxos de cadeia curta.

Spacen et al. (2001) observaram que pacientes com íleo paralítico, submetidos à nutrição enteral em que foi utilizada fibra solúvel, mostraram menor incidência de diarreia e menor comprometimento das funções intestinais. Nesse aspecto, a goma guar hidrolisada foi mais efetiva do que outros tipos de fibra, devido às suas características para maior produção de ácidos graxos de cadeia curta no cólon.

Khokhar & Pushpanjali (1996) e Torre et al. (1991), ao estudarem os efeitos de fibras alimentares na disponibilidade de vários minerais como ferro, zinco, cálcio, magnésio e cobre, pelo método "*in vitro*", observaram que fontes de alimentos ricos em fibras apresentam forte redução da disponibilidade de minerais, que é maior em alimentos folhosos do que em cereais. Os autores são unânimes em relatar que as estruturas e compostos que constituem um alimento são importantes para definir o aproveitamento de um nutriente pelo organismo.

A forma química dos minerais e fibras contidas em alimentos ou em dietas assim, oxalatos e fitatos, impedem a absorção de ferro, zinco, cobre e cálcio.

Na formulação de dietas enterais existe sempre a preocupação com substratos que não venham prejudicar a biodisponibilidade de nutrientes, e aumentar os riscos de desnutrição desses pacientes (PÉREZ-LLAMAS et al., 1997; CORNEAU et al., 1996; TOMA & CURTIS, 1996; TORRE et al., 1995).

Torre et al. (1995) ao estudarem as interações de Fe^{2+} , Ca^{2+} e Fe^{3+} em dietas enterais, através de métodos "*in vitro*", simulando diferentes condições de pH e variando as concentrações de fibra solúvel e insolúvel, observaram que altas quantidades de fibra e condições físico-químicas inadequadas (pHs e viscosidade) podem levar a uma má absorção de cátions como ferro, zinco e cálcio. A dialisabilidade de cálcio foi de 2,5% em média e sofreu interferências das grandes quantidades de fibra presentes nas dietas e nos alimentos avaliadas. Os autores ainda ressaltaram que o cálcio apresentou melhor dialisabilidade em pH menor que 3 e o ferro em pH entre 4,5 e 5,0.

Diversos estudos, utilizando-se a goma guar e pectinas, mostraram que as fibras solúveis podem influenciar nos processos de motilidade, secreções gástricas e intestinais uma vez que aumentam a viscosidade do bolo alimentar, tornando a absorção mais lenta. Elas aumentam a tolerância a glicose por reduzirem a elevação da glicemia pós-prandial, reduzindo os níveis plasmáticos de LDL-colesterol e colesterol total. Todas essas funções, como consequência direta, podem ter um maior aproveitamento de nutrientes pelo organismo (GREGÓRIO et al., 2001; MARIOTTI, et al., 2001; CARUSO & MENEZES, 2000).

Vários autores ao estudarem a capacidade do colón em absorver minerais por interagirem com as fibras, tem destacado que o ferro é potencialmente capaz de aumentar os riscos de câncer de colón, pela produção de radicais livres que atingiriam o DNA e causariam danos cromossomais, desencadeando efeitos mutagênicos (NELSON, 2001; KHOKHAR & PUSHPANJALI, 1996).

Por essa razão, é importante que se garanta um máximo de biodisponibilidade de ferro com o mínimo de concentração, o que é alcançado com a utilização de uma ferramenta como modelos desenvolvidos com Superfície de Resposta para Misturas.

Azevedo (2001) avaliou, pelo método *"in vitro"*, como já mencionado anteriormente, a dialisabilidade do ferro de treze dietas enterais disponíveis no mercado. Pela análise multivariada, o autor destacou a fibra (polissacarídeos de soja), e o cálcio como fatores que reduziram a dialisabilidade de ferro e o TCM como fator estimulador.

Com esses resultados, optou-se por substituir o polissacarídeo de soja pela goma guar parcialmente hidrolisada na formulação da dieta experimental, que foi a dieta que compôs o delineamento experimental.

O cálcio foi outro nutriente que, como esperado, se mostrou interferente para a redução da disponibilidade do ferro da dieta estudada (Tabela 14). Vale ressaltar que com o estudo foi possível caracterizar uma quantidade de cálcio satisfatória na dieta enteral para que se amenize a interação entre os dois nutrientes.

Segundo vários autores, uma quantidade excessiva de cálcio e o tipo de sal de cálcio utilizado em formulações de alimentos ou de dietas podem prejudicar a absorção de ferro e de outros minerais, como o zinco e magnésio (SILK, 1999; TOBA et al., 1999; FROST & BIHARI, 1997; VAN DYCH et al., 1996; TORRE et al., 1995; SPENCER et al., 1994).

Ingestões de cálcio mais altas do que a Ingestão Adequada (AI), variando de 1000 mg/dia a 1200 mg/dia, têm sido indicadas com a finalidade de reduzir a incidência de osteoporose na população adulta. Porém, o efeito inibitório potencial do cálcio na absorção de ferro pode aumentar o problema da anemia por deficiência de ferro, ressaltando que a disponibilidade do ferro pode ser prejudicada na presença de elevadas concentrações de cálcio. O efeito da interferência do mecanismo do cálcio é complexo em relação à ingestão de ferro e pouco compreendido (LOMBARDI-BOCCIA et al., 1998; WEAVER, 1998; COOK et al., 1997; LYNCH, 1997; PÉREZ-LLAMAS et al., 1997; REDDY & COOK, 1997; WHITING, 1997; CORNEAU et al., 1996).

Cook et al. (1997) avaliaram o efeito de sais de cálcio comumente utilizados como suplementos na absorção de ferro e mostraram que, quando tomados fora dos horários de refeições, o carbonato de cálcio não inibiu a absorção de sulfato ferroso na dose de 600mg de cálcio e 18 mg de ferro. Quando os mesmos ensaios foram repetidos usando-se os sais citrato e fosfato como fonte de cálcio, nas mesmas concentrações, estes reduziram a absorção de ferro para 44% e 62% respectivamente, mostrando que o tipo de sais utilizados também pode influenciar a disponibilidade de minerais.

Nogueira (2003) ao determinar a porcentagem do ferro dialisado em leites infantis comercializados, utilizando método "*in vitro*", mostrou uma correlação negativa entre a concentração do cálcio e a porcentagem do ferro dialisado.

Na mistura avaliada, a interação binária TCM-cálcio foi outro fator importante para a dialisabilidade do ferro. Essa interação pode estar indicando um mecanismo semelhante ao descrito, por diversos autores para a interferência entre fibra solúvel e cálcio (SLAVIN & GREENBERG, 2003; VELÁSQUEZ et al.,

2001; CLAYE et al., 1998; TORRE et al., 1995; HALLBERG et al., 1992; TORRE et al., 1991). Assim, alimentos ou dietas que contenham compostos de estruturas menos complexas (como os TCMs), podem ligar o cálcio, em presença de grandes quantidades do mineral e com isso favorecer a disponibilidade do ferro nas dietas enterais.

Rodrigues et al. (2003) mostraram que a gordura presente no leite, caracterizada em fontes naturais dessas matrizes, se constitui de quantidades razoáveis de colesterol e ácidos graxos saturados, como os triacilgliceróis de cadeia média. Toba et al. (1999) ao compararem os efeitos dos componentes do leite na biodisponibilidade do cálcio, nos ratos em crescimento, concluíram que o mineral apresentou interações com os componentes do leite, mostrando a interferência da própria estrutura química do leite na absorção do cálcio, devido a formação de compostos insolúveis tenderem a diminuir a disponibilidade do mineral.

Uma vez que essas interações, entre a gordura do leite e o cálcio, estejam ocorrendo, pode-se caracterizar a interação que foi observada entre o TCM-cálcio nas dietas enterais, o que estaria favorecendo a dialisabilidade do ferro observada no estudo.

Os TCMs tendem a aumentar a absorção de nutrientes, no intestino delgado, por ação mais rápida da lipase digestiva e por sua interação com as microvilosidades da borda em escova, nas células do enterócito, em estudos com aplicabilidade dos métodos "*in vitro*" e "*in vivo*". Sua eficácia faz com que pacientes submetidos a dietas enterais tenham maior tolerância à alimentação, menor complicação no trato gastrointestinal e melhor absorção de nutriente, em consequência de uma ação metabólica mais efetiva (TSO et al., 1999; SILK, 1999).

Os triacilgliceróis de cadeia média, quando ministrados em dietas enterais para pacientes no período pós-operatório, reduziram significativamente o risco de complicações no trato gastrointestinal e de infecções, por modularem a produção de eicosanóides antiinflamatórios. Em alguns casos, diminuem, também, riscos de

problemas renais e hepáticos por auxiliarem o metabolismo de lipídeos (TSO et al., 1999).

Os TCMs são adicionados em dietas enterais para os casos em que o paciente apresente uma deficiência na absorção de lipídeos. A preocupação é que os TCMs, não contêm em sua composição quantidades adequadas de ácidos graxos essenciais, podendo acarretar problemas de esvaziamento gástrico. Apresentam altos teores de gordura saturada, e sua utilização restrita para pacientes com problemas circulatórios. São contra-indicados para pacientes com algumas patologias como diabetes-*mellitus*, desnutrição grave, cirrose hepática e acidose (D' AGOSTINI, 2001).

Segundo Azevedo (2001) e Whittaker (1998) os TCMs tendem a favorecer a biodisponibilidade de minerais de uma maneira geral, entre eles o ferro, o zinco, o magnésio e o cálcio, mas existe a necessidade de se compreender a complexidade dos mecanismos de interação entre os nutrientes na matriz alimentar, uma vez que ao favorecer diversos minerais vale lembrar os dois mecanismos que podem explicar as interações entre ferro e zinco: o de competição e o de co-adaptação. O processo de co-adaptação ocorre quando as concentrações de ferro e zinco são iguais. O processo de competição ou antagonismo ocorre quando a relação entre as concentrações de ferro e zinco for maior que 2 respectivamente (SOLOMONS & RUIZ, 1997).

De acordo com Azevedo (2001), as dietas enterais com altas concentrações de TCM apresentaram as maiores porcentagens de ferro dialisado, porém os valores de ferro total presente nessas dietas são bem altos, o que poderia estar justificando essa correlação positiva. As proporções Fe/Ca também foram altas nessas dietas, diferenciando-se das proporções que foram avaliadas nesse estudo, sendo de 1:45 até 1:84 nas treze dietas enterais comercializadas industrialmente que foram estudadas. O interessante é que foi verificada essa interação em dietas que na sua maioria continham o TCM na sua formulação em quantidades que variaram de 7g a 21g do nutriente por litro de dieta.

Azevedo (2001) ao estudar a disponibilidade do ferro em dietas enterais comercializadas industrialmente, ressaltou a importância dos TCMs favorecendo

a dialisabilidade do ferro nas dietas. Pode-se observar que a concentração de ferro total nas dietas foi de 13 a 21mg/L de dieta, o que é muito superior a que foi utilizada nesse trabalho. Mesmo assim, a porcentagem de ferro dialisado obtida pelo autor variou de 2,34 a 9,67% sendo que a maioria das dietas foi classificada como sendo de baixa disponibilidade para o ferro <5%, (n=8), como média disponibilidade de 5 a 8% (n=3) e como boa disponibilidade >8% (n=1).

Vale ressaltar que o trabalho realizado por Azevedo (2001) em comparação com o que está sendo proposto nesse estudo tem fundamentalmente um contexto diferente, uma vez que para a execução do delineamento experimental foi adotada uma fibra renovadora para a visão da terapia nutricional, o que ressalta uma conjectura diferente da época em que foram elaborados os dois trabalhos.

A vantagem de se utilizar Superfície de Resposta para Misturas foi a de propiciar uma visão mais clara para a formulação da dieta enteral. Com isso, novas formulações podem ser elaboradas com melhor segurança nutricional e entendimento nos processos de interações que podem estar ocorrendo em uma mistura de nutrientes.

A superfície representada nas curvas de nível, através da utilização de modelos matemáticos, apresentam as regiões onde as respostas podem ser otimizadas. Em estudos que correlacionaram as curvas com os resultados de otimizações, verificou-se a funcionalidade da otimização na observação das curvas das superfícies investigadas e o direcionamento da resposta a ser maximizada, garantindo a caracterização da qualidade das curvas e a aplicabilidade na resposta a ser avaliada (TAM, 1999; HOITSMA, 1996).

A Figura 5 mostra o comportamento das curvas de nível para a resposta do ferro dialisado, onde pode-se observar que a região mais escura do triângulo variou entre os vértices da fibra e do cálcio. Verifica-se, também, o contorno característico de um modelo quadrático.

Os processos de otimização visam caracterizar decisões sobre os objetivos a serem alcançados, a função resposta a ser observada pela determinação dos

fatores que influenciam significativamente a resposta, e, principalmente, a otimização das variáveis selecionadas (SILVA et al., 2000).

No que se refere à otimização da dieta que foi desenvolvida neste trabalho, buscou-se uma resposta que fosse compatível com as explicações fisiológicas e com o objetivo de se maximizar o ferro em estudo.

A otimização da dieta enteral para a resposta proposta no estudo foi de 60% de goma guar e 40% de cálcio, sendo na proporção ideal para Fe/Ca de 1:32. Quantidades acima desse valor interagem com a resposta e diminuem a dialisabilidade do ferro nas dietas estudadas. Essas proporções podem ser observadas na Figura 6.

A dieta enteral, de acordo com a proporção definida pelo processo de otimização, foi reproduzida no laboratório e determinada a porcentagem do ferro dialisado nas mesmas condições em que foram elaboradas inicialmente. Esse procedimento foi repetido por duas vezes, em triplicata, por duas pessoas diferentes sendo verificada a concordância entre os valores estimados e experimentais. Pode-se concluir que os resultados foram validados (Figura 7).

Os testes Qui-quadrado são recomendados para a verificação da concordância dos resultados obtidos de experimentos previamente realizados e a confirmação destes com a repetição, nas mesmas condições, em único experimento, visando prever a casualidade ou não dos desvios estimados experimentalmente, para averiguação das proporções entre os valores observados e esperados (BEIGUELMAN, 2002).

No trabalho, verificou-se que os valores observados experimentalmente (Tabela 15), através da aplicabilidade do teste Qui-quadrado, não diferiram estatisticamente dos valores estimados na otimização da dieta enteral para o modelo proposto. O valor do Qui-quadrado corrigido pelo erro experimental foi de $\chi^2=0,437$ e o de $p=0,080$. Na análise de variância, o valor de $p=0,080$ foi determinado para os ensaios 1 e 2, mostrando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois ensaios para a porcentagem do ferro dialisado quando se procedeu a validação da dieta enteral otimizada no estudo.

A dieta otimizada, segundo a classificação apresentada por Azevedo (2001) para a porcentagem de dialisabilidade do ferro, foi classificada de média disponibilidade, o que se mostrou satisfatório.

Outro ponto positivo foi poder elevar a disponibilidade de ferro mesmo mantendo a fibra na formulação e ressaltar que a goma guar parcialmente hidrolisada é uma boa escolha.

Portanto, a partir dos resultados obtidos, pudemos observar que o importante para a dialisabilidade do ferro na dieta enteral formulada foi a fibra na presença do cálcio.

Essa formulação da dieta enteral otimizada é apresentada na Tabela 18, onde se compara sua formulação com a que serviu de base para o trabalho e que é a utilizada no Hospital Universitário.

Segundo diversos autores, devido às propriedades fisiológicas dos ácidos graxos de cadeia média, é necessário mantê-los em algumas formulações das dietas enterais para casos específicos como o de deficiência de absorção de lipídeos, em patologias como a AIDS, por exemplo (WAITZBERG, 2004; SILK, 1999; TSO et al., 1999; WEIMANN et al., 1998; CZERMICHOW, et al., 1996).

Assim sendo, formulou-se outra dieta enteral, caracterizando uma “solução de compromisso”, em que estão presentes os três nutrientes (o TCM, a goma-guar e o cálcio) numa proporção de 32,50% de TCM e fibra e de 35,00% de cálcio. A estimativa para a porcentagem do ferro dialisado nessa situação varia de 4,7% a 7,4%, como pode ser observado na Figura 8.

A proposta de sugerir uma dieta enteral que contenha o TCM é a de explorar a ferramenta estatística de superfície de resposta na aplicabilidade dos resultados observados no estudo, onde se busca apresentar sugestões que podem ser úteis em outras formulações para serem utilizadas na prática clínica, uma vez que se conhecem as limitações que foram avaliadas no estudo, para os três nutrientes, através do planejamento do delineamento experimental, e, a possibilidade de estimar a porcentagem do ferro dialisado, que foi no estudo a resposta de interesse, e assim, podem ser calculados valores de ferro dialisado que seriam obtidos com diferentes proporções do três nutrientes.

A utilização do delineamento experimental baseado na Metodologia de Superfície de Resposta para Misturas foi abrangente e possibilitou a varredura de toda a região estudada na busca da melhor formulação possível, mostrando que os resultados obtidos estão de acordo com a literatura quando se direciona para estudos de aplicabilidade de fibras em formulações de dietas enterais. No momento em que se estabeleceu uma quantidade adequada de cálcio na formulação, pode-se minimizar a interação do nutriente com o ferro, sendo um fator importante na avaliação das interações dos dois minerais em matrizes alimentares, em particular beneficiando na terapia nutricional.

Pode-se enfatizar seu emprego da RSM em futuras formulações de dietas enterais, à medida que se buscam esclarecer as possíveis interações de nutrientes em uma formulação, visando à melhoria da qualidade e da eficiência da mesma na prática clínica.

Uma das funções da terapia nutricional é a de buscar direcionar o tratamento de doenças com o uso de nutrientes que possam comprovadamente contribuir nos processos metabólicos dos indivíduos submetidos à dieta enteral, e para isso, pode-se empregar técnicas que possam oferecer uma resposta efetiva no combate de deficiências nutricionais, como a que foi utilizada no estudo, para que os pacientes venham a apresentar uma melhora ou uma estabilidade nutricional, e para que a terapia nutricional ocupe, de fato, seu papel na busca da melhor formulação quando se relaciona ao quadro clínico do paciente.

7 - CONCLUSÃO

- a metodologia de superfície de resposta aplicada a estudos de dialisabilidade de minerais "*in vitro*" é uma ferramenta útil na formulação de dietas enterais;
- as condições de otimização da dieta enteral para o máximo de ferro dialisado foram: 10.2g/L de fibra (60% do total inicial) e 320 mg/L de cálcio (40% do total inicial). Nessas condições a dialisabilidade do ferro foi de 7%;
- sugere-se uma solução compromisso com 5.4 g/L de fibra (32,5% do total inicial) e de TCM e 280 mg/L de cálcio (35% do total inicial);
- a interação binária fibra-cálcio demonstrada no modelo reflete o sinergismo observado entre os dois nutrientes na resposta ferro dialisável indicando que esses dois nutrientes presentes em condições ideais podem favorecer a dialisabilidade do ferro.
- a validação da ferramenta estatística realizada no estudo foi satisfatória, indicando que o objetivo do trabalho foi alcançado com êxito;

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, M.M. **Fisiologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 934p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16.ed. Washington: AOAC, 1995.

AZEVEDO, C.H. **Avaliação *in vitro* da disponibilidade de ferro em dietas enterais submetidas a duas condições digestivas**. São Paulo, 2001. 86p.
Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas -
Faculdade de Economia e Administração - Faculdade de Economia e
Administração - Faculdade de Saúde Pública - PRONUT - Universidade de
São Paulo.

BACH, A.C.; BABAYAN, V.K. Medium-chain triglycerides: an update. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, n.36, p.950-962, 1982.

BARROS NETOS, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: UNICAMP, 2001. 400p.

BEIGUELMAN, B. **Curso prático de bioestatística**. Ribeirão Preto: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002. 272p.

BENITO, P.; MILLER, D. Iron absorption and bioavailability: an updated review. **Nutr. Res.**, New York, v.13, n.3, p.581-603, 1998.

BLOMBERG, E.; CLAEISSON, P.M.; WARNHEIM, T. Surface interactions in emulsions and liposome solutions. **Colloids Surf., A**, Amsterdam, v.159, n.1, p.149-157, 1999.

BOTA, A.; GELLA, F.J.; CANALIAS, F. Optimization of adenosine deaminase assay by response surface methodology. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v.290, n.2, p.145-157, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Regulamentos Técnicos por Assunto. A. **Alimentos para Nutrição Enteral**. Resolução n.449, de 9 de setembro de 1999. Aprova o regulamento técnico para a fixação de identidade e qualidade para alimentos para nutrição enteral. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=125>. Acesso em: 27 maio 2004.

BRAUNSCHWEIG, C.L; LEVY P.; SHEEAN, P.M.; WANG, X. Enteral compared with parenteral nutrition: a meta-analysis. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.74, p.534-542, 2001.

BRUNKEN, G.S. ; SZARFARC, S.C. Ferro: Metabolismo, Excesso e Toxicidade e Recomendações. **Nutrire**, São Paulo, v.18, p.23-34, 1999.

CABALLERO, B. Interacciones entre los componentes de la dieta. **Arch. Latinoam. Nutr.**, Caracas, v.38, n.3, p.656-684, 1988.

CANETTIERI, E.V.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A. Obtenção biotecnológica de xilitol a partir de cavacos de eucalipto. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v.38, n.3, p.323-331, 2002.

CARUSO, L.; MENEZES, E.W. Índice glicêmico dos alimentos. **Nutrire**, São Paulo, v.19/20, p.49-64, 2000.

CASTRO, I.A. **Modelagem e otimização de propriedades nutricionais e sensoriais de misturas protéicas através da metodologia estatística de superfície de resposta**. São Paulo, 1999. 109p. Tese de Doutorado –

Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Economia e Administração - Faculdade de Saúde Pública - PRONUT - Universidade de São Paulo.

CASTRO, I.A.; TIRAPEGUI, J.; SILVA, R.S.S.F. Protein mixtures and their nutritional properties optimized by response surface methodology. **Nutr. Res.**, New York, v.20, n.9, p.1341-1353, 2000.

CHIANG, W.; SHIH, C.; CHU, Y. Optimization of acid hydrolysis conditions for total isoflavones analysis in soybean hypocotyls by using RSM. **Food Chem.**, Amsterdam, v.72, p.499-503, 2001.

CHIPLONKAR, S.A.; AGTE, V.V.; TARWADI, K.V.; KAVADIA, R. *In vitro* dialyzability using meal approach as an index for zinc and iron absorption in humans. **Biol. Trace Elem. Res.**, Totowa, v.67, p.249-256, 1999.

CLAYE, S.S.; IDOURAINE, A.; WEBER, C.W. *In vitro* mineral binding capacity of five fiber sources and their insoluble components for magnesium and calcium. **Food Chem.**, Amsterdam, v.61, n.3, p.333-338, 1998.

CLYDESDALE, F.M. Physicochemical determinants of iron bioavailability. **Food Technol.**, Chicago, v.37, n.10, p.133-144, 1983.

COOK, J.D.; DASSENKO, S.A.; WHITTAKER, P. The influence of different cereal grains on iron absorption from infant cereal foods. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.65, p.964-969, 1997.

CORNEAU, L.; LAVIGNE, C.; ZEE, J.A. Effect of calcium and zinc concentrations and calcium source on *in vitro* calcium and zinc solubility in a fiber-fortified enteral formula. **Nutr. Res.**, New York, v.16, n.10, p.1659-1669, 1996.

CORNELL, J.A. **Experiments with mixtures, designs, models and the analysis of mixture data**. 2.ed. New York: John Wiley, 1990. 632p.

CZERMICHOW, B.; GALLUSER, M.; CUI, S.Q.; GOSSÉ, F.; RAUL, F. Comparison of enteral or parenteral administration of medium chain triglycerides on intestinal mucosa in adult rats. **Nutr. Res.**, New York, v.16, n.5, p.797-804, 1996.

D' AGOSTINI, D. **Obtenção de lipídios estruturados por interesterificação de triacilgliceróis de cadeia média e longa**. São Paulo, 2001. 156p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

D'ANGELO, A.; GASTALDI, M.; LEVIALDI, N. Performance analysis of a flexible manufacturing system: a statistical approach. **Int. J. Prod. Econ.**, Amsterdam, v.56/57, p.47-59, 1998.

DAVIDSON, M.H.; MCDONALD, A. Fiber: forms and functions. **Nutr. Res.**, New York, v.18, n.4, p.617-624, 1998.

DAVIDSSON, L.; WALOZYC, T.; MORRIS, A.; HURRELL, R.F. Influence of ascorbic acid an iron-fortified chocolate-flavored milk drink in Jamaican children. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.67, p.873-877, 1998a.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **J. Qual. Technol.**, Milwaukee, v.12, p.214-219, 1980.

DIETARY reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc: a report of the Panel on Micronutrients and the Standing Committee on

the Scientific Evolution of Dietary reference intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington: National Academy Press, 2001.

EDIHARA, K.; NAKAMOTO, Y. comparative effect of water-soluble and insoluble dietary fiber on bowel function in rats fed a liquid elemental diet. **Nutr. Res.**, New York, v.18, n.5, p.883-891, 1998.

FAIRWEATHER-TAIT, S. Bioavailability of trace elements. **Food Chem.**, Amsterdam, v.43, p.213-217, 1995.

FROST, P.; BIHARI, D. The route of nutritional support in the critically. III: Physiological and economical considerations. **Nutrition**, New York, v.13, n.9, suppl., 1997.

GÁRCIA-ARIAS, M.T.; RODRIGUEZ, A.V.; GÁRCIA-LINARES, M.C.; ROSANDRO, A.M.; GÁRCIA-FERNANDEZ. Predomínio de anemia en ancianos madrilenos. **Nutr. Hosp.**, Madrid, v.18, n.4, p.374-377, 2003.

GREGÓRIO, S.R.; ÁREAS, M.A.; REYES, F.G.R. Fibras alimentares e doença cardiovascular. **Nutrire**, São Paulo, v.22, p.109-120, 2001.

HALLBERG, L.; ROSSANDER, L.; BRUNE, M.; GLEERUP, A. Inhibition of haem iron absorption in man by calcium. **Br. J. Nutr.**, Wallingford, v.69, p.533-540, 1992.

HARVEY, L. Mineral bioavailability. **Nutr. Food Sci.**, Bradford, v.31, n.4, p.179-182, 2001.

HEYMSFIELD, S.B.; BLEIER, J.; WHITMIRE, L.; MCMANUS, C.; SMITH-ANDREWS, J.; HALLENBECK, J.; HERSH, T. Nutrient bioavailability from

- nasojejunally administered enteral formulas: comparison to solid food. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.39, p.243-250, 1984.
- HOITSMA, D. A note on surface inflections. **Comput. Aided Geom. Des.**, Amsterdam, v.13, n.1, p.89-93, 1996.
- HOWARTH, N.; SALTZMAN, E.; ROBERTS, S.B. Dietary fiber and weight regulation. **Nutr. Rev.**, Secaucus, v.59, n.5, p.129-139, 2001.
- HURRELL, R.F. Bioavailability of iron. **Eur. J. Clin. Nutr.**, Basingstoke, v.51, suppl.1, p.4-8, 1997.
- HURRELL, R.F.; COOK, J.D. Strategies for iron fortification of foods. **Trends Food Sci. Technol.**, Amsterdam, v.1, n.3, p.56-61, 1990. [Review].
- HSU, T.C.; CHEN, N.R.; SULLIVAN, M.M.; KOHN-KEETH, C.L.; MEINTS, A.S.; SHOTT, S.; COMER, G.M. Effect of high ambient temperature on contamination and physical stability of one-liter ready-to-hang enteral delivery systems. **Nutrition**, New York, v.16, p.165-167, 2000.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3.ed. São Paulo, 1985.
- JOSHI, S.; SHERALI, H.D.; TEW, J.D. An enhanced response surface methodology (RSM) algorithm using gradient deflection and second-order search strategies. **Computers Oper. Res.**, Oxford, v.25, n.7/8, p.531-541, 1998.
- LATUNDE-DADA, G.O.; BIANCHI, M.D.F.; OLIVEIRA, J.E.D. On the methods for studying the mechanisms and bioavailability of iron. **Nutr. Rev.**, Secaucus, v.56, n.3, p.76-80, 1998.

LYNCH, S.R. Interaction of iron with other nutrients. **Nutr. Rev.**, Secaucus, v.55, n.4, p.102-110, 1997.

LOMBARDI-BOCCIA, G.; LUCARINI, M.; DI LULLO, G.; DEL PUPPO, E.; FERRARI, A.; CARNOVALE, E. Dialysable, soluble and fermentable calcium from beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as model for *in vitro* assessment of the potential calcium availability. **Food Chem.**, Amsterdam, v.61, n.1/2, p.167-172, 1998.

LUTEN, J.; CREWS, H.; FLYNN, A.; VAN DAEL, P.; KASTENMAYER, P.; HURRELL, R.; DEELSTRA, H.; SHEN, L.H.; FAIRWEATHER-TAIT, S.; HICKSON, K.; FARRÉ, R.; SCHLEMMER, U.; FROHLICH, W. Interlaboratory trial on the determination of the *in vitro* iron dialysability from food. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.72, n.4, p.415-424, 1996.

MAFRA, D. **Anemia na insuficiência renal crônica e suas implicações na distribuição do zinco corporal**. São Paulo, 2001. 160p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

MANEIRO, D.N. **Efeito da suplementação com zinco na resistência à insulina em mulheres obesas**. São Paulo, 2002. 109p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

MARIOTTI, F.; PUEYO, M.E.; TOMÉ, D.; BENAMOUZIG, R.; MAHÉ, S. Guar gum does not impair the absorption and utilization of dietary nitrogen but affects early endogenous urea kinetics in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.74, n.4, p.487-493, 2001.

MILLER, D.D.; SCHRICKER, B.R.; RASMUSSEN, R.R.; VAN CAMPEN, D. An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.34, p.2248-2256, 1981.

MURRAY, S.M.; PATIL, A.R.; FAHEY, G.C.; MERCHEN, N.R.; WOLF, B.W.; LAI, C.S.; GARLEB, K.A. Apparent digestibility and glycaemic responses to an experimental induced viscosity dietary fibre incorporated into an enteral formula fed to dogs cannulated in the ileum. **Food Chem. Toxicol.**, Amsterdam, v.37, p.47-56, 1999.

NARASINGA RAO, B.S. Methods for the determination of bioavailability of trace metals: a critical evaluation. **J. Food Sci. Technol.**, Mysore, v.31, n.5, p.353-361, 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL FOOD AND NUTRITION BOARD. Recommended Dietary allowances. 10^a ed., Washington, National Academy of Sciences, 1989.

NOH, S.K.; KOO, S.I. Enteral infusion of phosphatidylcholine increases the lymphatic absorption of fat, but lowers α -tocopherol absorption in rats fed a low zinc diet. **J. Nutr. Biochem.**, New York, v.12, p.330-337, 2001.

NOGUEIRA, C.S. **Efeitos de diversos nutrientes sobre a dialisabilidade de ferro em fórmulas infantis**. São Paulo, 2002. 130p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Nutrição em Pediatria - Universidade Federal de São Paulo.

OLIVEIRA, M.H.; BONELLI, R.; AIDOO, K.E.; BATISTA, C.R.V. Microbiological quality of reconstituted enteral formulations used in hospitals. **Nutrition**, New York, v.16, p.729-733, 2000.

- OLIVARES, M.O.; PIZARRO, F.; WALTER, T. Bioavailability of iron supplements consumed daily is not different from that of iron supplements consumed weekly. **Nutr. Res.**, New York, v.19, n.2, p.179-190, 1999.
- OSÓRIO, M.M.; LIRA, P.I.C.; BATISTA-FILHO, M.; ASHWORTH, A. Prevalence os anemia in children 5-59 months old in the state of Pernambuco, Brazil. **Rev. Panam. Salud Publica**, Washington, v.10, n.2, p.463-472, 2001.
- PALLARÉS, I.F.; ALIAGA, I.L.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M.J.; CAMPOS, M.S. Effect of iron deficiency on the digestive utilization of iron, phosphorus, calcium and magnesium in rats. **Br. J. Nutr.**, Wallingford, v.70, p.609-620, 1993.
- PAPAMANDJARIS, A.A.; MACDOUGALL, D.E.; JONES, P.J.H. Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: obesity treatment implications. **Life Sci.**, Amsterdam, v.62, n.14, p.1203-1215, 1998.
- PÉREZ-LLAMAS, F.; DIEPENMAAT-WOLTERS, M.G.E.; ZAMORA, S. Influence of different types of protein on *in vitro* availability of intrinsic and extrinsic iron and zinc. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, n.75, p.303-311, 1997.
- PUSHPANJALI; KHOKHAR, S. *In vitro* availability of iron and zinc from some Indian vegetarian diets: correlations with dietary fibre and phytate. **Food Chem.**, Amsterdam, v.56, n.2, p.111-114, 1996.
- REDDY, M.B.; COOK, D. Effect of calcium intake on nonheme-iron absorption from a complete diet. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.65, p.1820-1805, 1997.
- REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY Jr., G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc

writing committee on the reformulation of the AIN-76: a rodent diet. **J. Nutr.**, Bethesda, v.123, p.1939-1951, 1993.

RIBEIRO, M.A. **Biodisponibilidade do zinco em dieta brasileira utilizando a técnica com isótopos estáveis**. São Paulo, 2002. 153p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

RODRIGUES, J.N.; GIOIELLI, L.A.; ANTON, C. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos de misturas de gordura do leite e óleo de milho. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.2, p.226-233, 2003.

SANCHEZ-MORITO, N.; PLANELLS, E.; ARANDA, P.; LLOPIS, J. Magnesium-manganese interactions caused by magnesium deficiency in rats. **J. Am. Coll. Nutr.**, Denville, v.18, n.5, p.475-480, 1999.

SANCHEZ-MORITO, N.; PLANELLS, E.; ARANDA, P.; LLOPIS, J. Influence of magnesium deficiency on bioavailability and tissue distribution of iron in the rat. **J. Nutr. Biochem.**, New York, v.11, p.103-108, 2000.

SCHAAFSMA, G. Bioavailability of calcium and magnesium. **Eur. J. Clin. Nutr.**, Basingstoke, v.51, suppl.1, p.S13-S16, 1997.

SEIBEL, M.M. The role of nutrition and nutritional supplements in women's health. **Fertil. Steril.**, Birmingham, v.70, n.4, p.579-591, 1999.

SILVA, R.A.; BORSATO, D.; SILVA, R.S.F. Método simplex supermodificado como estratégia de otimização para respostas combinadas em sistemas alimentares. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.20, n.3, p.329-336, 2000.

SILK, D.B.A; Formulation of enteral diets. **Nutrition**, New York, v.15, n.7/8, p.626-632, 1999.

- SLAVIN, J.L.; GREENBERG, N.A. Partially hydrolyzed guar gum: clinical nutrition uses. **Nutrition**, New York, v.19, n.6, p.549-552, 2003.
- SOBOTKA, L.; BRÁTOVA, M.; SLEMROVA, M.; MANAK, J.; VIZD'A, J.; ZADÁK, Z. Inulin as the soluble fiber in liquid enteral nutrition. **Nutrition**, New York, v.13, n.1, p.21-25, 1997.
- SOLOMONS, N.W.; RUZ, M. Zinc and iron interaction: concepts and perspectives in the developing world. **Nutr. Res.**, New York, v.17, n.1, p.177-185, 1997.
- SPAPEN, H.; VAN MALDEREN, D.C.; SUYS, O.E.; HUYGHENS, L. Soluble fiber reduces the incidence of diarrhea in septic patients receiving total enteral nutrition: a prospective, double-blind, randomized, and controlled trial. **Clin. Nutr.**, Amsterdam, v.20, n.4, p.301-305, 2001.
- SPERCER, H.; FULLER HOLLY, R.D.; NORRIS CLEMONTAIS, R.N.; WILLIAMS DAVID, M.S. Effect of magnesium on the intestinal absorption of calcium in man. **J. Am. Coll. Nutr.**, Denville, v.13, n.5, p.485-492, 1994.
- STATISTICA: graphics statistica. Version 6.0. Tulsa: SAS Institute, 1998. CDROM.
- SPRUMONT, Y. A note on ordinally equivalent Pareto surfaces. **J. Math. Econ.**, Amsterdam, v.34, p.27-38, 2000.
- TAM, H. Toward the uniform coverage of surfaces by scanning curves. **Comput. Aided Des.**, Guilford, v.31, n.9, p.585-596, 1999.
- TAPIERO, H.; GATÉ, L.; TEW, K.D. Iron: deficiencies and requirements. **Biomed. Pharmacother.**, Paris, v.55, n.6, p.324-332, 2001. [Review].

- TOBA, Y.; TANAKA, Y.; TANAKA, M.; AOE, S. Comparison of the effects of milk components and calcium source on calcium bioavailability in growing male rats. **Nutr. Res.**, New York, v.19, n.3, p.449-459, 1999.
- TOMA, R.B.; CURTIS, D.J. Effect on mineral bioavailability. **Food Technol.**, Chicago, v.37, n.10, p.133-144, 1996.
- TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Interactions of Fe(II), Ca(II) and Fe(III) with high dietary fibre materials: a physicochemical approach. **Food Chem.**, Amsterdam, v.54, p.23-31, 1995.
- TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary and phytic acid on mineral availability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Philadelphia, v.30, n.1, p.1-22, 1991.
- TSO, P.; LEE, T.; DEMICHELE, S.J. Lymphatic absorption of structured triglycerides vs. physical mix in a rat model of fat malabsorption. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v.277, n.2, p.G333-G340, 1999.
- VAN DYCK, K.; TAS, S.; ROBBERECHT, H.; DEELSTRA, H. The influence of different food components on the *in vitro* availability of iron, zinc and calcium from composed meal. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, Basingstoke, v.47, p.499-506, 1996.
- VAN DOKKUM, W.; DEVOS, R.H.; CLOUGHLEY, F.A.; HULSHOF, K.F.A.M.; DUKE, F.; WIJSMAN, J.A. Food additives and food components in total diets in the Netherlands. **Br. J. Nutr.**, Wallingford, v.48, n.2, p.223-231, 1996.
- VASCONCELLOS, M.I.L. Nutrição enteral. In: CUPPARI, L., org. Nutrição clínica para adultos. São Paulo: Manole, 2002. p.369-390.

VELÁZQUEZ, M.; DAVIES, C.; MARETT, R.; SLAVIN, J.L.; FEIRTAG, J.M. Effect of oligosaccharides and fibra substitutes on short-chain fatty acid production by human faecal microflora. **Anaerobe**, Amsterdam, n.6, p.87-92, 2000.

WAITZBERG, D.L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004, mpinas: UNICAMP, 2004. 1858p.

WEAVER, C. Calcium in food fortification strategies. **Dairy J.**, Ebetsu, v.8, p.443-449, 1998.

WEIMANN, A.; BASTIAN, L.; BISCHOFF, W.E.; GROTZ, M.; HANSEL, M.; LOTZ, J.; TRAUTWEIN, C.; TUSCH, G.; SCHLITT, H.J.; REGEL, G. Influence of arginine, omega-3 fatty acids and nucleotide-supplemented enteral support on systemic inflammatory response syndrome and multiple organ failure in patients after severe trauma. **Nutriton**, New York, v.14, n.2, p.165-172, 1998.

WHARTON, B.A. Trace element deficiency in man: classifications and methods of assessment. **Food Chem.**, Amsterdam, v.43, p.219-224, 1992.

WHITING, S.J. The inhibitory effect of dietary calcium on iron bioavailability: a cause for concern? **Nutr. Rev.**, Secaucus, v.53, n.3, p.77-80, 1995. [Review].

WHITTAKER, P. Iron and zinc interactions in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.68, suppl, p.442S-446S, 1998.

APÊNDICE I – Mistura vitamínica utilizada na dieta experimental

Componentes da mistura vitamínica ¹	Quantidade de vitamina para 100g de mistura vitamínica	Quantidade de cada vitamina para 1L de dieta diluída
Vitamina A (μg –ER) ²	5000,00	500,00
Vitamina B1 (mg)	10,00	1,00
Vitamina B2 (mg)	10,00	1,00
Vitamina B6 (mg)	15,00	1,50
Vitamina B12 (μg)	5,00	0,50
Vitamina C (mg)	500,00	50,00
Vitamina D (μg)	40,00	4,00
Vitamina E (mg TE) ³	80,00	8,00
Vitamina K (μg)	400,00	40,00
Niacina (mg)	100,00	10,00
Ácido Pantotênico (mg)	50,00	5,00
Ácido Fólico (μg)	1500,00	150,00
Biotina (μg)	1200,00	120,00
Maltodextrina (g)	96,80	9,68
Sódio (mg)	15,00	1,50
Total (g)	100	10

¹Plurivitamin (Support Produtos Nutricionais Ltda)

²ER=equivalentes de retinol

³Ingestão Diária Recomendada para Adultos segundo a IDR