UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS

Dissertação

Farelo de aveia e concentrados de β-glucana nativo e oxidado: efeito sobre parâmetros endócrinos e metabólicos em ratos submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica

FABRÍCIA REHBEIN NÖRNBERG

PELOTAS, 2014

Fabrícia Rehbein Nörnberg

Farelo de aveia e concentrados de β-glucana nativo e oxidado: efeito sobre parâmetros endócrinos e metabólicos em ratos submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias
Co-orientadora: Profª. Drª. Elizabete Helbig

Pelotas, 2014

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

N851a Nörnberg, Fabrícia Rehbein

Farelo de aveia e concentrados de β-glucana nativo e oxidado : efeito sobre parâmetros endócrinos e metabólicos em ratos submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica / Fabrícia Rehbein Nörnberg ; Alvaro Renato Guerra Dias, orientador ; Elizabete Helbig, coorientadora. — Pelotas, 2014.

127 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Fibra solúvel. 2. Oxidação. 3. Saciedade. 4. Colesterol. 5. Doenças cardiovasculares. I. Dias, Alvaro Renato Guerra, orient. II. Helbig, Elizabete, coorient. III. Título.

CDD : 641.1

Elaborada por Aline Herbstrith Batista CRB: 10/1737

Fabrícia Rehbein Nörnberg

Farelo de aveia e concentrados de β-glucana nativo e oxidado: efeito sobre parâmetros endócrinos e metabólicos em ratos submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos,Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 20 de março de 2014.

Banca examinadora:

.....

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias. Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade de Campinas.

.....

Profª. Drª Rosane da Silva Rodrigues. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade de Campinas.

.....

Profª. Drª. Sandra Costa Vale. Doutora em Fisiologia Comparada pela Universidade Federal de Rio Grande do Sul.

.....

Profª. Drª. Elizabete Helbig. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

.....

Profª. Drª. Renata Torres Abib. Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal de Rio Grande do Sul.

Dedico esse trabalho a quem me ensinou a ser forte, quando tinha vontade de fraquejar, a quem me deu motivos para sorrir, quando as dificuldades eram tantas, a quem me fez entender que a felicidade se encontra em cada sorriso, em cada olhar e em cada toque, ao meu filho, Arthur.

Agradecimentos

Primeiramente à Deus, por me confortar e me dar força para superar as dificuldades e mostrar o caminho nas horas incertas.

Ao meu filho Arthur, que em meio à turbulência do mestrado chegou para me dar mais vida, mais ânimo, mais vontade de superar os desafios. O que primeiro era medo e ansiedade, quanto ainda estava em meu ventre, se tornou força de vontade. Você ainda não é capaz de saber o bem que me trouxe, sou muito grata por cada sorriso teu, te amo infinitamente.

Ao meu esposo, Beto, pelo apoio nas horas de angustia, por compreender minha ausência, e ter paciência com minhas mudanças de humor.

Aos meus pais, irmãos e cunhada, vocês são o máximo, não mediram esforços para me ajudar... a companhia de vocês sempre traz alegria para os meus dias.

À Cristiane e à Pamela. Não tenho palavras para agradecer todo o esforço que fizeram para me ajudar, foram anjos que Deus colocou no meu caminho no momento em que tanto precisei! Não teria conseguido sem vocês.

À Bianca, por todo auxílio, dedicação e acima de tudo a amizade que se construiu em tardes de laboratório.

À professora Beti e ao professor Alvaro, pela orientação, confiança depositada em mim e pelos ensinamentos passados.

À Josiane e a Rosana do laboratório de grãos e ao pessoal do laboratório experimental que sempre estiveram dispostos a me ajudar e tornar os dias de trabalhos mais prazerosos.

À UFPel e ao Programa de Pós graduação em Nutrição e Alimentos pela oportunidade de realizar o mestrado e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Ao laboratório do professor Francisco Del Pino pela disposição no empréstimo de equipamentos.

Aos componentes da banca examinadora, por sua cordialidade e contribuições favorecendo o enriquecimento desta pesquisa.

Resumo

NÖRNBERG, Fabrícia Rehbein. **Farelo de aveia e concentrados de β-glucana nativo e oxidado: efeito sobre parâmetros endócrinos e metabólicos em ratos submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica.** 2014. 127f.
Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

A β-glucana do farelo de aveia tem recebido grande atenção principalmente devido aos efeitos benéficos à saúde, como redução do colesterol sérico e glicemia e controle da saciedade através de regulação hormonal, no entanto seu uso é limitado pois quando adicionado aos alimentos acarreta em características indesejáveis. A oxidação tem sido comumente aplicada a vários polissacarídeos para melhorar suas propriedades tecnológicas, no entanto, existem poucos estudos que avaliem seu impacto na propriedade funcional *in vivo.* O objetivo desse estudo foi avaliar e comparar os efeitos da ingestão do farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado em diferentes concentrações em ratos adultos machos submetidos à dieta hipercolesterolêmica. Para isso, a β-glucana foi extraída do farelo de aveia e uma parcela oxidada com peróxido de hidrogênio. 42 ratos adultos machos foram divididos em 7 grupos, todos receberam dieta hipercolesterolêmica. O grupo controle não teve alteração na fonte de fibra, os demais grupos receberam modificação, com substituição parcial ou total da fibra da dieta por β-glucana do farelo de aveia (FA 2,5 e FA 5%), ou através do concentrado nos grupos β-glucana nativa (BGN 2,5 e BGN 5%) e β-glucana oxidada (BGO 2,5 e BGO 5%) durante 30 dias. Foi avaliado o consumo alimentar e ganho de peso e após a eutanásia foi feita a dosagem sérica de glicose, lipoproteínas plasmáticas, GLP-1, PYY3-36 e grelina. Foi removida a aorta, gordura epididimal, perirenal e peritoneal, quantificado os lipídeos hepáticos, fecais e ácidos biliares fecais. O concentrado apresentou 42,3% de β-glucana enquanto que o farelo de aveia 11,9%. O concentrado de β-glucana nativo apresentou maior potencial de ligação com ácidos biliares *in vitro,* com 12,1%. *In vivo* o grupo FA5% apresentou melhores resultados, com menor ganho de peso (71,33 g), menor glicemia (126,47 mg/dL), gordura perirenal (3,74 g), epididimal (3,91 g) e peritoneal (7,65 g) e redução dos níveis de GLP-1 que também foi identificado no grupo que recebeu 2,5% de β-glucana nativa através de concentrado extraído do farelo de aveia. Todos os grupos de ratos com alteração de fibra nas suas dietas apresentaram maior excreção fecal de gordura, sendo os maiores valores encontrados nos grupos FA5% (15,5 g), BGN5% (15,4 g) e BGO5% (14,4 g), no entanto, somente os grupos FA5% (44,5 g) e BGN2,5% (44,4 g) apresentaram menores valores de gordura hepática, nenhum grupo apresentou redução sérica das lipoproteínas plasmáticas. O nível de grelina foi menor no grupo que consumiu 2,5% de β-glucana oxidada através de concentrado. O estudo demonstra que o consumo de β-glucana pode trazer benefícios para a saúde, principalmente quando testada a maior dose na forma de farelo de aveia, uma vez que foi capaz de reduzir os níveis de glicemia, o ganho de peso, os níveis de gordura corporal, além de promover aumento do hormônio da saciedade GLP-1. O processamento da fibra através da extração e da oxidação influência seus efeitos biológicos em ratos.

Palavras chaves: fibra solúvel, oxidação, saciedade, colesterol, doenças cardiovasculares

Abstract

NÖRNBERG, Fabrícia Rehbein. **Oat bran concentrates and β-glucan native and oxidized: effect on endocrine and metabolic parameters in rats subjected to a hypercholesterolemic diet.** 2014. 127f.
Dissertation (Master). Pos Graduate Program in Nutrition and Food. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2014.

The β-glucan from oat bran has received much attention mainly due to beneficial health effects, such as reducing plasma cholesterol and control of satiety through hormonal regulation, however its use is limited because when added to foods leads to undesirable characteristics. The oxidation has been commonly applied to various polysaccharides to improve their technological properties, however, there are few studies that assess their impact on functional property *in vivo*. The aim of this study was to evaluate and compare the effects of intake of oat bran and of β-glucan concentrates native and oxidized at different concentrations in adult male rats subjected to a hypercholesterolemic diet. For this, the β-glucan extracted from oat bran and a portion oxidized with hydrogen peroxide. 42 adult male rats were divided into 7 groups, all received hypercholesterolemic diet. The control group had no change in source of fiber, the other groups were modified, with partial or total substitution of dietary fiber by β-glucan from oat bran (FA2.5% and FA 5%), or by concentrating on groups native β-glucan (BGN2.5% and BGN5%) and β-glucan oxidized (BGO2.5% and BGO5%) for 30 days. Food intake and weight gain has been reported after euthanasia and serum glucose, plasma lipoproteins, GLP- 1, ghrelin and PYY3-36 was taken. The aorta, epididymal, perirenal and peritoneal fat, quantified hepatic lipids, fecal and fecal bile acid was removed. The concentrate showed 42.3% of β-glucan, while oat bran 11.9%. The concentrated β-glucan native showed higher binding potential with bile acids *in vitro*, with 12.1%. *In vivo,* group FA5% showed better results, with less weight gain (71.33 g), lower blood glucose (126.47 mg/dL), perirenal fat (3.74 g), epididymal (3.91 g) and peritoneal (7.65 g) and reduced levels of GLP-1 that was also identified in the group given 2.5% by native β - glucan concentrate extracted from oat bran. All groups of mice with altered fiber in their diets had higher fecal fat excretion , with the highest values found in groups FA5% (15.5 g), BGN5% (15.4 g) and BGO5% (14.4 g) , however, only groups FA5 % (44.5 g) and BGN2.5 % (44.4 g) had lower levels of liver fat, no group showed reduction of serum lipoproteins. Ghrelin levels were lower in the group that consumed 2.5% of β-glucan concentrate rusted through. The study shows that consumption of β-glucan can bring health benefits, especially when the highest dose tested as oat bran, as it was able to lower blood glucose levels, weight gain, levels of body fat, and promote increased satiety hormone GLP-1. The processing of the fiber through the extraction and oxidation influence their biological effects in rats.

Key words: soluble fiber, oxidation, satiety, cholesterol, cardiovascular diseases

Lista de figuras

Revisão Bibliográfica e Projeto de Pesquisa

Figura 1 Estrutura molecular da β-glucana 16

Figura 2 Fluxograma da extração de β-glucana..... 38

Artigo 1

Figura 1 Capacidade de ligação com ácidos biliares do farelo de aveia, concentrado de β-glucana nativo e oxidadao com peróxido de hidrogênio..... 84

Figura 2 Gordura epididmal, perirenal e peritoneal dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42)..... 85

Figura 3 Gordura e ácidos biliares fecais e gordura hepática dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42)..... 86

Figura 4 Concentração de glicose sérica dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42)..... 87

Figura 5 Fotomicrografia de aorta torácica de ratos *Wistar* após o período de tratamento coradas com hematoxilina e eosina (n=42)..... 88

Artigo 2

Figura 1 Concentração relativa de β-glucana presente no concentrado e no farelo de aveia..... 97

Figura 2 Consumo de ração (a) e ganho de peso (b) durante o período de experimento dos ratos *Wistar* com dieta hiperlipídica..... 99

Figura 3 Níveis séricos do hormônio GLP-1 (a), PYY 3-36 (b) e grelina (c) dos ratos *Wistar* com dieta hiperlipídica..... 101

Lista de tabelas

Projeto de pesquisa

Tabela 1 Delineamento experimental para avaliar a influência do farelo de aveia e do concentrado de β-glucana nativo e oxidado adicionadas à ração hiperlipídica e hipercolesterolêmica oferecidas para ratos *Wistar* em ensaio biológico..... 37

Tabela 2 Formulação das dietas experimentais ($g.kg^{-1}$) a serem ofertadas em ensaio biológico com ratos *Wistar* machos..... 41

Tabela 3 Orçamento e descrição dos materiais utilizados no projeto de pesquisa..... 47

Artigo 1

Tabela 1 Formulação das dietas hipercolesterolêmicas fornecidas (g/kg dieta) aos ratos *Wistar* durante o período do experimento..... 79

Tabela 2 Composição química das dietas ofertadas aos ratos *Wistar* durante o período de tratamento..... 80

Tabela 3 Consumo de ração diário, ganho de peso e índice de Lee dos ratos *Wistar* tratados com dieta hipercolesterolêmica (n=42)..... 81

Tabela 4 Valores séricos de triglicerídeos, colesterol total, HDL, LDL e VLDL dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42)..... 82

Artigo 2

Tabela 1 Formulação das dietas hiperlipídicas fornecidas (g/kg dieta) durante o ensaio biológico..... 95

Tabela 2 Composição química das dietas hiperlipídicas ofertadas aos ratos *Wistar* durante o ensaio biológico..... 98

Lista de abreviaturas e siglas

ADA – Associação Americana de Diabetes
AACC - American Association for Clinical Chemistry
AGCC – Ácido graxo de cadeia curta
AOAC - Association of Analytical Communities
ANOVA – Análise de Variância
ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária
CCK – Colecistoquinina
CFMV- Conselho Federal de Medicina Veterinária
COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CT – Colesterol total
DCNT – Doenças crônicas não transmissíveis
DCTA – Departamento de ciência e tecngologia agroindustrial
DCV – Doenças Cardiovasculares
FDA – Food and Drug Administration
g – Gramas
GC – Grupo controle
GFA2,5% - Grupo Farelo de aveia 2,5%
GFA5% - Grupo Farelo de aveia 5,0%
GBGN2,5% - Grupo β-glucana nativa 2,5%
BGN5% - Grupo β-glucana nativa 5,0%
GBNO2,5% - Grupo β-glucana oxidada 2,5%
BGO5% - Grupo β-glucana oxidada 5,0%
GLP-1 – Glucagon-like peptídeo 1
GLUT-4 – Transportador de glicose 4
ha – Hectare
HDL – High density lipoprotein (Lipoproteína de Alta Densidade)
HMG CoA redutase – Hidroximetilglutaril CoA- redutase
Kg - Quilogramas
LDL - Low density dipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade)
min - Minuto
ml – Mililitros
mg – Miligramas

μm - micrometro

OMS - Organização Mundial de Saúde

PI3K/Akt –Fosfatidilinositol 3-quinase ativada pela proteína quinase

PYY3-36 – Peptídeo Y-Y3-36

Rpm - Rotações por minuto

RNAm - Ácido ribonucléico mensageiro

TAG – Triglicerídeos

UFPel - Universidade Federal de Pelotas

VLDL - Very low density lipoprotein (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade)

WHO - World health organization

Sumário

Resumo.....5
Abstract.....6
Lista de figuras.....7
Lista de tabelas.....8
Lista de abreviaturas e siglas.....9
1. Introdução geral.....12
2. Revisão bibliográfica.....15
3. Projeto de pesquisa.....30
4. Relatório do trabalho de campo.....50
5. Artigo 1: Influência da extração e oxidação da β-glucana do farelo de aveia sobre parâmetros relacionados com as doenças cardiovasculares.....52
6. Artigo 2: Efeitos da extração e da oxidação da β-glucana do farelo de aveia sobre o consumo alimentar, ganho de peso e nos níveis séricos dos hormônios GLP-1, PYY 3-36 e grelina em ratos.....89
7. Conclusão geral.....110
Referências bibliográficas.....111
Apêndice.....121
Anexo.....122

1. Introdução geral

Segundo a OMS (2010), mundialmente, estima-se que a exposição a fatores de risco cardiovascular levará a 36 milhões de mortes prematuras até o ano de 2015, com especial atenção aos países em desenvolvimento, que, ao contrário dos desenvolvidos, têm sua população contraindo doenças, cada vez mais jovem, frequentemente com complicações e mortes precoces. Entre os fatores de risco de maior destaque são fumo, colesterol elevado, hipertensão arterial, sedentarismo, obesidade e diabetes.

Seguindo a tendência mundial, no Brasil, em 2011, as doenças cardiovasculares (DCV) foram as principais causas de morte, responsáveis por 29,4% de todos os óbitos registrados no país em um ano. Isso significa que mais de 308 mil pessoas morreram principalmente de infarto e acidente vascular cerebral. A alta freqüência do problema coloca o Brasil entre os 10 países com maior índice de mortes por doenças cardiovasculares (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012), indicando um problema de saúde pública da população (DÂMASO, 2001).

Segundo Khoury et al. (2012) muitos estudos têm avaliado o potencial das dietas e componentes alimentares como uma intervenção de primeira linha na prevenção e no tratamento dos fatores de risco das DCV. As fibras alimentares têm sido fortemente implicadas a benefícios à saúde. Estudos randomizados demonstraram que o consumo de alimentos ricos em fibras e fibras isoladas, tanto insolúveis e solúveis, atuam sobre a obesidade, DCV e diabetes tipo 2 (MCKEOWN et al., 2004; SAHYOUN et al., 2006), uma vez que melhoram o controle glicêmico, reduzem a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e contribuem positivamente em longo prazo no controle de peso (SLAVIN, 2008).

Em comparação com as fibras insolúveis, as fibras solúveis são mais potentes para atenuar a presença de fatores de risco para as DCV em animais e seres humanos (KHOURY et al., 2012). O maior interesse na β-glucana nas duas últimas décadas surge das suas propriedades funcionais e bioativas.

As β-glucanas são polissacarídeos não amiláceos que fazem parte da fração solúvel da fibra alimentar e são encontradas nos cereais, principalmente na cevada e na aveia, onde estão contidas no endosperma da semente. Apresentam uma cadeia linear de unidades de β-glicopiranosil unidas por ligação β (1→4) e β (1→3).

As ligações β (1→4) correspondem aproximadamente a 70% das ligações glicosídicas e ocorrem em sequência de duas ou três unidades de glicose, interrompidas por uma ligação β (1→3) isolada (DE SÁ; DE FRANCISCO; SOARES, 1998; FERNANDES et al., 2006).

A β-glucana da aveia tem sido relacionada a diversos benefícios para a saúde, e seu uso diário é importante para a redução do tempo de trânsito intestinal, prevenção da constipação, redução no risco de câncer de cólon retal, produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), redução dos níveis de colesterol no sangue, regulação dos níveis de glicose, diminuição da glicemia pós-prandial, atenuação do aumento da insulina e promoção do crescimento de microflora intestinal benéfica. Outros efeitos menos pesquisados incluem: absorção reduzida de nutrientes, saciedade pós-prandial prolongada e aumento do bolo fecal (BRENNAN, LOUISE e CLEARY, 2005).

A FDA (Food and Drug Administration, 2006) recomenda que, juntamente com uma dieta com baixos níveis de colesterol e gordura saturada, é necessário o consumo diário de, no mínimo, 3 gramas de β-glucana por dia, proveniente de aveia ou cevada para reduzir o risco de desenvolver DCV. No Brasil a recomendação da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008) é de que os alimentos contenham 3 gramas de β-glucana na porção do alimento sólido pronto para o consumo, ou de 1,5 gramas no alimento líquido (em torno de 150 kcal). Com essas quantidades de β-glucana de aveia o alimento poderá solicitar a alegação *"A* β-glucana *(fibra alimentar) auxilia na redução da absorção de colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis".*

A β-glucana é encontrada em concentrações mais elevadas no farelo de aveia em comparação aos demais produtos comerciais da aveia e cevada com concentração de 7-10% (WOOD, 1994). Frações mais ricas em β-glucana são obtidas através de processos de extração que resultam em concentrados ou isolados que contêm 8-30% e 95% da fibra respectivamente. Estes podem ser utilizados em produtos de panificação como pães e bolos, aumentando o teor de fibra do alimento e promovendo o aumento do volume da massa (LAZARIDOU e BILIADERIS, 2007).

Segundo Moura et al. (2011), a β-glucana forma um gel de alta viscosidade que dificulta a incorporação da fibra ao alimento, limitando seu uso industrialmente,

razão pela qual têm sido realizados estudos para modificar as suas propriedades para se obter o produto desejado.

A oxidação da β–glucana é uma modificação química que altera a sua estrutura química e consequentemente afeta suas propriedades tecnológicas e funcionais. No entanto, se o tratamento oxidativo for muito intenso, pode causar hidrólise da molécula e assim reduzir o peso molecular da β–glucana causando influência na eficácia da fibra como ingrediente funcional que, segundo Wood (2007) está relacionada ao processo de extração e fatores como dose, peso molecular, arranjo estrutural e viscosidade.

Existem poucos estudos das modificações na estrutura da β–glucana através da oxidação sobre parâmetros cardiovasculares *in vivo,* sendo o efeito sobre hormônios da fome e saciedade ainda não relatado na literatura, evidenciando a importância de estudos que avaliem a influência da modificação química e do processo de extração, através da comparação com a β–glucana nativa e a naturalmente presente no farelo de aveia.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Aveia e β-glucana

A aveia é uma gramínea, pertencente à família *Poaceae* e ao gênero *Avena* (CARBONELL et al., 2005). Entre as diferentes espécies, a *Avena Sativa L.* corresponde a 80% da área plantada mundialmente (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 2003). A produção de aveia distribui-se em aproximadamente 78% para alimentação animal, 18% para alimentação humana e os 4% restantes para fins industriais, produção de sementes e exportação (DANIEL, 2006). Segundo o mesmo autor, o número de produtos à base de aveia e o crescente interesse no desenvolvimento científico nas diversas áreas de produtos alimentícios estimam um aumento na produção e consumo humano nos próximos anos.

A produção de aveia no Brasil aumentou de 39 mil, em 1976, para 360 mil toneladas, no período de 2002 a 2003, representando um crescimento de 923% (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 2003). Em 2005 foi classificada como a sétima cultura em área cultivada e em produção de grãos com 356 mil hectares cultivados, obtendo-se uma produção de 547 mil toneladas, o que corresponde a um rendimento de 1.448 kg/ha (CONAB, 2007). O Brasil passou a ser o primeiro produtor de aveia na América Latina, superando a Argentina e posicionando-se como 12º maior produtor mundial de grãos de aveia.

Nos período de 2007-2011, observou-se redução na área colhida (-5,5% ao ano), no entanto, houve aumento de produção, com taxa anual média de crescimento de 3,4%, em decorrência do aumento de rendimentos da cultura que ficaram próximo ou superiores a 2.000 kg/ha. O Rio Grande do Sul e o Paraná são os maiores produtores de aveia no país. O Rio Grande do Sul representou 62,7% da área colhida (61,6% da produção), o estado do Paraná totalizou 34,4% da área de cultivo (36,9% da produção) e o Mato Grosso do Sul foi responsável por 3,0% da área colhida (1,5% da produção) (EMBRAPA, 2012).

A aveia possui propriedades nutricionais relevantes que a diferenciam entre os cereais e incluem-na como referência de fonte de carboidratos complexos, com conteúdo que varia de 52 a 80%, pela qualidade e quantidade protéica, que varia de 12,4 a 24,5% no grão descascado, e pela quantidade de lipídios, que varia de 3,1 a

10,9%, com predominância de ácidos graxos insaturados (WOOD et al., 1991). Além de vitaminas e minerais, um dos aspectos nutricionais de relevância da aveia, é o maior teor de β-glucana (fibra alimentar solúvel) quando comparado aos demais cereais (GUTKOSKI &TROMBETTA, 1999).

A β-glucana é um polissacarídeo não ramificado que faz parte da porção solúvel das fibras da aveia. Está localizada no endosperma da semente, constituindo uma cadeia linear composta por unidades de glicose, formadas de ligações glicosídicas β (1→4 e 1→3). As ligações β-1,4 (aproximadamente 70%) ocorrem em grupos, enquanto as ligações β-1,3 ocorrem isoladas (aproximadamente 30%) (WOOD et al.,2007). A estrutura molecular da β-glucana pode ser observada na Figura 2.

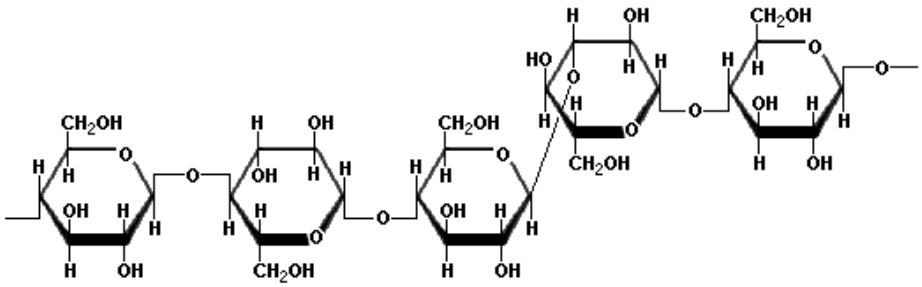


Figura 1 - Estrutura molecular da β-glucana.
Fonte: Moura et al., 2011.

O teor de β-glucana nos cereais varia muito entre as espécies, dentro da mesma espécie e entre os anos da safra. Em um estudo cujo objetivo foi avaliar a composição centesimal e o teor de β-glucana em cereais e derivados, Fujita e Figueroa (2003) demonstraram que os grãos de aveia e cevada são os que apresentam teor mais elevado. Nos produtos comerciais o maior teor de fibra se encontra no farelo de aveia que contém 9,68% de β-glucana, seguido dos flocos de aveia com 7,03%. O menor valor foi encontrado na farinha de aveia, com 3,74% de β-glucana. Este estudo corrobora o estudo de Sá (1998), que avaliou a concentração de β-glucana no cultivar da aveia e produtos produzidos a partir desta. Os resultados demonstraram teor mais elevado de β-glucana no farelo de aveia, com média de 9,5%, contra 3,74% na farinha de aveia.

2.2 Concentrado de β-glucana

Os efeitos benéficos da β-glucana à saúde são bem documentados. Quando presente na dieta, essa fibra diminui os riscos de desenvolver doenças crônicas como diabetes e doenças cardiovasculares (DELANEY et al., 2003; WOOD, 2007). Entretanto, segundo Biörklund (2010), as pessoas em geral não consomem a quantidade de aveia suficiente para alcançar a dose de β-glucana necessária para os efeitos benéficos à saúde, como redução do colesterol total e LDL sérico, controle da glicemia e da fome. Em função disso, busca-se produzir concentrados de β-glucana, a partir da aveia ou da cevada, para introduzi-los nos alimentos e melhorar as suas propriedades funcionais e tecnológicas (DELANEY et al. 2002; WOOD, 2007).

Os concentrados apresentam de 8-30% de β-glucana (LAZARIDOU & BILIADERIS 2007). Segundo Daniel et al., (2004) a β-glucana pode ser utilizada como ingrediente bioativo ou com finalidade tecnológica como substituto da gordura em sorvetes, espessante de molhos e na formulação de almôndegas, embutidos cárneos, biscoitos e sopas.

Na maioria das vezes a β-glucana é extraída da aveia ou cevada, principalmente em função da concentração e de sua localização no grão, fator que mais influencia nos processos de isolamento da β-glucana (LAZARIDOU e BILIADERIS, 2007). Há também diferenças na localização da β-glucana na cevada e na aveia, na cevada ela encontra-se distribuída uniformemente no endosperma, e na aveia ela está mais concentrada nas camadas externas do endosperma do grão (VASANTHAN e TEMELLI et al., 2008).

O processamento do cereal, necessário para aumentar seu tempo de armazenamento, também pode influenciar na extratibilidade da β-glucana. A secagem e o congelamento podem diminuir a disponibilidade de β-glucana nos cereais. Na secagem isso se deve à expulsão das moléculas de água da estrutura dos polissacarídeos, tornando-os menos solúveis e criando novas barreiras para penetração da água. No congelamento ocorre redução do peso molecular da β-glucana durante os ciclos de congelamento/descongelamento (MALKKI e VIRTANEN, 2001; JOHANSSON et al., 2007).

Além disso, segundo Wood (2007), a eficácia da fibra como ingrediente funcional e tecnológico pode estar relacionado ao processo de extração e fatores

como dose, peso molecular, solubilidade em água, arranjo estrutural e viscosidade. O peso molecular é determinante na viscosidade do gel de β-glucana. A diminuição do peso molecular acarreta em diminuição da viscosidade, portanto, qualquer tratamento químico, enzimático, tratamento para armazenamento, congelamento, processamento, ou cozimento, que altere o peso molecular pode alterar a viscosidade e ocasionar alteração das suas propriedades funcionais (WOOD, 2007; JOHANSSON et al., 2006).

Piñero et al. (2008) elaboraram empanados de carne bovina com baixo teor de gordura, adicionando 13,45% de β-glucana na forma de gel, diminuindo de 20% para 5,77% o teor de gordura dos empanados. Os autores não observaram diferenças na análise sensorial em relação ao controle, sem β-glucana. Segundo os autores, isso se deve ao fato de ocorrer maior retenção de umidade durante o cozimento nos empanados com β-glucana, além de promover maior rendimento de cocção e preservar a maciez do produto.

Já segundo Moura et al., (2011), a suplementação de alimentos com elevada viscosidade pelo acréscimo da β-glucana pode afetar negativamente suas qualidades sensoriais. Com a diminuição da viscosidade do gel é mais fácil incorporar a fibra aos alimentos, pois praticamente não ocorre alteração na textura do produto final. Entretanto, a estrutura e viscosidade da β-glucana podem estar relacionadas com as suas propriedades funcionais fisiológicas. De acordo com Queenan et al., (2007) e Huang et al., (2011), pesquisas que avaliem o efeito da β–glucana isolada da aveia são limitadas, justificando a necessidade de mais estudos.

2.3 Oxidação

A indústria de alimentos apresenta interesse em desenvolver novos produtos com características funcionais, sendo a adição de concentrados de β-glucana aos alimentos uma boa opção para obter produtos com essas características (BAE et al., 2009). Entretanto, a utilização de β-glucana em determinados alimentos é limitada, pois não atende às características desejáveis, tais como menor viscosidade, maior solubilidade, menor retrogradação e maior claridade do gel (BEMILLER & WHISTLER, 2009, MOURA et al., 2011).

Segundo Spier (2010) a estrutura do amido pode ser modificada por agentes químicos, físicos e métodos enzimáticos levando a produtos com características

específicas que atendam às exigências da indústria. A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo desenvolvida há algum tempo com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos, aumentando sua utilidade na indústria (MOURA et al., 2011).

A modificação química é obtida quando o amido nativo é submetido a um tratamento com reagente específico com objetivo de alterar algumas de suas propriedades (SÁNCHES-RIVERA et al., 2005). Esta definição inclui a oxidação, hidrólise ácida, acetilação, esterificação, e ligações cruzadas. Modificações químicas específicas são aplicadas em amidos para satisfazer as exigências de diferentes setores industriais (KARIM et al., 2008).

A oxidação é um tipo de modificação que altera as características e propriedades funcionais de polímeros. Os agentes químicos oxidantes mais utilizados são peróxido de hidrogênio e hipoclorito de sódio (KUAKPETOON e WANG, 2008; TOLVANEN et al., 2009). Durante a reação de oxidação, que causa a despolimerização resultando em menor viscosidade, os grupos hidroxila das moléculas de amido são primeiramente oxidados a grupos carbonila e posteriormente a grupos carboxila (SPIER, 2010). Segundo Dias (2007) os grupos carboxílicos por serem mais volumosos que as hidroxilas aumentam o espaço entre as cadeias de amilose evitando que estas se aproximem o suficiente para retrogradar.

Os amidos oxidados são muito utilizados na indústria alimentícia porque possuem características como: baixa viscosidade, alta estabilidade a baixa temperatura, propriedade de retenção de água, e são utilizados como agentes ligantes e emulsificantes. A oxidação de amido com peróxido de hidrogênio também aumenta a claridade da pasta (SINGH, KAUR e MCCARTHY, 2007).

No estudo de Moura et al. (2011), os tratamentos oxidativos com peróxido de hidrogênio promoveram mudanças nas características da β-glucana extraída do farelo de aveia. A oxidação promoveu aumento de grupos carbonila e carboxila, alterações no poder de intumescimento e aumento da capacidade de ligação da fibra com ácidos biliares, o que pode ser um indicativo de aumento de sua eficiência na redução de colesterol. No entanto, os tratamentos oxidativos tornam a β-glucana mais suscetível à digestão química, o que poderá acarretar em maior degradação da fibra, alterando suas propriedades e promovendo alterações indesejáveis na

glicemia. Com os tratamentos oxidativos também ocorreu diminuição da dureza, adesividade e gomosidade do gel, bem como redução da viscosidade.

Park et al. (2009) afim de verificar os efeitos da β-glucana nativa e oxidada, dividiram 32 ratos em 4 grupos, o grupo controle recebeu dieta hipercolesterolêmica, e os grupos experimentais receberam dieta hipercolesterolêmica contendo β-glucana nativa, oxidada e sua mistura. Os ratos hipercolesterolêmicos com dietas contendo β-glucana oxidada apresentaram redução significativa dos triacilgliceróis, colesterol total, LDL e VLDL quando comparados ao grupo controle e β-glucana nativa. Segundo os autores, o fato da β-glucana oxidada apresentar melhores resultados biológicos pode ser parcialmente explicado pela sua maior solubilidade em água.

Até o presente momento não existem mais pesquisas do efeito da oxidação da β-glucana sobre o efeito biológico. Em relação à β-glucana nativa, segundo Delaney et al. (2002) e Wood, (2007) quando presente na dieta, diminui os riscos de desenvolver doenças crônicas como diabetes, dislipidemia, obesidade e doenças cardiovasculares, por meio da diminuição da glicemia pós-prandial, diminuição da atividade das enzimas digestivas, diminuição dos níveis de colesterol sanguíneo e atividade antiaterogênica. Além disso, há evidências de que a β-glucana tem ação prebiótica, estimulando o crescimento seletivo da microbiota intestinal, com produção AGCC pela fermentação bacteriana e inibição do crescimento de micro-organismos patogênicos (MALKKI e VIRTANEN, 2001).

2.4 Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas atualmente a principal causa de morte em todo o mundo (WHO, 2011). Segundo WHO (2011), estima-se que 17,3 milhões de pessoas morreram de DCV em 2008 sendo que mais de 80% dessas mortes ocorreram em países de baixa e média renda e, em 2030, aproximadamente 23,6 milhões de pessoas morrerão em decorrência de DCV. No Brasil, em 2007, as DCV foram responsáveis por quase um terço dos óbitos totais e 65% do total de mortes na faixa etária de 30 a 69 anos de idade, atingindo a população adulta em plena fase produtiva (GODOY et al. 2007), indicando um problema de saúde pública da população (DÂMASO, 2001).

As transições demográfica, nutricional e epidemiológica ocorridas no século passado determinaram um perfil de novos problemas alimentares e nutricionais,

importantes na determinação de saúde e doença. Definiu-se dessa forma um padrão de risco para as DCV, como as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) diabetes, hipertensão, dislipidemia e a obesidade, além de alguns hábitos relacionados ao estilo de vida, como dieta rica em calorias, gorduras saturadas, colesterol e sal, tabagismo e sedentarismo (CASTRO et al., 2004).

No Brasil o estudo de base populacional, Inquérito Domiciliar sobre Comportamentos de Risco e Morbidade Referida de Doenças e Agravos não Transmissíveis: Brasil, 15 Capitais e Distrito Federal, 2002-2003, confirmaram a alta prevalência desses fatores, cujos dados revelam a alta prevalência do tabagismo (12,9% a 25,2%), da inatividade física (28,2% a 54,5%), da hipertensão arterial (7,4% a 59%), do sobrepeso (23% a 33,5%) e da obesidade (8,1% a 12,9%) nas diferentes faixas etárias e regiões do país (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2004). Apesar disso, reconhece-se que a DCV pode ser evitada através de hábitos saudáveis (ALMENDRA et al., 2012).

Segundo o Banco Mundial (2011), as DCNT representam hoje dois terços da carga de doença dos países de média e baixa renda e chegará a três quartos até 2030. No Brasil, apesar de índices ainda preocupantes de doenças infecciosas, desnutrição, causas externas e condições maternas e perinatais, as doenças crônicas representam em torno de 66% da carga de doenças (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Estudos têm evidenciado a relação entre características qualitativas e quantitativas da dieta e ocorrência de DCV (CERVATO et al., 1997; MUSTAD e KRIS-ETHERTON, 2001). Os hábitos alimentares inadequados apresentam-se como marcadores de risco, na medida em que o consumo elevado de colesterol, lipídios e ácidos graxos saturados somados ao baixo consumo de fibras, participam na etiologia das dislipidemias, obesidade, diabetes tipo 2 e hipertensão arterial (MARTINS et al. 1994; PARADA, COZZA e PARADA, 1999).

Segundo WHO (2011), apesar de grande parte das DCV poder ser prevenida, elas continuam aumentando, principalmente porque as medidas preventivas são insuficientes. Há muitos anos a ingestão diária de fibras na dieta tem sido recomendada, já em 2002 o Institute of Medicine fazia menção a importância das fibras, o que foi inclusive corroborado nas diretrizes da American Heart Association (2010), principalmente devido à evidência de prevenção das DCV.

Uma meta-análise de 10 estudos de coorte para analisar a relação do consumo de fibras e DCV revelou evidências convincentes de benefícios (PEREIRA et al., 2004). Grande parte da evidência disponível indica que as pessoas que consomem alimentos ricos em fibra alimentar (grãos integrais, frutas, legumes e feijão) apresentam uma menor prevalência de fatores de risco para DCV, incluindo hipertensão, obesidade e diabetes tipo 2 (KING, MAINOUS, LAMBOURNE 2012). Entre as fibras, a β-glucana da aveia tem sido relacionada a diversos benefícios para a saúde, podendo atuar na prevenção de fatores de risco para as doenças cardiovasculares (KERCKHOFFS, HORNSTRA e MENSINKM 2003).

2.5 Propriedades da β-glucana

2.5.1 Diminuição do colesterol

Dentre os principais fatores de risco cardiovasculares destacam-se as dislipidemias. As dislipidemias são alterações metabólicas decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico que ocasionam repercussão nos níveis séricos das lipoproteínas, levando à formação de placas gordurosas que, à medida que aumentam de tamanho, reduzem o fluxo sanguíneo até que, em caso extremo, chegam a obstruí-lo por completo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOOLOGIA, 2007).

A β-glucana possui efeito protetor contra as DCV pela redução dos níveis de colesterol sanguíneo (WOOD, 2007). Segundo BIÖRKLUND et al. (2008), já em 1963 foi observado que a aveia reduziu as concentrações de colesterol total sérico em seres humanos. Desde então, muitos estudos realizados em humanos e animais confirmaram este efeito, e sugeriu-se então que esse efeito está relacionado à fibra solúvel da aveia, β-glucana.

Gregorio, Areas e Reyes (2001) relatam que a principal via para a eliminação do colesterol no organismo é através da conversão hepática do colesterol em ácidos biliares. Essa regulação representa um importante papel na manutenção da homeostase do colesterol sérico. Para a conversão do colesterol em ácidos biliares, a principal via é através da enzima colesterol 7 α-hidroxilase hepática.

No estudo de Andersson, Ellegård e Andersson (2002) foi demonstrado que o consumo de uma refeição com 11 g de β-glucana através da oferta do farelo de

aveia aumentou os níveis séricos da enzima colesterol 7 α-hidroxilase hepática em humanos, após 8 e 12 horas. Alguns autores (GALLAHER e SCHNEEMAN, 1997; RIQUE et al., 2002) também referem que a propriedade hipocolesterolêmica da β-glucana se deve a sua capacidade de aumentar a excreção de ácidos biliares, fazendo com que o fígado remova colesterol do sangue para a síntese de novos ácidos biliares.

Segundo Hooda et al. (2010), as fibras podem ser fermentadas por ação de bactérias anaeróbicas no intestino grosso, produzindo ácidos graxos de cadeia curta, com predominância de propionato, butirato e acetato que promovem a redução do pH no cólon diminuindo a solubilidade e a reabsorção dos ácidos biliares. Além disso, o propionato, principal AGCC metabolizado pelo fígado, exerce um controle na síntese endógena do colesterol a partir da inibição da enzima hidroximetilglutaril CoA- redutase (HMG-CoA redutase).

A β-glucana também promove inibição da digestão e absorção de gordura da dieta pelo aumento da viscosidade do conteúdo intestinal, influenciando na emulsificação das gorduras através do aumento do tamanho das gotículas, o que diminui a superfície de contato entre os lipídios e a fase aquosa, promovendo diminuição da absorção e aumento da excreção de gordura nas fezes (LAZARIDOU e BILIADERIS, 2007).

Naumann et al. (2006) ofertaram concentrado contendo 5 g de β-glucana proveniente do farelo de aveia para 42 indivíduos que resultou na redução dos níveis séricos de colesterol LDL. Resultado semelhante de Bae et al., (2010), que ofertaram concentrado de β-glucana a ratos *Wistar* por 4 semanas. Os autores concluíram que a suplementação com β-glucana foi significativamente eficaz na melhoria do perfil lipídico e na excreção de ácido biliar dos ratos.

Delaney et al. (2003), administraram dietas contendo 2, 4 ou 8 % de β-glucana através de concentrados de β-glucana da aveia ou cevada para hamsters. Verificaram que o consumo de concentrado de β-glucana promoveu diminuição da absorção de colesterol no intestino, evidenciado pelo aumento da sua excreção fecal, refletindo numa diminuição do colesterol total sanguíneo dos animais.

Drozdowski et al. (2010) demonstraram em seu estudo que a β-glucana inibe *in vitro* a absorção dos ácidos graxos de cadeia longa, particularmente quando há uma maior concentração de ácidos graxos, e a absorção de colesterol também foi

reduzida. Além disso, houve redução na expressão de genes intestinais relacionados à síntese e transporte de ácidos graxos e colesterol.

Quanto à dose de ingestão de β-glucana necessária para usufruir de seus efeitos funcionais, de acordo com Wood (2007), há uma correlação inversa entre os níveis séricos de colesterol e a ingestão de β-glucana, quanto maior a ingestão de β-glucana, maiores seus efeitos na diminuição do colesterol. No entanto, isso foi verificado em indivíduos que receberam doses entre 3 e 6 gramas de β-glucana, não sendo verificado correlação linear com ingestão de até 10 gramas de β-glucana por dia.

A FDA (FDA, 2006) e a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008) recomendam que, juntamente com uma dieta com baixos níveis de colesterol e gordura saturada, é necessário o consumo diário de, no mínimo, 3 gramas de β-glucana por dia para reduzir o risco de desenvolver doenças cardiovasculares. Com essas quantidades de β-glucana de aveia o alimento poderá solicitar a alegação *"A* β- *glucana (fibra alimentar) auxilia na redução da absorção de colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis".*

2.5.2 Controle da glicemia e sensibilidade à insulina

A incidência de *Diabetes mellitus* tipo 2 está aumentando rapidamente em todo o mundo. Segundo Wild e Green (2004) o Brasil, que em 2000 ocupava o oitavo lugar entre os dez países com maior número de casos de diabetes (4,6 milhões), ocupará a sexta posição em 2030, quando contará com 8,9 milhões de pessoas diagnosticadas. Para evitar o desenvolvimento de diabetes tipo 2, a Associação Americana de Diabetes (ADA) recomenda uma redução na ingestão calórica e aumento do consumo de fibras (ADA, 2010).

Segundo Donatto (2007) a primeira evidência documentada sobre a relação entre a ingestão de uma dieta rica em fibras dietéticas e o diabetes foi em 1972 quando Trowell et al. (1972) publicaram os efeitos sobre a resposta glicêmica, mudando as recomendações dietéticas e os tipos de carboidratos utilizados para o tratamento do diabetes.

Na revisão de Chen e Raymond (2008) o efeito da β-glucana para reduzir a glicemia foi relacionado com o retardo do esvaziamento gástrico, de modo que

glicose na dieta é absorvida mais lentamente e assim, o nível de pico da glicose é mais suavizado e a curva de resposta é muito menor. Essas alterações reduzem a sensação de fome causada pela rápida diminuição da glicemia. Assim, a β-glucana podem diminuir o apetite e reduzir a ingestão de alimentos.

Outro mecanismo possível da β-glucana na redução da glicemia é mediado através da ativação da via Fosfatidilinositol 3-quinase pela proteína quinase (PI3K/Akt). A atividade diminuída dessa via mostrou ser um papel chave na patogênese da diabetes (BROWN, 2006; CHEN e SEVIOUR 2007) uma vez que regula a migração do transportador de glicose 4 (GLUT-4) para a superfície da célula para que ocorra a entrada de glicose para dentro da célula (WATSON e PESSIN 2001). Ativação do PI3K também conduz à síntese de glicogênio no fígado para reduzir os níveis de glicose no sangue (GABBAY et al., 1996).

Produtos enriquecidos com β-glucana da aveia se mostram capazes de reduzir a glicose pós-prandial e respostas insulinêmicas em indivíduos saudáveis e em pacientes com diabetes tipo 2 (LIATIS et al., 2009). A hiperinsulinemia é um indicador de resistência à insulina, considerada um fator de risco independente para a doença cardiovascular, já que tem um papel importante no desenvolvimento de outros componentes da síndrome metabólica, como a dislipidemia, a hipertensão e a hiperuricemia (OLIVEIRA et al., 2004). A diminuição da resposta insulínica é proporcional à redução da absorção de glicose no intestino (BEHALL et al., 2006).

Pães contendo concentrado de β-glucana foram administrados como terapia nutricional a pacientes com diabetes tipo 2, e após o tratamento verificou-se melhora na resistência a insulina nestes indivíduos (LIATIS et al., 2009). No estudo de Hlebowicz et al. (2008) foi administrado iogurte contendo 4 g de β-glucana a indivíduos saudáveis e se observou redução significativa na resposta da glicose pós-prandial.

Biörklund et al. (2008) ofertaram por 5 semanas a quatro grupos uma bebida com 5 g ou 10 g de β-glucana da aveia ou cevada e um grupo recebeu a bebida controle. Este estudo mostrou que o consumo de 5 g ou 10 g de β-glucana da aveia levou a menores níveis de glicose sanguínea pós-prandial, mas nenhum efeito foi observado após o consumo da mesma quantidade de β-glucana da cevada em adultos hipercolesterolêmicos. O efeito sobre a glicemia pós-prandial pode, portanto, depender da fonte de β-glucana.

2.5.3 Saciedade

A obesidade pode ser definida como um acúmulo excessivo de tecido adiposo com aumento no número e volume de adipócitos causado por fatores endócrinos, metabólicos, genéticos ou por alterações do gasto energético, devido à redução da atividade física ou ao aumento do consumo dietético (PEIXOTO et al., 2011). O aumento das taxas de obesidade na maioria dos países ocidentais é preocupante devido suas consequências para a saúde, pois contribui para o aparecimento de diversas doenças crônicas como diabetes tipo 2, câncer e DCV (BECK et al., 2009a).

Nas últimas décadas, evidenciou-se a existência de um complexo sistema êntero-endócrino envolvido no mecanismo de controle da fome/saciedade, em que o controle do apetite pode ser dado pela inibição do hormônio da fome, a grelina gástrica e duodenal, e o estímulo de hormônios da saciedade, colecistoquinina (CCK), glucagon-like peptídeo 1 (glucagon-like peptide 1 - GLP-1), juntamente com o peptídeo Y-Y3-36 (PYY3-36) (LAFERRERE et al., 2008). Uma pesquisa importante sobre a obesidade (BATTERHAM et al., 2003) mostrou que indivíduos obesos não eram resistentes aos efeitos anorexígenos de PYY3-36, mas tendem a ter uma menor produção endógena de PYY3-36.

A grelina trata-se de um peptídeo produzido principalmente nas células do fundo gástrico e da grande curvatura do estômago que apresenta ação orexígena. O PYY3-36 é secretado principalmente pelas células L do cólon e age na área do núcleo arqueado do hipotálamo relacionado com a saciedade, se ligando ao receptor Y2 que inibe a atividade do neuropeptídeo YY, um importante estimulador do apetite (VITAGLIONE et al., 2009). O GLP-1 é um polipeptídio secretado pelas células L do cólon, em resposta à ingestão de nutrientes, apresenta efeito sacietógeno direto no hipotálamo. A CCK é liberada pelas células da mucosa duodenal e jejunal e é o maior responsável pela inibição da ingestão alimentar em curto prazo (YAMAGUCHI, 2008).

Segundo Beck et al. (2011a,b) estratégias que reduzem a ingestão de energia por meio da saciedade podem ajudar os indivíduos no controle da ingestão de alimentos e gerir o excesso de peso e obesidade. A composição do alimento pode afetar a sua capacidade para suprimir o apetite e aumentar a saciedade após

as refeições. Há evidências do efeito da fibra alimentar sobre o apetite e controle do peso.

Piche et al. (1996) e Ropert et al. (2000) relatam que além dos efeitos provocados pela viscosidade, algumas fibras fermentáveis proporcionam o aumento de hormônios da saciedade. O consumo de β-glucana da aveia tem mostrado controle da saciedade pós-refeição através de elevação de PYY3-36, CCK e GLP-1 no plasma (BECK, 2009a). Parte disso pode ser atribuído à produção de AGCC durante a sua fermentação colônica, que estimula as células L do cólon para produzir hormônios da saciedade, por exemplo, PYY3-36 e GLP-1. Segundo Huang et al. (2011) o controle hormonal poderia ser utilizado no tratamento de obesidade.

No estudo de Beck et al. (2009a), cujo objetivo foi avaliar o efeito da β-glucana da aveia sobre o PYY3-36, 40 indivíduos foram divididos em grupo controle e 3 grupos que receberam refeição contento cereal com diferentes concentrações de β-glucana (2,16, 3,82 e 5,45 g). Amostras de sangue foram coletadas 4 horas após a refeição. Houve uma dose-resposta significativa, com uma correlação positiva entre as gramas de β-glucana e os níveis de PYY3-36, uma vez que o hormônio foi significativamente mais elevado nos indivíduos que receberam a dose mais elevada de β-glucana quando comparado ao grupo controle. Segundo os autores a dose ótima de β-glucana parece situar-se entre 4 e 6 g.

Huang et al. (2011) testaram os efeitos da β-glucana da aveia na ativação do PYY3-36, na saciedade e perda de peso em camundongos com obesidade induzida pela dieta, para isso, 48 camundongos foram divididos em grupo controle com ração padrão, ou dieta com baixa (0,7%), média (3,5%) e alta (7,0%) dose de β-glucana do farelo de aveia. Após 6 semanas, o PYY3-36 plasmático foi significativamente mais elevado nos grupos que receberam β-glucana, apresentando correlação positiva entre o nível de PYY3-36 e a quantidade de β-glucana na dieta. O consumo médio de energia e o ganho de peso corporal foram significativamente menores com o aumento da β-glucana. Segundo os autores, o fato da β-glucana levar a uma redução da taxa de digestão e absorção pelo aumento da viscosidade gastrointestinal, faz com que os macronutrientes não absorvidos estimulem a liberação de PYY3-36 no cólon, sendo eficaz no aumento da saciedade.

Em outro estudo desenvolvido por Beck et al., (2009b) foi avaliado o efeito de diferentes doses de β-glucana da aveia sobre a CCK. Para isso, 40 indivíduos com sobrepeso receberam uma refeição em que a fonte de cereais do grupo

controle era à base de milho e três grupos recebiam cereais com diferentes níveis de β-glucana, com baixa (2,16 g), média (2,83 g) e alta dose (5,45 g). Os níveis de CCK foram significativamente mais elevados nos grupos que receberam β-glucana como fonte de cereal, sendo os efeitos correlacionados com a dose.

No estudo de Vitaglione et al. (2009) quatorze indivíduos saudáveis receberam almoço isocalórico incluindo um pão enriquecido com 3% de β-glucana de concentrado obtido da cevada ou pão controle e após a refeição foi avaliado o consumo calórico e os níveis de grelina e PYY3-36. Houve uma redução significativa de 19% do consumo de energia durante o almoço para os indivíduos que receberam pão com β-glucana comparado ao grupo controle. Os autores relacionam esse menor consumo com a redução significativa de 23% de grelina e o aumento de 16% dos níveis PYY no plasma dos indivíduos que receberam a β-glucana da cevada.

2.5.4 Efeito prebiótico

A alteração da microbiota do trato gastrointestinal (TGI) através de componentes alimentares como os prebióticos e probióticos, é considerara uma estratégia importante na manutenção da saúde humana. Os prebióticos foram definidos em 1995 como ingredientes alimentares não digeríveis que afetam beneficamente o hospedeiro ao estimular o crescimento ou a atividade de uma ou mais bactérias no cólon, e assim contribuir para a saúde (MARTI DEL MORAL, MORENO-ALIAGA & HERNANDEZ, 2003).

A este respeito, demonstrou-se que a proliferação de certas bactérias através da fermentação de fibras solúveis pode inibir a colonização intestinal por patógenos, exercendo um efeito protetor contra várias desordens intestinais (aguda ou crônica). Entre os efeitos adversos das bactérias patógenas para o metabolismo tem-se o favorecimento de processos de mutagênese e carcinogênese (WILLIAMS, WILLIAMS e JACKSON, 2002).

Os prebióticos mais do que favorecer as bactérias exógenas como probióticos, devem ser utilizadas para promover o crescimento de bactérias já presentes no cólon. Tem-se preconizado um aumento na presença de bactérias tais como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp., os dois grupos principais de bactérias benéficas (MARTI DEL MORAL, MORENO-ALIAGA e HERNANDEZ, 2003).

A β-glucana presente no farelo de aveia tem sido relatada como um potente prebiótico por promover o crescimento seletivo de microrganismos intestinais benéficos (lactobacilos e bifidobactérias) como demonstrado em estudos *in vitro* de Jaskari et al., (1998) e Kontula et al., (1998).

Drzikova, Dongowski e Gebhardt (2005) estudaram o efeito prebiótico do farelo de aveia, onde 50 animais foram divididos em grupo controle, β-glucana 3%, β-glucana 3,9%, β-glucana 6,9% e β-glucana 9%. O consumo de farelo de aveia promoveu crescimento das *Bifidobacterium* spp*.;* além disso, os valores de acetato, propionato e butirato foram significativamente mais elevados no conteúdo cecal de todos os grupos alimentados com dietas contendo farelo de aveia quando comparados com o grupo controle.

Um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, teve como objetivo avaliar potencial prebiótico *in vivo* da β-glucana da cevada. Cinquenta e dois voluntários saudáveis com idades entre 39-70 anos foram aleatoriamente designados para consumir diariamente um bolo contendo 0,75 g de β-glucana ou um placebo durante 30 dias. Nos indivíduos acima de 50 anos, a β-glucana induziu um forte efeito bifidogênico com um aumento de *Bifidobacterium spp.* quando comparado ao grupo placebo em idosos saudáveis (MITSOU et al., 2010). Segundo Roberfroid (2010), o aumento de bifidobactérias na microbiota intestinal pode melhorar o estado de saúde e reduzir risco de doença.

A promoção da microbiota intestinal saudável é capaz de formar uma barreira contra os microrganismos invasores, potencializando os mecanismos de defesa do hospedeiro contra os patógenos, melhorando a imunidade intestinal pela aderência à mucosa e estimulando as respostas imunes. Além disso, a fermentação de prebióticos por bactérias do cólon podem promover algumas funções fisiológicas específicas através da libertação de metabolitos pelas bactérias, como os AGCC no lúmen intestinal. Estes agentes têm um grande impacto sobre o meio ambiente do intestino, metabolismo de macronutrientes como redução do colesterol sérico e prevenção de doenças (CUMMINGS, MACFARLANE & ENGLYST, 2001).

Os AGCC são rapidamente absorvidos e podem ser usados como uma fonte de energia entre as refeições. Recentemente, a microbiota intestinal demonstrou estar associada com o armazenamento de gordura e captação de energia, o que sugere que os microrganismos intestinais podem desempenhar um papel direto no desenvolvimento da obesidade (RODRIGUES, 2011).

3. Projeto de pesquisa

FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS

Projeto de Pesquisa

Farelo de aveia e concentrados nativo e oxidado de β-glucana: efeito sobre parâmetros endócrinos e metabólicos em ratos submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica

Fabrícia Rehbein Nörnberg – Mestranda
Alvaro Renato Guerra Dias – Orientador
Elizabete Helbig - Co-orientador
Projeto aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal (Registro n° 9778).
Cadastro no COCEPE – 23110.00978/2012-84

PELOTAS, 2012

Sumário

3.1 INTRODUÇÃO 32
3.2 OBJETIVOS 34
3.2.1 Objetivo geral **34**
3.2.2 Objetivos específicos **34**
3.3 HIPÓTESES 35
3.4. MATERIAIS E MÉTODOS 34
3.4.1 Materiais 34
3.4.1.1 Modelo Biológico 34
3.4.1.2 Farelo de Aveia 34
3.4.2 Métodos 34
3.4.2.1 Delineamento experimental 34
3.4.2.2. Processamento do farelo de aveia - concentrado de β-glucana **37**
3.4.2.3 Oxidação **38**
3.4.2.4. Ensaio Biológico **39**
3.4.2.5 Elaboração das dietas experimentais **40**
3.4.2.6 Avaliações **42**
3.4.2.6.1 Teor de β-glucana, proteína e cinzas 40
3.4.2.6.2 Composição química das dietas experimentais **42**
3.4.2.6.3 Capacidade de ligação com ácidos biliares **42**
3.4.2.6.4 Peso corporal total e consumo de ração **43**
3.4.2.7.5 Lipídeos plasmáticos **43**
3.4.2.7.6 Glicose plasmática e PYY3-36, GLP1, CCK e grelina. **43**
3.4.2.7.7 Quantificação de ácidos graxos de cadeia curta **43**
3.4.2.7.8 Lipídios fecais e hepáticos **44**
3.4.2.7.9 Gordura epididimal, perirenal e peritoneal **44**
3.4.2.7.10 Determinação de ácidos biliares nas fezes **44**
3.4.2.7.11 Contagens microbianas **45**
3.4.2.7.12 Análise Histológica **45**
3.4.2.8 Análise estatística **45**
3.4.2.9 Cronograma de execução do projeto 44
3.4.2.10 Orçamento 44
Referências 45

3.1 Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morte em todo o mundo (WHO, 2011). Entre os fatores de risco considerados de maior importância destacam-se doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como hipertensão arterial, dislipidemias, obesidade, diabetes e fatores relacionados a hábitos de estilo de vida, como má alimentação, sedentarismo e tabagismo (CERVATO et al., 1997; WILSON et al., 1998; GRUNDY et al., 1999; CASTRO et al., 2004). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2011), os fatores de risco comportamentais são responsáveis por cerca de 80% das DCV.

O consumo de fibras dietéticas tem sido implicado na redução do risco de DCV, visto que importantes estudos epidemiológicos como o Nurses Health Study (LIU et al., 1999) e o Scottish Heart Health Study (TODD et al., 1999), demonstraram um risco reduzido de doenças coronárias nos homens e nas mulheres que consomem maiores quantidades de fibras. De acordo com Delaney et al. (2002), as fibras solúveis em particular são as que exercem um papel preventivo contra essas doenças.

A β-glucana, um polissacarídeo não ramificado que faz parte da porção solúvel das fibras presente principalmente no farelo de aveia, tem recebido grande atenção da comunidade científica (BRENNANA e CLEARY, 2005), principalmente devido a seus efeitos benéficos à saúde, incluindo a redução do colesterol total e da LDL (DAVIDSON et al., 1991; DELANEY et al., 2002; MIRA et al., 2009), no aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL) (DELANEY et al., 2002; BAE et al. 2009), na manutenção da glicemia pós-prandial (CASIRAGHI et al., 2006; MIRA et al., 2009) e na maior saciedade após as refeições (HUANG et al., 2011).

A viscosidade da β-glucana tem sido relacionada com as suas principais propriedades funcionais (MOURA et al., 2011). Além disso, os ácidos graxos de cadeia curta (propionato, acetato e butirato) produzidos por fermentação bacteriana da β-glucana no intestino grosso inibem a síntese hepática de colesterol (ANDERSON, 1995; PEREIRA, GIBSON, 2002). Em relação à saciedade, estudos demonstram que a β-glucana estimula os hormônios colecistoquinina (CCK),

glucagon-like peptídeo 1 (glucagon-like peptide 1 - GLP-1) e peptídeo Y-Y3-36 (PYY3-36), que atuam na redução do apetite, além de reduzir a grelina, hormônio relacionado com a fome (BECK et al., 2009a; HUANG et al., 2011).

Alternativamente, concentrados de β-glucana são preparados a partir da aveia, podendo ser introduzidos nos alimentos e melhorar as suas propriedades funcionais e assim permitir o consumo oral dessa fibra em quantidades susceptíveis de serem associados aos benefícios para a saúde, reduzindo a necessidade de consumir grandes quantidades de aveia (DELANEY, et al., 2002).

No entanto, segundo Moura et al. (2011), o concentrado de β-glucana nativo forma um gel de alta viscosidade com propriedades específicas, razão pela qual têm sido realizado estudos para modificar as suas propriedades reológicas. A modificação química de polissacarídeos tem sido realizada por interesse comercial, bem como científico visando melhorar ou adequar as propriedades reológicas do gel ao tipo de alimento produzido, já que, muitas vezes, esses não atendem às características desejáveis para sua aplicação (PARK et al., 2009; BAE et al., 2010).

A oxidação tem sido comumente aplicada a vários polissacarídeos melhorando sua solubilidade em água, menor retrogradação e maior claridade do gel (MOURA et al., 2011). Segundo Moura et al. (2011), a oxidação da β-glucana, por inserir grupos funcionais como carbonila e carboxila, além de promover uma despolimerização, pode conferir ou aumentar as propriedades fisiológicas, bem como melhorar as características tecnológicas do produto.

Diante da alta incidência e prevalência das DCV e compreendendo a importância da prevenção e do tratamento de seus fatores de risco, o objetivo desse estudo foi avaliar e comparar os efeitos da ingestão do farelo de aveia e dos concentrado de β-glucana nativo e oxidado em diferentes concentrações em ratos adultos machos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da ingestão do farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado em ratos adultos machos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.

3.2.2 Objetivos específicos

1. Avaliar o consumo dietético e peso corporal do modelo biológico;
2. Quantificar a gordura peritoneal e a quantidade de lipídeos hepáticos;
3. Quantificar os triacilgliceróis, colesterol total e suas frações no plasma;
4. Avaliar a microbiota intestinal, a produção de ácidos graxos de cadeia curta e a excreção fecal de lipídeos e ácidos biliares;
5. Quantificar os níveis séricos de glicose, GLP-1, CCK, PPY3-36 e grelina;
6. Verificar a lesão aterosclerótica.

3.3 Hipóteses

O farelo de aveia e os concentrados de β-glucana nativo e oxidado apresentam atividade hipocolesterolêmica, por meio de mecanismos que reduzem o colesterol plasmático e hepático e que aumentam a excreção de gordura e ácidos biliares pelas fezes, promovem redução da glicemia, menor ganho de peso e aumento da saciedade através de regulação hormonal. As dietas contendo concentrados de β-glucana oxidado apresentam efeito similar ou potencializado de suas propriedades funcionais quando comparadas a dietas contendo concentrado de β-glucana nativo. Dietas contendo concentrados de β-glucana nativo e oxidado apresentam efeito potencializado quando comparadas a dieta contendo farelo de aveia.

3.4 Materiais e métodos

3. 4.1 Materiais

3. 4.1.1 Modelo Biológico

No estudo serão utilizados ratos adultos machos da espécie *Rattus norvegicus* linhagem *Wistar*/UFPel, pesando em média 200 a 300 g, obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas.

3.4.1.2 Farelo de Aveia

O farelo de aveia será doado pela Cerealle Indústria e Comércio de Cereais LTDA, Pelotas, RS.

3.4.2 Métodos

3.4.2.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental com as variáveis dependentes e independentes utilizada no experimento está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Delineamento experimental para avaliar a influência do farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado adicionados à ração hiperlipídica e hipercolesterolêmica oferecidas para ratos *Wistar* em ensaio biológico

Tratamentos (Grupos Experimentais)	**Variáveis Independentes**				**Variáveis Dependentes**
	Dietas				
	Concentrados de β-glucana*		**Farelo de aveia***	**Controle**	**Avaliações**
	Nativo	**Oxidado**		**	Consumo de dieta
					Ganho de peso
1 GBGN2,5	2,5%				Produção de AGCC
2 GBGN5	5,0%				Excreção fecal de lipídeos
					e ácidos biliares.
3 GBGO2,5		2,5%			Contagem microbiana
4 GBGO5		5,0%			Lipídeos hepáticos
					Gordura peritoneal
5 GFA2,5			2,5%		Triacilglicerol. Glicose,
6 GFA5			5,0%		GLP-1, CCK e PYY3-36
					CT e frações (HDL, LDL e
7 GC				AIN Hiper	VLDL)***

*__Dieta Hiperlipídica:__ 30% de teor lipídico, colesterol (1%), ácido cólico (0,1%); **__Dieta Controle:__ formulação AIN-93M com modificações, acrescida de 25% de teor lipídico, colesterol (1%), ácido cólico (0,1%).__***CT:__ Colesterol total; __LDL:__ Lipoproteína de baixa densidade; __HDL:__ Lipoproteína de alta densidade; __VLDL:__ Lipoproteína de muito baixa densidade. 7 grupos experimentais = 7 tratamentos x 6 ratos = 42 amostras.

3.4.2.2 Processamento do farelo de aveia - concentrados de β-glucana

Para a extração da β-glucana será utilizado método descrito por Moura et al. (2011) em que o farelo de aveia (80 g) será disperso com água destilada (1800 mL) a 90 ºC com agitação durante 10 minutos. Em seguida, a mistura será fragmentada em liquidificador durante 5 minutos e retornará por mais 50 minutos a 90ºC sob agitação. Após centrifugação a 7500 rpm por 30 minutos, o sobrenadante será coletado, sendo em seguida adicionado etanol 96% na proporção 1:1 e deixado em repouso por 24 horas a 4 ºC para precipitação da β-glucana. A β-glucana será

submetida à secagem em estufa com circulação de ar por 2 horas a 60 ºC. Após a secagem, a amostra será triturada em moinho de facas e desengordurada em Soxhlet com hexano, conforme esquematizado na Figura 2.

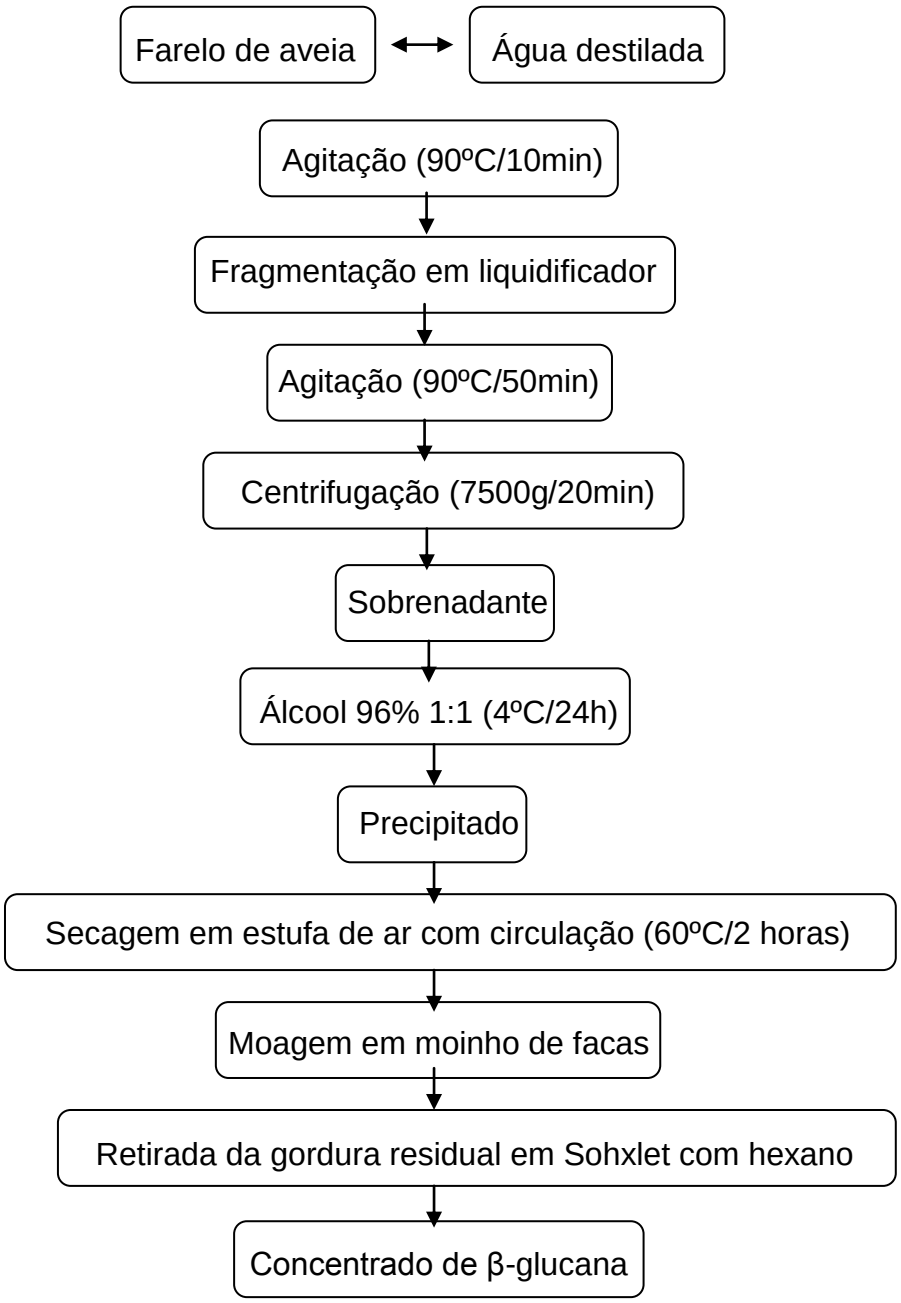


Figura 2. Fluxograma da extração de β-glucana

Fonte: Moura et al. (2011)

3.4.2.3 Oxidação

A oxidação das amostras será realizada segundo método descrito por Moura et al. (2011), utilizando peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A reação ocorrerá em um

reator de vidro de capacidade de 4000 mL, sob agitação, com controle de temperatura e pH. A β-glucana (70 g) será dispersa em 2000 mL de água destilada, aquecida à 40ºC e adicionada de H_2O_2, na concentração de 0,9%, com 30 minutos de reação, com utilização de $FeSO_4$ como catalisador. O pH será mantido em 5,0 com uso de soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio 0,1N. Ao final do processo, será adicionado etanol 96% na proporção 1:1 para precipitação da β-glucana, que será seca em estufa com circulação forçada de ar a 42 ± 2 ºC.

3.4.2.4. Ensaio Biológico

O ensaio biológico terá duração de 35 dias, sendo 5 dias de adaptação e 30 dias de tratamento. Serão utilizados 42 animais divididos aleatoriamente em 7 grupos experimentais com 6 animais cada um. Os grupos experimentais receberão durante o experimento dietas hiperlipídicas e hipercolesterolêmicas, formuladas a partir das recomendações da AIN-93M (REEVES et al., 1993), conforme apresentado a seguir:

1. **Grupo β-glucana Nativa 2,5% (GBGN2,5%):** dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%) e tipo de fibra (2,5% hemicelulose + 2,5% de β-glucana nativa) acrescida de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), com água e dieta *ad libitum*.
2. **Grupo β-glucana Nativa 5,0% (GBGN5%):** dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%) e tipo de fibra (5,0% de β-glucana nativa) acrescida de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), com água e dieta *ad libitum*.
3. **Grupo β-glucana Oxidada 2,5% (GBGO2,5%):** dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%) e tipo de fibra (2,5% hemicelulose + 2,5% de β-glucana oxidada) acrescida de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), com água e dieta *ad libitum*.
4. **Grupo β-glucana Oxidada 5,0% (GBGO5%):** dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%) e tipo de fibra (5% de β-glucana oxidada) acrescida de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), com água e dieta *ad libitum*.

5. **Grupo Farelo de Aveia 2,5% (GFA2,5%):** dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%) e tipo de fibra (2,5% de hemicelulose + 2,5% de β-glucana do farelo de aveia) acrescida de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), com água e dieta *ad libitum*.
6. **Grupo Farelo de Aveia 5,0% (GFA5%):** dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%) e tipo de fibra (5% de β-glucana do farelo de aveia) acrescida de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), com água e dieta *ad libitum*.
7. **Grupo Controle (GC):** dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%), acrescida de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), com água e dieta *ad libitum*.

Os animais serão mantidos em gabinetes ventilados, em gaiolas metabólicas individuais de aço inoxidável, nas medidas 27x19x20 cm, com pés de 25 cm de altura, comedouro tipo túnel e bebedouro de polipropileno com capacidade para 300 mL, no Laboratório de Ensaios Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPel, com temperatura e umidade relativa de 22±2 ºC e 50 - 60%, respectivamente, com ciclo claro/escuro de 12 horas. No final do experimento, após jejum de 12 horas, os animais serão submetidos à eutanásia por meio de decapitação. Serão coletados sangue, aorta, fígado, gordura peritoneal e ceco. O sangue dos animais será centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos para se obter o plasma sanguíneo, este será transferido para Eppendorfs e congelado a -80ºC até o momento das análises. A aorta será mantida em formol para posterior análise histológica e os demais órgãos congelados. Todos os procedimentos serão realizados conforme a Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) nº 714 de junho de 2002, seguindo os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 2004).

3.4.2.5 Elaboração das dietas experimentais

Os animais serão alimentados com dieta AIN-93M (REEVES et al., 1993), modificando-se o teor de lipídeos de 4% para 30% (GONÇALVES, 2007), adicionando-se colesterol (1%), ácido cólico (0,1%) (ROSA et al., 1998) farelo de aveia e concentrados de β-glucana nativo e oxidado. A formulação final das dietas

dependerá da composição centesimal do farelo de aveia e do grau de pureza do concentrado de β-glucana, visto que os resíduos de proteína, lipídeos e carboidratos influenciam a quantidade desses nutrientes bem como na formulação das dietas. A formulação parcial das dietas pode ser observada na Tabela 2.

Tabela 2. Formulação das dietas experimentais ($g.kg^{-1}$) a serem ofertadas em ensaio biológico com ratos *Wistar* machos

Ingredientes ($g.Kg^{-1}$)	**Dietas**				
		Farelo de aveia		β-glucana nativa e oxidada	
	Controle	2,5%	5,0%	2,5%	5,0%
Amido de milho	204,70	***	***	****	****
Caseína	140,00	***	***	****	****
Dextrina	155,00	***	***	****	****
Sacarose	100,00	***	***	****	****
Óleo soja	40,00	***	***	40,00	40,00
Fibra	50,00	25,00	0,00	25,00	0,00
Mix mineral	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Mix vitaminas	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
L- cistina	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Bitart. Colina*	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Tert – buty**	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Banha de porco	250,00	250,00	250,00	250,00	250,00
Colesterol	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Ácido cólico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Farelo de aveia	0,00	***	***	0,00	0,00
Concentrado de β-glucana	0,00	0,00	0,00	****	****
TOTAL	1000	1000	1000	1000	1000

* Bitartarato de colina ** Tetra-butilhidroquinona;; ***Serão determinados após a caracterização do farelo de aveia. ****Serão determinados após caracterização do concentrado de β-glucana.

3.4.2.6 Avaliações

3.4.2.6.1 Teor de β-glucana, proteína e cinzas

O teor de β-glucana no farelo de aveia e no concentrado de β-glucana será determinado com um método enzimático (Método 32-23, AACC 2000), usando o kit Megazyme BBG (Megazyme, Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, Ireland). O teor de proteínas e cinzas do concentrado será determinado de acordo com os métodos da AACC (2000).

3.4.2.6.2 Composição química das dietas experimentais

A composição centesimal será determinada em amostras das dietas experimentais, segundo os respectivos procedimentos: Umidade: Pearson (1976); Proteínas: AOAC (2006), utilizando 6,25 como fator de conversão de nitrogênio para proteína; Lipídeos: Bligh e Dyer (1959); Cinzas: Lees (1979); Fibra Bruta: Angelucci et al. (1987); Carboidratos totais: por diferença, usando a fórmula: 100 – (proteína bruta + lipídeos totais + fibra bruta + cinzas + umidade) AOAC (2006).

3.4.2.6.3 Capacidade de ligação com ácidos biliares

A capacidade de ligação da β-glucana com ácidos biliares será determinada por método colorimétrico proposto por Doubilet (1936). A solução de ácido cólico será preparada com 200 mg de ácido cólico, adicionando-se 4,7 mL de NaOH 0,1 N e completando o volume para 200 mL com água destilada. Em tubo de ensaio, será colocado 25 mg de β-glucana, adicionado de 10 mL de solução de ácido cólico e agitado durante 2 horas a 37 ºC. Após será realizada a filtragem com filtro de seringa 0,2 µm. Uma alíquota de 1 mL do filtrado será adicionado 1 mL de solução alcoólica de furfural 0,9% e 5 mL de ácido sulfúrico 16 N, permanecendo em banho de gelo durante 5 minutos, seguido de banho a 70 ºC durante 8 minutos e posterior banho de gelo durante 2 minutos. A absorbância da solução será medida a 490 nm. Para a curva padrão de ácido cólico serão utilizados os pontos 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mg.

3.4.2.6.4 Peso corporal total e consumo de ração

Os animais serão pesados no início, meio e ao final do experimento, os dados serão anotados em planilhas de controle. O peso final de cada animal será subtraído do peso inicial, sendo o resultado considerado a alteração de peso total do animal.

A ingestão alimentar será monitorada diariamente pela diferença em gramas entre a quantidade ofertada e a quantidade restante no dia seguinte, e os dados anotados em planilhas de controle.

3.4.2.7.5 Lipídeos plasmáticos

O colesterol total sérico será quantificado por sistema enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 76-2/100). O colesterol HDL será determinado através da precipitação das lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (c-LDL e c-VLDL), utilizando o sistema enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 13).

O VLDL será determinado pela fórmula de VLDL = Triacilglicerol/5 e o LDL pela diferença entre colesterol total e (HDL + VLDL) (FRIEDWALD et al., 1972). Os triacilgliceróis serão determinados pelo sistema enzimático Labtest Diagnóstica® (GPO-ANA cat. 59-4/50).

3.4.2.7.6 Glicose plasmática e PYY3-36, GLP1, CCK e grelina

Serão determinados PYY3-36, GLP1, CCK e grelina no plasma sanguíneo por meio de kits de ensaio imunoenzimático (ELISA). A glicose será determinada usando o método de glicose oxidada (Bioclin).

3.4.2.7.7 Quantificação de ácidos graxos de cadeia curta

Para a quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) será diluído 1 g do material fecal em 5 mL de água destilada por 3 minutos, com ajuste do pH em 2-3 com HCl 5M. Após a solução será centrifugada por 20 minutos a 500 rpm, o

sobrenadante será coletado e injetado em cromatógrafo gasoso para quantificação dos AGCC, conforme proposto por Zhao et al. (2006).

3.4.2.7.8 Lipídios fecais e hepáticos

As fezes serão coletadas durante 10 dias. No momento da coleta, as fezes serão transferidas para placas de petry e levadas à estufa por 12 horas a 50 ºC. As amostras coletadas serão armazenadas em embalagens de polietileno até o momento das análises. As amostras de fezes serão maceradas e desumidificadas em estufa a 50 ºC por 4 horas. A análise será realizada pelo método Bligh e Dyer (1959), para determinação dos lipídios totais.

Para a análise dos lipídios hepáticos as amostras dos fígados dos animais serão maceradas, utilizando-se uma alíquota de fígado de cada animal do grupo. Será utilizado o método de Bligh e Dyer (1959) para quantificação dos lipídios totais.

3.4.2.7.9 Gordura epididimal, perirenal e peritoneal

Após a eutanásia os animais serão submetidos a uma incisão no abdômen e as gorduras epididimal, perirenal e peritoneal presentes serão retiradas e pesadas em balança de precisão.

3.4.2.7.10 Determinação de ácidos biliares nas fezes

Os ácidos biliares serão extraídos das fezes dessecadas segundo Van der Meer et al. (1985) com a utilização de tert-butanol a 50% por 15 minutos a 37 ºC, seguido de centrifugação a 10.000 rpm por 2 minutos.

A quantificação será realizada por meio de kit enzimático colorimétrico. Na presença de Tio-NAD, a enzima 3-α hidroxiesteróide desidrogenase (3-α HSD) converte os ácidos biliares a 3-ceto-esteróides e Tio-NADH. A taxa de formação de Tio-NADH é determinada pela mudança de absorbância a 405 nm, mensurada entre 60 e 120 segundos de reação. A leitura será realizada em Espectrofotômetro UV-Visível. As determinações serãp realizadas em triplicatas.

3.4.2.7.11 Contagens microbianas

As fezes para avaliação microbiológica serão coletadas no início e ao final do experimento para comparação e utilizadas imediatamente para análise de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. A viabilidade celular será determinada em 1g de amostra, pela técnica de semeadura em profundidade, utilizando-se ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS – Oxoid). As placas em duplicata serão incubadas a 37ºC, durante 72 horas, em jarras herméticas com emprego de geradores de anaerobiose (Anaerobac, Probac). As colônias obtidas serão confirmadas com *Lactobacillus acidophilus* NCFM através da coloração Gram, teste da catalase e de fermentação dos principais açúcares, conforme proposto por Machado (2007). Para a contagem de *Bifidobacterium* spp será utilizado o Meio 25 para Bifidobactérias (BIM-25), incubação a 37 °C/72 horas em jarra de anaerobiose, conforme proposto por Chaud (2007). As colônias serão contadas com auxilio de um contador de colônias e o resultado expresso em logaritmo de unidades formadoras de colônia por grama ($logUFC.g^{-1}$). Os procedimentos serão realizados pela equipe do laboratório de microbiologia do Departamento de Patologia Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPel).

3.4.2.7.12 Análise Histológica

Após os ratos serem eutanasiados, fragmentos da aorta serão fixados em formalina tamponada 10%, cortados com 5 µm de espessura e corados pela técnica de hematoxilina e eosina segundo Behner, Tolosa e Freitas Neto (1976). Os procedimentos serão realizados no laboratório de histoquímica do Departamento de Patologia/Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da UFPel. A análise histológica de alterações ateroscleróticas será realizada em microscópio óptico de luz comum (Nikon Eclipse E200).

3.4.2.8 Análise estatística

Será utilizada a análise de variância ANOVA, seguido do teste estatístico de Ducan para determinar diferenças significativas entre médias. Será considerado como nível de significância estatística o limite de 5%.

3.4.2.9 Cronograma de Execução do Projeto

O cronograma para a execução do projeto está apresentado no Quadro 1.

Quadro 1. Cronograma para a execução do projeto.

ATIVIDADES	SEMESTRE							
	1º/2012		2º/2012		1º/2013		2º/2013	
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X
Padronização das técnicas			X	X	X			
Desenvolvimento do ensaio biológico					X			
Análises químicas				X	X	X		
Análise dos resultados e tratamento estatístico					X	X	X	
Redação de trabalho para congressos e artigos						X	X	X
Confecção da dissertação de mestrado							X	X

3.4.2.10 Orçamento

Na Tabela 3 está apresentado a descrição dos itens e seus respectivos orçamentos. O projeto de pesquisa será custeado com verbas do PROAP/PPGNA (CAPES) e projeto PRONEN.

Tabela 3. Orçamento e descrição dos materiais utilizados no projeto de pesquisa.

Item	Descrição	Valor Total
1	Kits quantificação de Glucagon – like peptídeo	R$1.871,02
2	Kits quantificação de Colecistoquininina	R$ 2.821,36
3	Kits quantificação de Grelina	R$ 2.026,63
4	Kits quantificação de Peptídeo YY 3-36	R$ 2.949,66
5	Ingredientes dieta AIN 93 e modificada	R$ 3.785,88
6	Kits quantificação colesterol total e frações	R$ 1.935,90
7	Kit diagnóstico de glicose	R$ 75,35
8	Material para análise histológica	R$ 799,92

Total: R$ 16.323.58

Referências bibliográficas

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved Methods of the AACC,10th ed. Methods 32-23; 46-13; 08-01. The Association: St. Paul, MN, 2000

ANDERSON, J. W. Dietary fibre, complex carbohydrate and coronary heart disease. Can**. Journal Cardiology** (Lexington)*.* v.11, p.55-62, 1995.

ANGELLUCI, E; CARVALHO, CRL; CARVALHO, PRN; FIGUEIREDO, IB; MANTOVANI, DMB; MORAES, RM. **Manual técnico de análises de alimentos.** Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas. 1987.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis. 18 ed. Washington DC USA, 2006.

BAE, I. Y.; LEE, S.; KIM, S. M.; LEE, H. G. Effect of partially hydrolyzed oat b-glucan 2009. on the weight gain and lipid profile of mice. **Food Hydrocolloids**,v.23, p.2016–2021,

BECK, E. J., TAPSELL, L. C., BATTERHAM, M. J., TOSH, S. M., HUANG, X. F., Increases in peptide Y-Y levels following oat b-glucan ingestion are dose-dependent in overweight adults**. Nutrition Research.** v. 29, p. 705–709, 2009a.

BEHNER OA, TOLOSA EMC, FREITAS NETO AG. Manual de técnicas para a histología normal e patológica. São Paulo: EDART. p.239. 1976.

BRENNANA, CS; CLEARY, LJ. The potential use of cereal (1/3,1/4)-b-D-glucans as functional food ingredients. **Journal of Cereal Science**. v.42, p.1-13, 2005.

BLIGH, E.G; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 2009.

CASIRAGHI, MC; GARSETTI, M; TESTOLIN, G; BRIGHENTI, F. Post-Prandial Responses to Cereal Products Enriched with Barley β-Glucan. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, n. 4, p. 313–320. 2006.

CASTRO, L.C.V; FRANCESCHINI, S.C.C; PRIORE, S.E; PELÚZIO, M.C.G. Nutrição e doenças cardiovasculares: os marcadores de risco em adultos. **Revista Nutriçãi Campinas,** v.17, n.3, p. 369-377, 2004.

CERVATO, A.M; MAZZILLI, R.N; MARTINS, I.S; MARUCCI, M.F.N. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. São Paulo, SP – Brasil **Revista Saúde Pública**, v.31, n.3, p. 227-35, 1997.

COBEA. Princípios éticos na experimentação animal**.** Disponível em: http://www.cobea.org.br/. Acesso em: 12 set. 2012.

DAVIDSON, MH; DUGAN, LD; BURNS, JH; BOVA, J; STORY, K; DRENNAN, KB. The Hypocholesterolemic Effects of -Glucanin Oatmeal and Oat Bran. **Journal of the American Medical Association,** v. 265, n14, 1991.

DELANEY, B; NICOLOSI, RJ; WILSON, TA; CARLSON, T; FRAZER, S; ZHENG,GH; HESS, R; OSTERGREN, K; HAWORTH, J; KNUTSON, N. Beta-Glucan Fractions from Barley and Oats Are Similarly Antiatherogenic in Hypercholesterolemic Syrian Golden Hamsters. **The Journal of nutrition**. v.3, p.0022-3166, 2002.

DOUBILET, H. Differential quantitative analysis of bile acids in bile and in duodenal drainage. **The Journal of Biological Chemistry**, v**.** 114, n. 1, p. 289-308, 1936.

FRIEDEWALD WT, LEVY RI, FREDRICKSON DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. Clin. Chem.v.18, n.6, p.499-502. 1972.

GRUNDY, S.M.; PASTERNAK, R; GREENLAND, P; SMITH, S; FUSTER, V. Assessment of Cardiovascular Risk by Use of Multiple-Risk-Factor Assessment, Equations : A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart. **American Heart Association.** Dallas, v. 100; p. 1481-1492, 1999.

HUANG, X. F., YU, Y., BECK, E. J., SOUTH, T., LI, Y., BATTERHAM, M. J., TAPSELL, L. C., CHEN, J. Diet high in oat b-glucan activates the gut-hypothalamic (PYY3–36-NPY) axis and increases satiety in diet-induced obesity in mice. **Molecular Nutrition & Food Research**. v. 55, p.1118–1121.2011.

LIU, S; STAMPFER, M.J; HU, F.B; GIOVANNUCCI, E; RIMM, E; MANSON, J.E; HENNEKENS, C.H; WILLETT, W.C. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. **American Journal Clinical Nutrition**. v.70, n.3, p.412-9. Sep 1999.

MIRA, GS; GRAF, H; CÂNDIDO, LMB. Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em beta-glucanas no tratamento do diabetes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 45, n. 1, 2009.

MOURA, F.A; PEREIRA, J.M; SILVA, D.O; ZAVAREZE, E.R; MOREIRA, A.S; HELBIG, E; DIAS, A.R.G.D. Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat b-glucan. **Food Chemistry** v.128, p.982–987, 2011.

PARK, S.Y; BAE, Y; LEE, S; LEE, H.G. Physicochemical and Hypocholesterolemic Characterization of Oxidized Oat β-Glucan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 439–443, 2009.

PEARSON, D. **Técnicas de laboratório para el analisis de alimentos**. Zargoza: Acribia. 1976.

PEREIRA, D.I.A.; GIBSON, G.R. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**., v.37, n.4, p.259-281, 2002.

REEVES, PG. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. **Journal Nutrition** v.127: p.838S–841S, 1993.

TOSH, S. M.; WOOD, P. J.; WANG, Q.; WEISZ, J. Structural characteristics and rheological properties of partially hydrolyzed oat b-glucan: the effects of molecular weight and hydrolysis method. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p.425–436, 2004.

VAN DER MEER R, et al .T butanol extration of feces: a rapid procedure for enzymic determination of fecal bile acids. In: Beyben AC, Geeleb MJH, Katan MB, Schoyten JA. **Cholesterol metabolism in health and disease: studies in the Netherlands.** Wageningen: Ponsen & Looijen; 1985. p 113-19.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION**. Cardiovascular diseases CVDs**). Fact sheet N°317. Geneva, September 2011. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html Acesso em: 23 julho de 12.

WILSON, P.W.F; D'AGOSTINO, R.B; LEVY, D; BELANGER, A.M; ILBERSHATZ, H; KANNEL, W.B. Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories. **American Heart Association**. Dallas, v. 97; p.1837-1847. 1998.

ZHAO et al. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extration and direct-injection gas-chromatography. **Biomedical Chromatography**, v.20, p. 674, 2006.

4. Relatório de trabalho de campo

A parte inicial do projeto de pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Grãos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Agroindustrial da Faculdade de Agronomia da UFPel, com a extração da β-glucana do farelo de aveia, que teve início em julho de 2012 e foi finalizado em julho de 2013. No decorrer desse período, houve interrupções nas atividades no departamento, devido problemas na centrífuga, equipamento necessário para a extração. No mesmo laboratório também foi avaliado a capacidade de ligação com ácidos biliares *in vitro.*

Em outubro de 2012 o presente estudo foi apresentado durante a qualificação na forma de projeto de pesquisa a uma banca de professores da Universidade Federal de Pelotas, que teve parecer favorável a execução do trabalho de campo, sem ser necessárias modificações do delineamento experimental. Após a qualificação e aprovação, o projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA/UFPel) e foi aprovado (processo nº 12114000/CEEA 9778). E então, procedeu-se a reserva de animais experimentais no Biotério da UFPel.

O ensaio biológico teve início no dia 03 de setembro de 2013 e término no dia 03 de outubro de 2013. Nas semanas posteriores ao término do ensaio biológico foram realizadas as análises bioquímicas na Universidade Federal de Pelotas, sendo a análise histológica da aorta realizada pela médica veterinária responsável pelo Departamento de Patologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UFPel. A quantificação dos hormônios pela técnica Elisa foi realizada no laboratório Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino. As demais análises foram realizadas nos departamentos da Faculdade de Nutrição. Posteriormente as análises, ocorreu a tabulação dos dados e em sequência, a análise estatística, para a escrita dos artigos e da dissertação.

A quantificação de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo fecal prevista não foi executada, pois ambos cromatógrafos disponíveis estavam danificados até o momento das análises. Da mesma forma, o efeito prebiótico e a quantificação do hormônio colecistoquinina não foram analisados até o momento da defesa por não cumprimento do prazo de entrega dos materiais necessários por parte dos fornecedores.

Com a realização desse projeto obtemos dois artigos de grande relevância científica, uma vez que existem poucos estudos *in vivo* sobre o assunto. Com os seguintes títulos:

INFLUÊNCIA DA EXTRAÇÃO E OXIDAÇÃO DA B-GLUCANA DO FARELO DE AVEIA SOBRE PARÂMETROS RELACIONADOS COM AS DOENÇAS CARDIOVASCULARES

EFEITOS DA EXTRAÇÃO E DA OXIDAÇÃO DA β-GLUCANA DO FARELO DE AVEIA SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR, GANHO DE PESO E NOS NÍVEIS SÉRICOS DOS HORMÔNIOS GLP-1, PYY 3-36 E GRELINA EM RATOS.

Pretende-se elaborar o terceiro artigo com as análises ainda não realizadas, efeito prebiótico e ácidos graxos de cadeia curta presente no conteúdo fecal.

5. Artigo 1

Formatado segundo as normas da revista *The Journal of Nutrition*

INFLUÊNCIA DA EXTRAÇÃO E OXIDAÇÃO DA β-GLUCANA DO FARELO DE AVEIA SOBRE FATORES DE RISCO RELACIONADOS COM DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Fabrícia Rehbein Nörnberg[1]; Bianca Oliveira Schumacher[2]; Rosana Colussi[3]

Elizabete Helbig[1], Alvaro Renato Guerra Dias[1,3]

1. Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas
2. Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas
3. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas

Título resumido: Efeito da β-glucana sobre parâmetros metabólicos

Número de palavras: 6.917

Número de figuras: 5

Número de tabelas: 4

Autor para correspondência: Fabrícia Rehbein Nörnberg, Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil, Tel.: 55 53 3921-1259; E-mail: fabricia.rehbein@gmail.com

Resumo: A β-glucana do farelo de aveia tem recebido grande atenção principalmente devido aos efeitos benéficos à saúde, como redução do colesterol sérico e controle da glicemia. Seu uso industrial é limitado, pois quando adicionado aos alimentos acarreta em características indesejáveis. A oxidação tem sido comumente aplicada a vários polissacarídeos para melhorar suas propriedades tecnológicas, no entanto, existem poucos estudos que avaliem seu impacto na propriedade funcional *in vivo.* O objetivo desse estudo foi avaliar e comparar os efeitos da ingestão do farelo de aveia e do concentrado de β-glucana nativo e oxidado em diferentes concentrações em ratos adultos machos submetidos à dieta hipercolesterolêmica. Para isso, a β-glucana foi extraída do farelo de aveia e uma parcela oxidada. 42 ratos adultos machos foram divididos em 7 grupos, todos receberam dieta hipercolesterolêmica. O grupo controle não teve alteração na fonte de fibra, os demais grupos receberam modificação, com substituição parcial ou total da fibra da dieta com β-glucana do farelo de aveia (FA2,5 e FA5%), ou através do concentrado nos grupos β-glucana nativa (BGN2,5 e BGN5%) e β-glucana oxidada (BGO2,5 e BGO5%) durante 30 dias. Após eutanásia foram coletados sangue, aorta, fígado e gordura epididimal, perirenal e peritoneal. Os concentrados apresentaram 42,3% de β-glucana enquanto que o farelo de aveia 11,9%. O concentrado de β-glucana nativa apresentou maior potencial de ligação com ácidos biliares *in vitro,* com 12,1%*. In vivo* o grupo FA5% apresentou melhores resultados, com menores valores para ganho de peso (71,33 g), glicemia (126,47 mg/dL), gordura perirenal (3,74 g), epididimal (3,91 g) e peritoneal (7,65 g). Todos os grupos com alteração de fibra apresentaram maior excreção fecal de gordura, sendo os maiores valores encontrados nos grupos FA5% (15,5 g), BGN5% (15,4 g) e BGO5% (14,4 g), no entanto, somente os grupos FA5% (44,5 g) e BGN2,5% (44,4 g) apresentaram

menores valores de gordura hepática. Não houve redução das lipoproteínas séricas. O processamento da β-glucana através da extração e da oxidação interfere em seu efeito fisiológico.

Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morte em todo o mundo[1]. Um dos principais fatores de risco para DCV é a hipercolesterolemia. Estudos epidemiológicos mostram que elevadas concentrações de colesterol total (CT) aumentam a probabilidade do desenvolvimento de DCV, sendo potencializados no decorrer da vida pela obesidade e por uma série de outros fatores, como tabagismo, hipertensão arterial, hábitos alimentares, histórico familiar e sedentarismo[2].

Segundo Rabey[3], já está bem estabelecido que uma das formas para reduzir o risco de desenvolvimento das DCV consiste em diminuir os níveis de colesterol sérico por meio de mudanças na dieta. Além da redução de gordura saturada e colesterol e aumento da ingestão de gordura insaturada, a importância de outras abordagens dietéticas, tais como o aumento da ingestão de fibras solúveis, tornou-se cada vez mais reconhecida[4].

A β-glucana é um polissacarídeo não ramificado que faz parte da porção solúvel das fibras presente principalmente no farelo de aveia, e tem recebido grande atenção da comunidade científica[5] principalmente devido a seus efeitos benéficos à saúde, incluindo a redução do colesterol total, da lipoproteína de baixa densidade (LDL)[6], o aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL)[6,7], na manutenção da glicemia pós-prandial[8] e na maior saciedade após as refeições[9].

As pessoas em geral não consomem a quantidade de aveia suficiente para alcançar a dose de β-glucana necessária para os efeitos benéficos à saúde[10]. Segundo Delaney[6], concentrados de β-glucana são preparados a partir da aveia, podendo ser introduzidos nos alimentos e melhorar as suas propriedades funcionais e assim permitir o consumo oral dessa fibra em quantidades susceptíveis de serem associados aos benefícios para a saúde, reduzindo assim, a necessidade de consumir grandes quantidades de aveia.

A β-glucana nativa forma um gel de alta viscosidade com propriedades específicas, razão pela qual têm sido realizado estudos para modificar as suas propriedades reológicas[11]. A modificação química de polissacarídeos tem sido empregada por interesse comercial, bem como científico visando melhorar ou adequar as propriedades reológicas do gel ao tipo de alimento produzido, já que, muitas vezes, os polissacarídeos nativos não apresentam características desejáveis para sua aplicação[7,12].

Uma das formas de modificação da β-glucana é a oxidação da hidroxila primeiramente a grupos carbonila e posteriormente a grupos carboxila, podendo causar despolimerização da molécula[13], com a modificação de suas propriedades tecnológicas, tais como maior solubilidade em água, maior claridade do gel e menor viscosidade[11]. No entanto, o aumento da solubilidade e redução da viscosidade pode afetar a propriedade fisiológica no controle glicêmico e na redução do colesterol.

Moura et al. [11] e Faure et al.[14] ao avaliarem o efeito da oxidação da β-glucana com peróxido de hidrogênio verificaram que os tratamentos oxidativos promovem mudanças nas características estruturais da β-glucana, como alteração dos grupos funcionais, o que pode vir a influenciar a sua atividade biológica. No entanto, até o momento, pouco foi estudado sobre o efeito *in vivo* da β-glucana oxidada, sendo que

nenhum avaliou se a oferta de concentrados de β-glucana nativo e oxidado potencializa o efeito do consumo do farelo de aveia *per se*.

Diante disso e da alta incidência e prevalência das DCV e compreendendo a importância da prevenção e do tratamento de seus fatores de risco, o objetivo desse estudo foi avaliar e comparar os efeitos da ingestão do farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado em diferentes concentrações em ratos adultos machos submetidos à dieta hipercolesterolêmica.

Materiais e métodos

Protocolo experimental

Em um estudo realizado anteriormente por Moura et al.[11] no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, verificou-se que o tratamento oxidativo com peróxido de hidrogênio a 0,9% por 30 minutos em β-glucana extraída do farelo de aveia aumentou a capacidade de ligação com ácidos biliares. Devido a isso, o presente estudo determinou utilizar esse grau de oxidação, para testar *in vivo* os efeitos do processamento da β-glucana sobre os parâmetros metabólicos.

Preparação dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado a partir do farelo de aveia

Para a extração da β-glucana foi utilizado método descrito por Moura[11] em que o farelo de aveia cultivar IAC-7 (80 g) foi disperso em água destilada (1800 mL) a 90 ºC com agitação durante 10 minutos. Em seguida, a mistura foi fragmentada em liquidificador durante 5 minutos e retornou por mais 50 minutos a 90ºC sob agitação.

Após 30 minutos em centrifugação a 7500 rpm, o sobrenadante foi coletado, sendo em seguida adicionado etanol 96% na proporção 1:1 e deixado em repouso por 24 horas a 4 ºC para precipitação da β-glucana. A β-glucana foi coletada e submetida à secagem em estufa com circulação de ar por 2 horas a 60 ºC. Por fim a amostra foi triturada em moinho de facas e desengordurada em Soxhlet com hexano.

Para preparação das amostras oxidadas foi utilizado método descrito por Moura et al.[11] utilizando peróxido de hidrogênio. A reação ocorreu em um reator de vidro de capacidade de 4000 mL, sob agitação, com controle de temperatura e pH. A β-glucana (70 g) foi dispersa em 2000 mL de água destilada, aquecida a 40 ºC e adicionada de H_2O_2 na concentração de 0,9%, durante 30 minutos de reação, com utilização de $FeSO_4$ como catalisador. O pH foi mantido em 5,0 com uso de soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio 0,1 M. Ao final do processo, foi adicionado etanol 96% na proporção 1:1 para precipitação da β-glucana, a qual foi seca em estufa com circulação forçada de ar a 42 ± 2 ºC.

Dietas

Para induzir à hipercolesterolemia, os animais foram alimentados com dieta AIN-93M[15], modificando-se o teor de lipídeos de 4% para 30%, adicionando-se colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%). Durante a preparação das dietas, garantiu-se que todos os ingredientes estavam secos. Foi quantificado o teor de β-glucana com um método enzimático (Método 32-23)[16], usando o kit Megazyme BBG (Megazyme, Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, Ireland) no farelo de aveia e nos concentrados de β-glucana e também determinado o teor de lipídeos com a técnica descrita por Bligh e Dyer[17], proteína e carboidratos (AOAC[18]) do farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana (exceto de lipídeos, pois todo o concentrado foi

previamente desengordurado) para ajustar os valores dos ingredientes das dietas experimentais através da redução desses itens. A formulação das dietas pode ser observada na **Tabela 1.**

Animais

Foram utilizados 42 ratos adultos, com 60 dias de idade, machos da espécie *Rattus norvegicus* linhagem *Wistar* obtidos do biotério central da Universidade Federal de Pelotas. Os ratos foram divididos aleatoriamente em 7 grupos experimentais e todos receberam dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%), sendo a diferença entre os grupos a fonte de fibra:

1. Grupo controle: sem alterar a fonte de fibra, 5% de hemicelulose.
2. Grupo FA2,5%: 2,5% de hemicelulose + 2,5% de β-glucana do farelo de aveia.
3. Grupo FA5%: 5,0% de β-glucana do farelo de aveia.
4. Grupo BGN2,5%: 2,5% hemicelulose + 2,5% de β-glucana nativa.
5. Grupos BGN5%: 5,0% de β-glucana nativa como fonte de fibra.
6. Grupo BGO2,5%: 2,5% hemicelulose + 2,5% de β-glucana oxidada.
7. Grupos BGO5%: 5,0% de β-glucana oxidada como fonte de fibra.

O experimento teve duração de 35 dias, sendo 5 dias de adaptação e 30 dias de tratamento. Os animais foram mantidos em gabinetes ventilados, em gaiolas metabólicas individuais de aço inoxidável, nas medidas 27x19x20 cm, com pés de 25 cm de altura, comedouro tipo túnel e bebedouro de polipropileno com capacidade para 300 mL, com ração e água fornecidas *ad libitum*, no Laboratório de Ensaios Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPel, com temperatura e umidade relativa

de 22±2 ºC e 50 - 60%, respectivamente, com ciclo claro/escuro de 12 horas. No final do experimento, após jejum de 12 horas os animais foram submetidos à eutanásia por meio de decapitação. Após a laparotomia, foram coletados sangue, aorta, fígado e gordura epididimal, perirenal e peritoneal.

Capacidade de ligação com ácidos biliares

A capacidade de ligação da β-glucana com ácidos biliares foi determinada por método colorimétrico proposto por Doubilet[19]. A solução de ácido cólico foi preparada com 200 mg de ácido cólico, adicionando-se 4,7 mL de NaOH 0,1 M e completando o volume para 200 mL com água destilada. Em tubo de ensaio, foi colocado 25 mg de farelo de aveia ou concentrados β-glucana nativa ou oxidada, adicionado 10 mL de solução de ácido cólico e agitado durante 2 horas a 37 ºC. Após foi realizada a filtragem com filtro de seringa 0,2 µm. Uma alíquota de 1 mL do filtrado foi adicionado de 1 mL de solução alcoólica de furfural 0,9 % e 5 mL de ácido sulfúrico 32 M, permanecendo em banho de gelo durante 5 minutos, seguido de banho a 70 ºC durante 8 minutos e posterior banho de gelo durante 2 minutos.

Composição química das dietas experimentais

Em amostras das dietas experimentais foram determinadas a umidade, proteínas, cinzas e fibra bruta segundo método AOAC[17], lipídeos segundo Bligh e Dyer[18] e carboidratos totais: por diferença, usando a fórmula: 100 – (proteína bruta + lipídeos totais + fibra bruta + cinzas + umidade) AOAC[17].

Peso corporal total, consumo de ração e índice de lee

Todos os animais foram pesados no início, meio e ao final do experimento. O peso final de cada animal foi subtraído do peso inicial, sendo o resultado considerado a alteração de peso total do animal. A ingestão alimentar foi monitorada diariamente pela diferença em gramas entre a quantidade ofertada e a quantidade restante no dia seguinte. Para se calcular o Índice de Lee se subtraiu o peso final pelo peso inicial e colocado na seguinte fórmula: raiz cúbica do peso corporal ganho em gramas dividido pelo comprimento crânio caudal em centímetros multiplicado por dez[20].

Lipídeos e glicose plasmática

O sangue coletado foi centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos para se obter o plasma sanguíneo, este foi transferido para eppendorfs e congelado a -80 ºC até o momento das análises. O colesterol total sérico foi quantificado por sistema enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 76-2/100). O colesterol HDL foi determinado por meio da precipitação das lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (LDL e VLDL), utilizando o sistema enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 13).

O VLDL foi determinado pela fórmula de VLDL = Triacilglicerol/5 e o LDL pela diferença entre colesterol total e (HDL + VLDL)[21]. Os triacilgliceróis foram determinados pelo sistema enzimático Labtest Diagnóstica® (GPO-ANA cat. 59-4/50). A glicose foi determinada usando o método de glicose oxidada (Bioclin).

Lipídios fecais e hepáticos

As fezes foram coletadas durante 10 dias, secas em estufa por 12 horas a 50 ºC e armazenadas em embalagens de polietileno até o momento das análises. As amostras de fezes foram maceradas e desumidificadas em estufa a 50 ºC por 4 horas. A análise foi realizada pelo método Bligh e Dyer[18] para determinação dos lipídios totais.

Para a análise dos lipídios hepáticos as amostras dos fígados dos animais foram maceradas, utilizando-se uma alíquota de fígado de cada animal do grupo. Foi utilizado o método de Bligh e Dyer[18] para quantificação dos lipídios totais.

Ácidos biliares fecais

Os ácidos biliares foram extraídos das fezes dessecadas segundo Van der Meer[22] com a utilização de tert-butanol a 50% por 15 minutos a 37 ºC, seguido de centrifugação a 10.000 rpm por 2 minutos. A quantificação foi realizada por meio de kit enzimático colorimétrico. Na presença de Tio-NAD, a enzima 3-α hidroxiesteróide desidrogenase (3-α HSD) converte os ácidos biliares a 3-ceto-esteróides e Tio-NADH. A taxa de formação de Tio-NADH é determinada pela mudança de absorbância a 405 nm, mensurada entre 60 e 120 segundos de reação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-Visível. As determinações foram realizadas em triplicatas.

Análise Histológica

Fragmentos da aorta foram fixados em formalina tamponada 10%, cortados com 5 µm de espessura e corados pela técnica de hematoxilina e eosina segundo

Behner, Tolosa e Freitas Neto[23]. A análise histológica de alterações ateroscleróticas foi realizada em microscópio óptico de luz comum (Nikon Eclipse E200).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como médias e desvio padrão. Os dados tiveram distribuição normal e para a análise de variância foi utilizado ANOVA de uma via, seguido do teste estatístico de Ducan. Foi considerado como nível de significância estatística o limite de 5%.

Aspectos éticos

Todos os procedimentos foram realizados conforme a Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) nº 714 de junho de 2002, seguindo os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)[24]. O projeto de pesquisa foi submetido à Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas com aprovação nº 9778.

Resultados

Teor de β-glucana, carboidratos, proteínas e cinzas dos concentrado de β-glucana e do farelo de aveia

O rendimento de extração dos concentrados de β-glucana do farelo de aveia foi de aproximadamente 13,8%. Os concentrados desengordurados apresentaram 42,3% de β-glucana, 32,6% de proteínas, 2,9% de cinzas e 22,2% de carboidratos, enquanto que o farelo de aveia apresentou 11,9% de β-glucana, 24,0% de proteínas,

6,6% de lipídeos, 54,6% de carboidratos e 2,9% de cinzas, os valores foram obtidos em base seca.

Teor de nutrientes das dietas experimentais

Os valores obtidos na análise de composição centesimal das dietas podem ser observados na **Tabela 2.** O valor médio de fibras da dieta foi de 4,5%. A variação na quantidade de proteínas e lipídeos foi de 11,2-13,5% e 28,4-30,3% respectivamente. Foi observada uma variação um pouco maior no teor de carboidratos totais (43,2-46,7%).

Capacidade de ligação com ácidos biliares

O concentrado β-glucana nativa apresentou significativamente maior capacidade de ligação com ácidos biliares *in vitro* com valor de 12,7±0,3% ($p<0,05$), seguido pela β-glucana oxidada a 0,9% de H_2O_2/30 min, que apresentou capacidade de 9,0±0,2% ($p<0,05$). O menor valor encontrado foi do farelo de aveia (6,7±0,4%) ($p<0,05$), conforme pode ser observado na **Figura 1.**

Consumo de ração e consequente ganho de peso e índice de Lee

A **Tabela 3** apresenta os valores de consumo de ração diário, ganho de peso e índice de Lee dos animais após o período de tratamento dietético ser administrado. Observa-se que a ingestão diária de ração dos grupos que receberam farelo de aveia, concentrado de β-glucana nativa ou oxidada não foi significativamente diferente do grupo sem alteração da fonte de fibra (controle), no entanto, o consumo alimentar dos grupos FA5% e BGN2,5% de 17,03 g e 17,06 g

respectivamente, foi significativamente menor ao grupo FA2,5% que apresentou consumo de 19,34 g ($p<0,05$).

Em relação ao peso ganho durante o período de tratamento, o grupo FA5% apresentou o menor aumento, de 71,3 g do seu peso inicial, diferindo significativamente dos grupos controle ($p<0,05$), FA2,5% ($p<0,05$), BGO2,5% ($p<0,05$) e BGO5% ($p<0,05$), representando uma redução média de 32% de peso ganho. O grupo que recebeu β-glucana nativa 2,5% também apresentou menor ganho de peso significativo quando comparado aos grupos FA2,5% ($p<0,05$) e BGO5% ($p<0,05$).

Ao analisar o índice de Lee, que representa o grau de adiposidade corporal, podemos observar que as diferenças foram maiores comparados ao ganho de peso corporal. Os grupos FA5%, BGN2,5%, BGN5%, BGO2,5% e BGO5%, apresentaram significativamente menores valores comparados ao grupo controle ($p<0,05$), a maior redução foi do grupo FA5% de 12,6% seguida do grupo BGN5% com uma redução do índice de adiposidade de 7,2%. O grupo que recebeu a fibra do farelo de aveia a 5% foi o único grupo que diferiu significativamente do grupo controle tanto no ganho de peso como no grau de adiposidade.

Gordura epididimal, perirenal e peritoneal

A **Figura 2** apresenta os valores de gordura epididimal, perirenal e peritoneal dos ratos *Wistar* tratados com dieta hipercolesterolêmica. Em relação aos valores de gordura, o grupo que recebeu farelo de aveia 5% obteve o valor de 3,9g de gordura epididimal significativamente menor ($p<0,05$) quando comparado ao grupo que recebeu a mesma dieta com concentração de 2,5%, com valor de 6,6g, que representa uma redução de 41%. Ao analisar a gordura perirenal (b) e peritoneal (c),

o grupo FA5% apresentou 3,7 g e 7,6 g respectivamente, sendo o único a apresentar valores significativamente menores ao dos animais pertencente ao grupo controle, além de diferir do grupo FA2,5%, BGO2,5% e BGO5% ($p<0,05$).

Gordura hepática e fecal

Como pode ser observado na **Figura 3**, o farelo de aveia, a B-glucana nativa e a oxidada nas duas concentrações estudadas foram eficazes para o aumento da excreção fecal de lipídeos totais, diferindo significativamente quando comparados ao grupo controle ($p<0,05$). Os grupos que apresentaram maior excreção foram o FA5%, BGN5% e BGO5%, com aproximadamente 90% de acréscimo no conteúdo de gordura fecal

Já em relação aos ácidos biliares nas fezes (b), o grupo controle foi o que apresentou menor valor comparado aos demais, no entanto, nenhum grupo aumentou significativamente a sua excreção fecal. Ainda de acordo com a mesma figura, pode-se verificar que os grupos FA5% e BGN2,5% apresentaram menor quantidade de lipídeos hepáticos (c), com redução significativa aproximada de 15% comparados ao grupo que recebeu apenas dieta hipercolesterolêmica sem modificação da fonte de fibra (controle) ($p<0,05$).

Perfil lipídico sérico

A **Tabela 4** detalha o efeito do farelo de aveia e concentrado de β-glucana nativa e oxidada no perfil lipídico sérico de ratos. Podemos verificar que após 30 dias de tratamento, não houve diferença significativa no perfil lipídico sérico de ratos que se alimentaram com farelo de aveia ou concentrado de β-glucana nativa ou oxidada. Apesar de a maior parte dos dados demonstrarem uma possível tendência

de redução de valores nos grupos com modificação da fonte de fibra em comparação ao grupo controle, essa redução não foi comprovada estatisticamente.

Glicemia

Os valores da glicemia dos ratos *Wistar* após o período de tratamento estão apresentados na **Figura 4**. O grupo que recebeu farelo de aveia para substituição total da fibra da dieta (FA5%) apresentou valor de 126,5 mg/dL com redução significativa do valor de glicose sérica quando comparada ao grupo controle, com glicemia de 143,0 mg/dL, obtendo uma redução de 12%. O mesmo grupo também apresentou valores menores quando comparados aos grupos BNG5%, BGO2,5% e BGO5%, que apresentaram glicemia de 153,0; 151,5 e 155,0 mg/dL respectivamente ($p<0,05$).

Análise histológica aorta

Na análise histológica das diversas estruturas das artérias torácicas não foi evidenciado nenhuma alteração endotelial ou presença de depósitos ateromatosos (placas de colesterol) em nenhum dos grupos experimentais, neste último item foi dada atenção especial em função das dietas conterem lipídios de origem animal **(Figura 5).**

Discussão

Dentro do contexto do presente estudo, até o momento não foram encontradas pesquisas que avaliem simultaneamente os efeitos do consumo de farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado para analisar se

as técnicas de extração e modificação da β-glucana acarretam em prejuízo ou benefício quanto a seus efeitos fisiológicos no organismo.

Atualmente, na relação existente entre a ciência dos alimentos e do consenso alimentação-saúde-doença, existe grande procura de alimentos que além de fornecer os nutrientes indispensáveis ao organismo, proporcionam benefícios adicionais à saúde. Segundo Delaney[6] concentrados de β-glucana preparados a partir da extração do farelo de aveia podem ser introduzidos nos alimentos e melhorar as suas propriedades funcionais facilitando o consumo da quantidade necessária para obtenção dos benefícios.

No presente estudo, o concentrado obtido da extração de β-glucana do farelo de aveia foi superior ao encontrado no estudo de Moura[11], que obteve 32,5% de pureza ao extrair a fibra com o objetivo de avaliar propriedades físico-químicas, reológicas e fisiológicas após oxidação com peróxido de hidrogênio e aplicá-la na formulação de pães de queijo, e semelhante ao valor encontrado no estudo de Bae[7], que obteve 43% de pureza em seu concentrado ao extrair β-glucana para avaliar o efeito hipocolesterolêmico após hidrólise enzimática. O estudo comparativo de dados apresentados na literatura, relativos à extração de β-glucana da aveia, é dificultado devido ao grande número de variáveis envolvidas, genéticas e ambientais[26].

As variações entre genótipos, principalmente quanto à espessura das paredes celulares como a do endosperma subaleurônico, que exerce maior resistência à extração, também interferem nas respostas obtidas[25]. Portanto, essas diferenças de valores de concentração quando comparado o obtido nesse estudo com os demais da literatura, podem ser justificadas, entre outras causas, pelo genótipo empregado.

Mikkelsen et al.[27] afirmam que os benefícios nutricionais da β-glucana mais amplamente documentados são a redução da glicose sérica e os níveis de insulina pós-prandial, bem como a redução dos níveis de colesterol no soro. Segundo Lazaridou e Biliaderis[28] uma das formas da β-glucana atuar no perfil lipídico é através da inibição da digestão e absorção de gordura da dieta, pelo aumento da viscosidade do conteúdo intestinal, promovendo diminuição da absorção e aumento da excreção de gordura nas fezes. Fato comprovado nesse estudo, em que o consumo de farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana nativa e oxidada aumentaram significativamente a gordura excretada nas fezes, e esse aumento foi proporcional à concentração, indicando, nesse caso, o efeito dose-resposta.

Da mesma forma, a excreção de ácidos biliares é importante para a diminuição dos níveis de colesterol sanguíneo, uma vez que são formados no fígado a partir de colesterol sérico[6,7]. Nesse estudo, o concentrado de β-glucana apresentou maior capacidade de ligação com ácidos biliares *in vitro*, provavelmente pela maior quantidade da fibra solúvel comparada ao farelo de aveia, no entanto, essa capacidade foi reduzida quando a β-glucana foi oxidada. De acordo com Bae et al.,[7] o poder de intumescimento pode estar relacionado com a maior ligação com ácidos biliares, o que pode justificar a redução da capacidade de ligação quando a β-glucana foi oxidada, uma vez que alto nível de oxidação reduz o poder de intumescimento[13], diferente do encontrado no estudo de Moura et al.,[11] em que a capacidade de ligação com ácidos biliares *in vitro* aumentou nas amostras oxidadas passando de 11,3% na β-glucana nativa para 16,0% no tratamento com 0,9% de H_2O_2/30 min. No entanto, no presente estudo, essa capacidade de ligação com os ácidos biliares *in vitro* não repercutiu em maior excreção de ácidos biliares nas fezes

dos animais que receberam as dietas com farelo de aveia e concentrado de β-glucana nativa e oxidada.

Bae et al.[7] ofertaram para ratos *Wistar* β-glucana nativa ou β-glucana hidrolisada para avaliar o efeito sobre o perfil lipídico, o grupo que recebeu a versão hidrolisada apresentou significativamente maior eliminação de ácidos biliares e gordura nas fezes quando comparado ao grupo controle e a β-glucana nativa. Park et al.,[12] avaliaram o efeito das β-glucana nativa e oxidada sobre o perfil lipídico de ratos, foram observadas eliminações fecais de colesterol total e de triacilgliceróis, os quais foram correlacionados positivamente aos seus níveis reduzidos de lipídeos no soro e no fígado. Tendo a β-glucana oxidada potencializado o efeito na excreção de lipídeos.

Apesar de ter ocorrido maior excreção de lipídeos nas fezes de todos os grupos que receberam modificação na fonte de fibra, não foi suficiente para causar redução significativa de lipídios séricos nos grupos que receberem farelo de aveia e o concentrado de β-glucana tanto nativo como oxidado. Já em 1997, a Food and Drug Administration (FDA)[29] publicou seu posicionamento sobre a relação entre fibra solúvel da aveia e as concentrações de colesterol no plasma. A FDA concluiu que a fibra é eficaz na redução colesterol total e LDL por cerca de 5-10%, em doses de 3 g/dia de ambos farelo de aveia ou aveia em flocos. Este valor é fornecido em aproximadamente 55 g farelo de aveia ou 75 g de aveia em flocos.

No entanto, as propriedades de redução de colesterol parecem estar mais associadas às propriedades físico-químicas da β-glucana, em vez do teor total de fibra solúvel por si[30]. Lovegrone et al.,[31] ao testar em humanos a dose de 3 g de β-glucana ao dia, dose mínima recomendada pela FDA para se obter os benefícios,

através da inclusão de farelo de aveia na dieta, não encontrou diferença significativa no perfil lipídico sérico com o grupo controle.

Porém no estudo de Park et al.[12], único estudo encontrado que além de avaliar o efeito da β- glucana nativa avaliou o efeito da oxidação da β- glucana no perfil lipídico de ratos, obteve que a β-glucana oxidada apresentou redução significativa dos TAG, CT, LDL e VLDL quando comparados ao grupo controle e β-glucana nativa. Da mesma forma, Bae et al.[7] ao avaliarem a atividade hipocolesterolêmica da β-glucana nativa e hidrolisada em ratos alimentados com dieta rica em colesterol durante 4 semanas encontraram que tanto a dieta contendo β-glucana hidrolisada, bem como β-glucana nativa reduziram de forma eficaz os níveis de LDL e VLDL no soro de ratos *Wistar*.

Na revisão sobre os efeitos das fibras solúveis nas doenças cardiovasculares, Theuwissen e Mensink[32], referem haver algumas inconsistências quanto aos efeitos da β-glucana no perfil lipídico ao encontrar na sua pesquisa alguns estudos com redução dos níveis de colesterol, mas também alguns estudos demonstraram praticamente nenhum benefício, os autores justificam que pode ser devido a vários fatores, tais como o modo de administração, ou diferenças de solubilidade ou peso molecular.

Segundo Lazaridou e Biliaderis[28] a estrutura linear da β-glucana é muito sensível a despolimerização durante o processamento da aveia, isto leva a diminuição da viscosidade e atividade fisiológica reduzida. Em amido, tratamentos oxidativos de baixa intensidade podem promover aumento do poder de intumescimento, pois não causam uma despolimerização da molécula muito acentuada[33]. No entanto, os tratamentos mais intensos como utilizados nesse

estudo podem provocar desintegração estrutural da molécula e diminuir o poder de intumescimento[34].

Moura et al[11], ao oxidar a β-glucana com 0,9% de H_2O_2 com 30 minutos de duração, mesmo grau de oxidação usado no presente estudo, reduziu significativamente o intumescimento, o que foi também verificado por Bae et al.,[7] quando hidrolisou parcialmente a molécula.

O poder de intumescimento da β-glucana está relacionado com a solubilidade, que por sua vez, é afetada pela extração. É aumentada no início do processamento quando ocorre despolimerização e a β-glucana é liberada a partir da parede da célula, no entanto, conforme esta degradação continua, a solubilidade diminui e agregados insolúveis de β-glucana são formados.

Portanto, as alterações na estrutura da molécula causadas pela oxidação com peróxido de hidrogênio, como aumento dos grupos carbonila e carboxila, provável hidrólise da molécula e diminuição do poder de intumescimento nos tratamentos mais intensos, são as possíveis causas de redução na viscosidade dos géis de β-glucana e redução dos efeitos fisiológicos.

Segundo Wong et al.,[35] apenas as fibras solúveis viscosas retardam o tempo de esvaziamento gástrico e reduzem a absorção de glicose enquanto que as fibras solúveis não viscosas atuam principalmente como um substrato para a fermentação microbiana do cólon. No presente estudo, apenas o grupo que recebeu farelo de aveia na maior concentração reduziu significativamente os níveis de glicemia comparada aos demais grupos. As alterações na viscosidade e na solubilidade causada pela extração e pela oxidação podem ter sido as principais causas.

No estudo de Aly[36] cujo objetivo era analisar a eficiência do uso de farelo de aveia ou de trigo (5 ou 10%) em ratos com hipercolesterolemia induzida,

encontraram níveis maiores de glicemia nesses animais, provavelmente pelo fato de ter sido ofertado na forma de suplemento. Já Hooda et al.,[37] ao administrarem dietas contendo 6% de β-glucana a porcos verificaram diminuição do pico de glicemia e produção de insulina.

Outra atribuição dada a β-glucana é em relação ao menor ganho de peso. Segundo Beck et al.,[38] evidências epidemiológicas mostram uma relação inversa entre a ingestão de fibra alimentar, ganho de peso e consequente redução na gordura corporal, o que pode ser comprovado nesse estudo, com redução no peso ganho, índice de adiposidade corporal e de gordura perirenal e peritoneal. Essas modificações foram observadas principalmente no grupo que recebeu farelo de aveia em maior concentração.

Ropert et al.[39] e Piche et al.[40] relatam que além dos efeitos provocados pela viscosidade, algumas fibras fermentáveis proporcionam o aumento de hormônios relacionados com a saciedade. A β-glucana da aveia tem se mostrado eficaz no controle no consumo pós-refeição através de elevação dos hormônios da saciedade no plasma[41]. Parte disso pode ser atribuído à produção de ácidos graxos de cadeia curta durante a sua fermentação colônica, que estimula as células do cólon para produção desses hormônios.

Em conclusão, o processamento da β-glucana através da extração e da oxidação interfere no seu efeito fisiológico, uma vez que o grupo que recebeu farelo de aveia apresentou melhores resultados no ganho de peso, níveis de gordura corporal e glicemia. Esses resultados foram apresentados quando ofertada a maior concentração, indicando que a dose também parece ser fundamental na funcionalidade no organismo.

Agradecimentos

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), SCT-RS (Secretaria da Ciência e Tecnologia do Estado do Rio Grande do Sul), Pólo de Inovação Tecnológica em Alimentos da Região Sul, FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) e a Cerealle Indústria e Comércio de Cereais LTDA.

.

Declaração de Contribuições dos autores para Manuscrito

FRN, EH e ARGD investigação destinada; FRN, RC e BOS pesquisa realizada; FRN e EH análise estatística; ARGD e EH tinha responsabilidade primária para o conteúdo final. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Referências bibliográficas

1. WHO - World Health Organization**.** Cardiovascular diseases (CVDs). Fact sheet N°317. Geneva, September 2011. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html Acesso em: 23 julho de 12.
2. Klag ML, Ford DE, Mead LA, He J, Whelton PK, Liang KY, et al. Serum cholesterol in young men and subsequent cardiovascular disease. N Engl J Med. 328, 5, 313-8, 1993.
3. Rabey HA, Al Seni MN, Amer H. Efficiency of Barley Bran and Oat Bran in Ameliorating Blood Lipid Profile and the Adverse Histological Changes in Hypercholesterolemic Male Rats. BioMed Research Internationa, v 2013.
4. Park Y, Subar AF, Hollenbeck A, Schatzkin Arthur. Dietary Fiber Intake and Mortality in the NIH-AARP Diet and Health Study. Arch intern med 2011;171:12.
5. Brennana CS, Cleary LJ. The potential use of cereal (1/3,1/4)-b-D-glucans as functional food ingredients. J Cereal Sci 2005; 42: 1-13.
6. Delaney B, Nicolosi RJ, Wilson TA, Carlson T, Frazer s, Zheng GH, Hess R, Ostergren K, Haworth J, Knutson N. Beta-Glucan Fractions from Barley and Oats Are Similarly Antiatherogenic in Hypercholesterolemic Syrian Golden Hamsters. J Nutr 2002;3:0022-3166.
7. Bae IY, Lee S, Kim SM, Lee H G. Effect of partially hydrolyzed oat b-glucan on the weight gain and lipid profile of mice. Food Hydr; 2009;23:2016–2021.
8. Casiraghi MC, Garsetti M, Testolin G, Brighenti F. Post-Prandial Responses to Cereal Products Enriched with Barley β-Glucan. J of Am Col Nutr 2006; 25:313–320.

9. Huang X F, Yu Y, Beck EJ, South T, Li Y, Batterham M J, Tapsell LC, Chen J. Diet high in oat b-glucan activates the gut-hypothalamic (PYY3–36-NPY) axis and increases satiety in diet-induced obesity in mice. Mol Nutr & Food Res 2011;55: 1118–1121.
10. Biörklund M, Rees AV, Mensink RP, Önning G. Changes in serum lipids and postprandial glucose and insulin concentrations after consumption of beverages with b-glucans from oats or barley: a randomised dose-controlled trial**.** Am J Clin Nutr 2010; 32:92-723.
11. Moura FA. Pereira JM, Silva DO, Zavareze ER, Moreira, AS, Helbig E, Dias ARG. Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat b-glucan. Food Chem 2011;128:982–987.
12. Park SY, Bae . Lee S, Lee HG. Physicochemical and Hypocholesterolemic Characterization of Oxidized Oat β-Glucan. J Agr Food Chem 2009; 57:439–443.
13. Li X, Xu A, Xie H, Yu W, Xie W, Ma X. Preparation of low molecular weight alginate by hydrogen peroxide depolymerization for tissue engineering. Carbohyd Polym 2010;79:660–664,.
14. Faure AM, Sanchez-Ferrer A, Zabara A, Andersen ML, Nystrom L. Modulating the structural properties of β-d-glucan degradation products by alternative reaction pathways. Carbo Pol 2014;99:679–686.
15. Reeves PG. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. J Nutrition 1993;127:838S–841S.
16. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the AACC,10th ed. Methods 32-23; 46-13; 08-01. The Association: St. Paul, MN. 2000.
17. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian, J Bioch Phys 2009;37: 911-917.

18. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis. 18 ed. Washington DC USA, 2006.
19. Doubilet H. Differential quantitative analysis of bile acids in bile and in duodenal drainage. J Biogeogr 1936; 114:289-308.
20. Bernardis LL, Patterson, BD. Correlation between "Lee index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamiclesions. *J. Endocrinol*, v. 40. P.527-528, 1968.
21. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge**.** Clin. Chem. v. 18, n.6, p. 499-502, 1972.
22. Van Der Meer et al .T butanol extration of feces: a rapid procedure for enzymic determination of fecal bile acids. In: Beyben AC, Geeleb MJH, Katan MB, Schoyten JA. Cholesterol metabolism in health and disease: studies in the Netherlands**.** Wageningen: Ponsen & Looijen; 1985; 113-19.
23. Behner OA, Tolosa EMC, Freitas Neto AG. Manual de técnicas para a histología normal e patológica. São Paulo: EDART. 1976.p.239.
24. Cobea. Princípios éticos na experimentação animal**.** Disponível em: http://www.cobea.org.br/. Acesso em: 12 set. 2012
25. Wood PJ. Cereal β-glucans in diet and health. . J Cereal Sci, 2007; 46:230-238.
26. McCleary BV, Mugford DC. Determination of β-glucan in barley in barley and oats by stremlinedenzymatic method: summary of collaborative study. J AOAC international 1997, 80; 580-583.
27. Mikkelsen MS, Jespersen BM, Larsen FH, Blennow A, Engelsen SB. Molecular structure of large-scale extracted β-glucan from barley and oat: Identification of a significantly changed block structure in a high β-glucan barley mutant. Food Chem 2013; 136,130–138.

28. Lazaridou A, Biliaderis CG. Molecular aspects of cereal b-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. J Cereal Sci, 2007; 46,101–118.
29. FDA- Food and Drug Administration Food labelling: health claims; oats and coronary heart disease. Federal Register, 1997; 62: 3584–3601.
30. Charlton KE, Tapsell LC, Batterham MJ, O'Shea J, Thorne R, Beck E, Tosh SM; Effect of 6 weeks' consumption of β-glucan-rich oat products on cholesterol levels in mildly hypercholesterolaemic overweight adults. Br J Nutr. 2012;107:1037-47.
31. Lovegrove JA, Clohessy A, Milon H, Williams CM. Modest doses of b-glucan do not reduce concentrations of potentially atherogenic lipoproteins1–3. Am J Clin Nutr 2000;72:49–55.
32. Theuwissen E, Mensink RP. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. Physiology & Behavior 2008;94:285–292.
33. Kuakpetoon D, Wang Y. Locations of hypochlorite oxidation in corn starches varying in amylose content. Carbohydrate Research 2008; 343:90–100.
34. Sandhu KS, Kaur M, Singh N, Lim ST. A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphologicaland pasting properties. LWT; 2008: 41, 1000–1010.
35. Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. J Clin Gastroenterol 2006; 40(3):235-43.
36. Aly NH. Effect of Dietary Oat and Wheat Bran on Biochemical Changes in Rats Fed High Fat-High Cholesterol Diets. J. Appl. Sci. Res 2012; 8(1):598-604.
37. Hooda S, Matte JJ, Vasanthan T, Zijlstra RT. Dietary oat b-glucan reduces peak net glucose flux and insulin production and modulates plasma incretin in portal-vein catheterized grower pigs. The Journal of Nutrition 2010;140:1564–1569,

38. Beck EJ, Tapsell LC, Batterham MJ, Tosh S M, Huang XF. Increases in peptide Y-Y levels following oat b-glucan ingestion are dose-dependent in overweight adults. Nutrition Research 2009; 29:705–709,
39. Ropert A, Cherbut C, Roze C, et al. Colonic fermentation and proximal gastric tone in humans. Gastroenterology 1996;111:289–96.
40. Piche T, Bruley S, Varannes SB, et al. Colonic fermentation influences lower esophageal sphincter function in gastroesophageal reflux disease. Gastroenterology 2003; 124:894–902.

TABELAS

Tabela 1. Formulação das dietas hipercolesterolêmicas fornecidas (g/kg dieta) aos ratos *Wistar* durante o período do experimento

Ingredientes	Controle	GFA2,5%	GFA5%	GBGN2,5% GBNO2,5%	GBGN5% GBGO5%
Amido de milho	204,70	83,00	0,00	191,00	178,00
Caseína	140,00	89,60	39,20	120,70	101,00
Dextrina	155,00	155,00	142,70	155,00	155,00
Sacarose	100,00	100,00	87,70	100,00	100,00
Óleo soja	40,00	26,14	12,28	40,00	40,00
Fibra (hemi-celulose)	50,00	25,00	0,00	25,00	0,00
Mix mineral	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Mix vitaminas	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
L- cistina	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Bitart. Colina*	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Tert – buty**	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Banha de porco	250,00	250,00	250,00	250,00	250,00
Colesterol	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Ácido cólico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Farelo de aveia	0,00	210,00	420,00	0,00	0,00
Concentrado B-glucana	0,00	0,00	0,00	59,00	118,00

GFA2,5:Grupo Farelo de aveia 2,5%; GFA5%: Grupo Farelo de aveia 5,0%; GBGN2,5%: Grupo β-glucana nativa 2,5%; GBNO2,5%: Grupo β-glucana oxidada 2,5%; GBGN5,0%: Grupo β-glucana nativa 5%; GBGO5,0%:Grupo β-glucana oxidada 5%. *Bitartarato de colina **Tetra-butilhidroquinona. Original a este manuscrito.

Tabela 2. Composição química das dietas ofertadas aos ratos *Wistar* durante o período de tratamento

Composição %	Controle	FA2,5%	FA5%	BGN2,5%	BGN5%	BGO2,5%	BGO5%
Umidade	6,07±0,09	6,33±0,06	6,55±0,04	6,59±0,08	6,15±0,13	6,02±0,06	6,47±0,08
Cinzas	2,23±0,14	2,42±0,87	2,55±0,76	2,14±0,10	2,48±0,20	2,24±0,42	2,36±0,67
Proteína	11,21±0,85	12,34±0,45	13,13±0,48	13,53±0,42	11,75±1,11	11,99±0,71	12,07±0,36
Lipídeos	29,07±0,64	28,41±0.61	28,32±1,5	30,16±1,10	29,38±0,54	30,29±1,2	29,64±0,64
Fibras	4,70±0,13	4,48±0,55	4,55±0,03	4,37±0,47	4,55±0,08	4,57±0,35	4,55±0,09
Carboidratos	46,72±0,97	46,02±0,65	44,9±0,38	43,21±0,58	45,69±0,85	44,89±0,63	44,91±0,92

FA2,5%:Grupo Farelo de aveia 2,5%; FA5%: Grupo Farelo de aveia 5,0%; BGN2,5%: Grupo β-glucana nativa 2,5%; BNO2,5%: Grupo β-glucana oxidada 2,5%; BGN5%: Grupo β-glucana nativa 5,0%; BGO5%:Grupo β-glucana oxidada 5,0%. Original a este manuscrito.

Tabela 3. Consumo de ração diário, ganho de peso e índice de Lee dos ratos *Wistar* tratados com dieta hipercolesterolêmica (n=42)

Grupos	Consumo de ração (g)	Peso ganho (g)	Índice de Lee
Controle	18,05±2,72[a,b]	98,50±11,22[a,b]	2,22±0,14[a]
FA2,5%	19,34±2,72[a]	108,33±10,98[a]	2,23±0,08[a,b]
FA5%	17,03±2,10[b]	71,33±14,52[c]	1,94±0,17[b]
BGN2,5%	17,06±2,19[b]	84,00±16,41[b,c]	2,06±0,15[b]
BGN5%	17,97±3,32[a,b]	91,50±19,10[a,b,c]	2,06±0,20[b]
BGO2,5%	18,13±2,11[a,b]	101,83±23,89[a,b]	2,09±0,15[b]
BGO5%	18,38±2,43[a,b]	109,17±15,30[a]	2,17±0,15[b]

Os valores representam as médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%. Original a este manuscrito.

Tabela 4. Valores séricos de triglicerídeos, colesterol total, HDL, LDL e VLDL dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42)

GRUPOS	TAG	CT	HDL	VLDL	LDL
CONTROLE	52,85±25,45[a]	111,4±32,27[a]	34,34±7,50[a]	10,57±5,09[a]	66,48±27,72[a]
FA2,5%	52,74±20,98[a]	98,24±20,78[a]	28,65±4,96[a]	10,55±4,19[a]	59,03±24,54[a]
FA5%	31,91±13,82[a]	93,44±33,13[a]	33,11±7,12[a]	6,38±2,76[a]	53,94±33,87[a]
BGN2,5%	39,03±19,98[a]	105,11±33,84[a]	30,45±3,24[a]	7,87±4,00[a]	66,85±38,60[a]
BGN5%	36,07±15,31[a]	96,92±26,39[a]	36,15±6,02[a]	7,21±3,06[a]	53,56±28,14[a]
BGO2,5%	33,33±19,68[a]	84,85±25,49[a]	34,02±7,62[a]	6,66±3,93[a]	44,16±29,03[a]
BGO5%	41,44±28,03[a]	109,68±24,82[a]	36,36±12,38[a]	8,28±5,60[a]	65,02±22,62[a]

FA2,5%:Grupo Farelo de aveia 2,5%; FA5%: Grupo Farelo de aveia 5,0%; BGN2,5%: Grupo β-glucana nativa 2,5%; BNO2,5%: Grupo β-glucana oxidada 2,5%; BGN5%: Grupo β-glucana nativa 5,0%; BGO5%:Grupo β-glucana oxidada 5,0%. Os valores representam as médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indica diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%. Não foi verificada diferença significativa entre os grupos (P<0,05). Original a este manuscrito.

LEGENDA DAS FIGURAS

FIGURA 1. Capacidade de ligação com ácidos biliares do farelo de aveia, β-glucana nativo e oxidado com peróxido de hidrogênio. Original a este manuscrito.

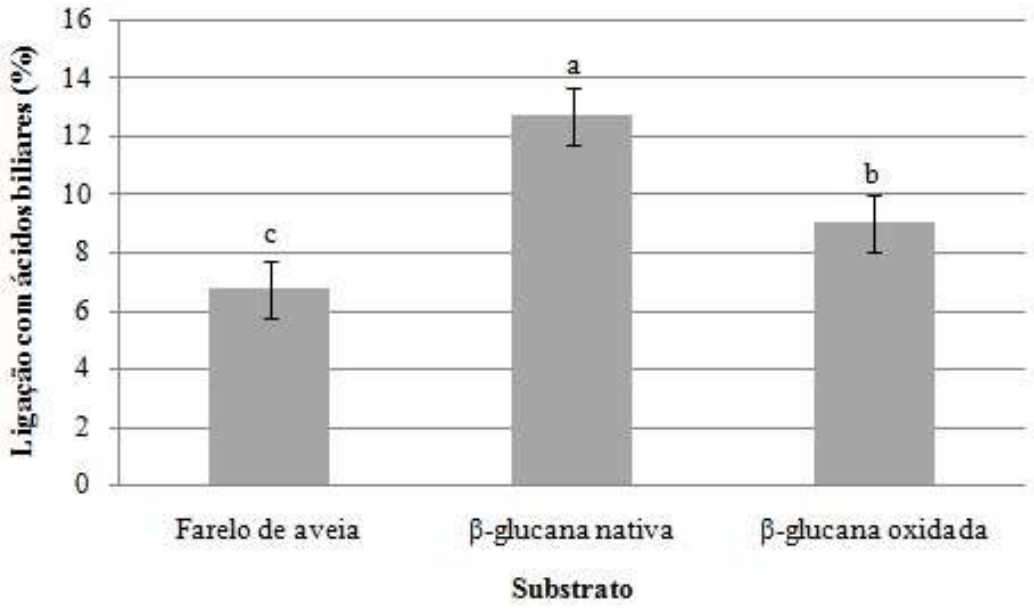
FIGURA 2. Gordura epididmal, perirenal e peritoneal dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42). Os valores representam as médias ± desvio. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%. Original a este manuscrito.

FIGURA 3. Gordura e ácidos biliares fecais e gordura hepática dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42). Os valores representam as médias ± desvio. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%. Original a este manuscrito.

FIGURA 4. Concentração de glicose sérica dos ratos *Wistar* com hipercolesterolemia induzida (n=42). Os valores representam as médias ± desvio. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%. Original a este manuscrito.

FIGURA 5. Fotomicrografia com 400 vezes de ampliação de aorta torácica (a, b, c, d) de ratos *Wistar* após o período de tratamento coradas com hematoxilina e eosina (n=42). Original a este manuscrito.

Figura 1


Ligação com ácidos biliares (%)
16
14
12
10
8
6
4
2
0
a
b
c
Farelo de aveia
β-glucana nativa
β-glucana oxidada
Substrato

.

Figura 2

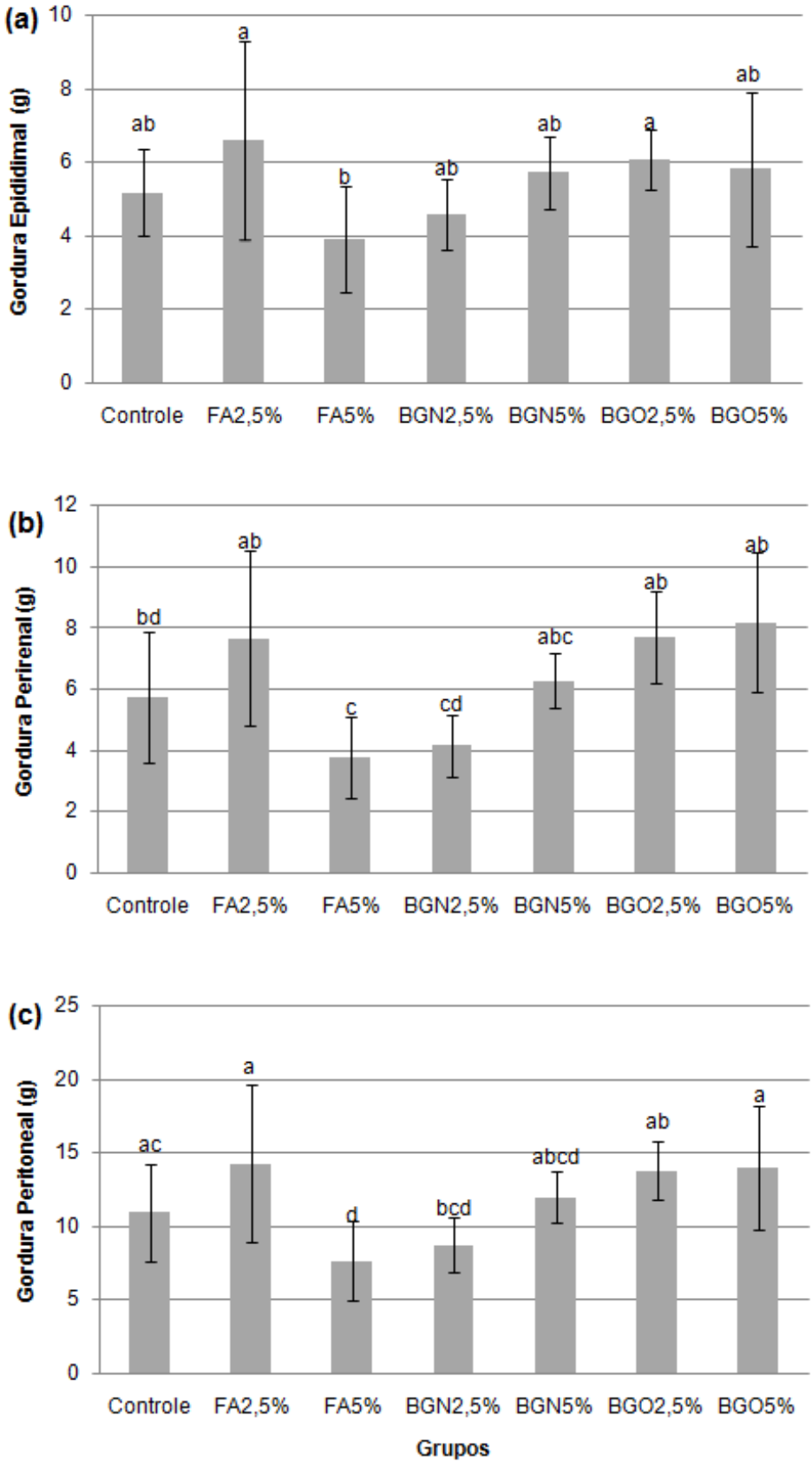

(a)
Gordura Epididimal (g)
0
2
4
6
8
10
ab
a
b
ab
ab
a
ab
Controle
FA2,5%
FA5%
BGN2,5%
BGN5%
BGO2,5%
BGO5%
(b)
Gordura Perirenal (g)
0
2
4
6
8
10
12
bd
ab
c
cd
abc
ab
ab
Controle
FA2,5%
FA5%
BGN2,5%
BGN5%
BGO2,5%
BGO5%
(c)
Gordura Peritoneal (g)
0
5
10
15
20
25
ac
a
d
bcd
abcd
ab
a
Controle
FA2,5%
FA5%
BGN2,5%
BGN5%
BGO2,5%
BGO5%
Grupos

FIGURA 3

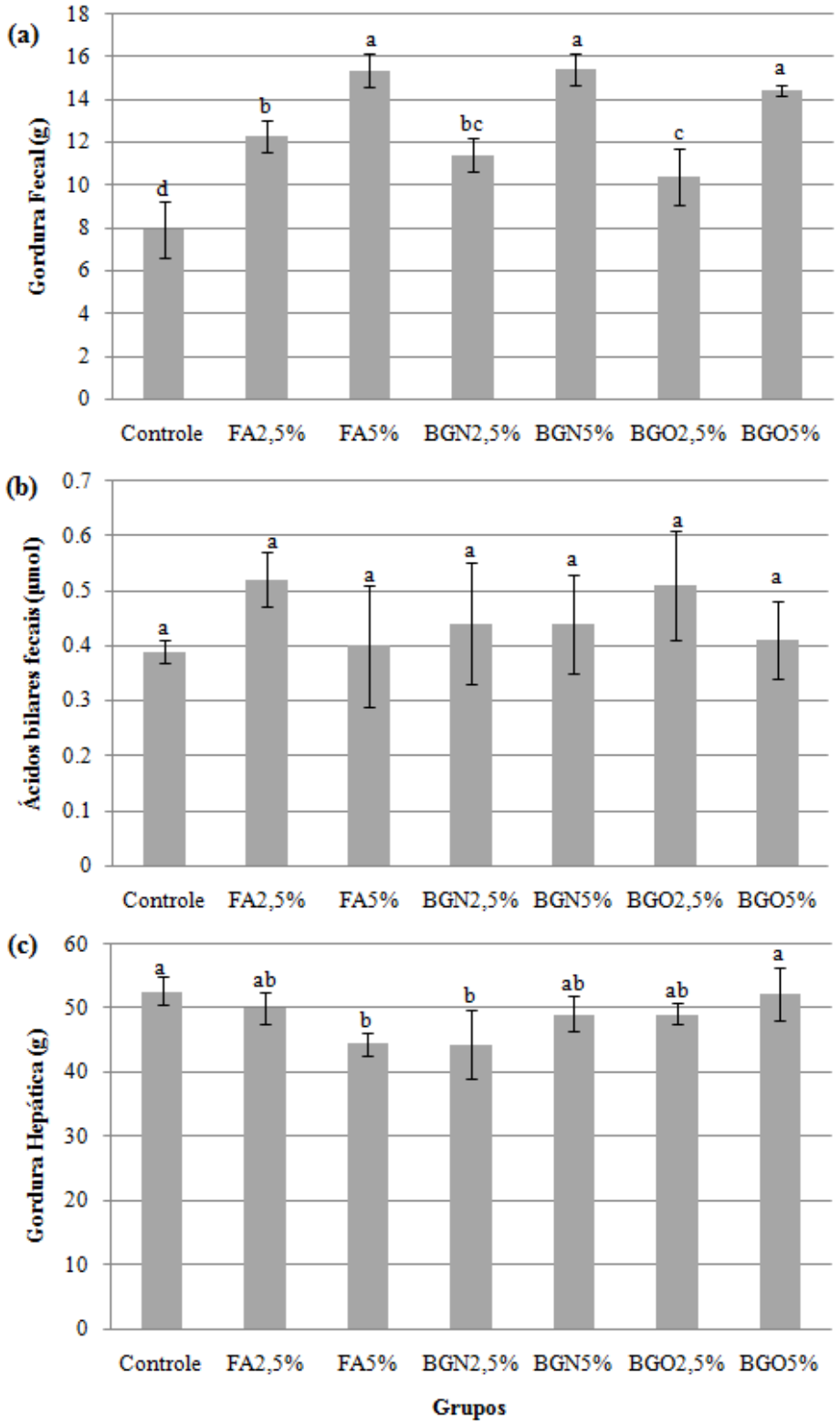

(a)
Gordura Fecal (g)
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
d
b
a
bc
a
c
a
Controle
FA2,5%
FA5%
BGN2,5%
BGN5%
BGO2,5%
BGO5%
(b)
Ácidos bilares fecais (µmol)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
a
a
a
a
a
a
a
Controle
FA2,5%
FA5%
BGN2,5%
BGN5%
BGO2,5%
BGO5%
(c)
Gordura Hepática (g)
60
50
40
30
20
10
0
a
ab
b
b
ab
ab
a
Controle
FA2,5%
FA5%
BGN2,5%
BGN5%
BGO2,5%
BGO5%
Grupos

FIGURA 4

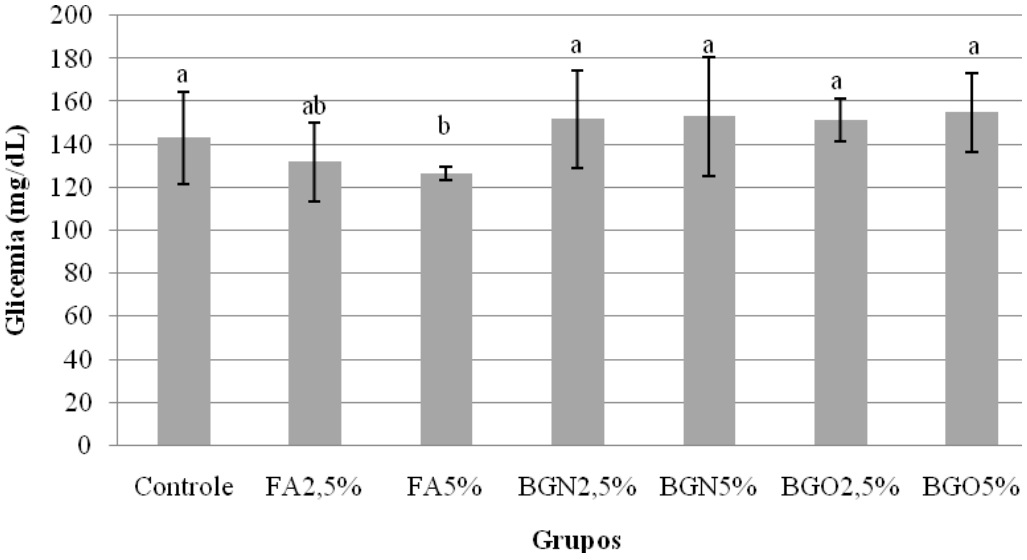
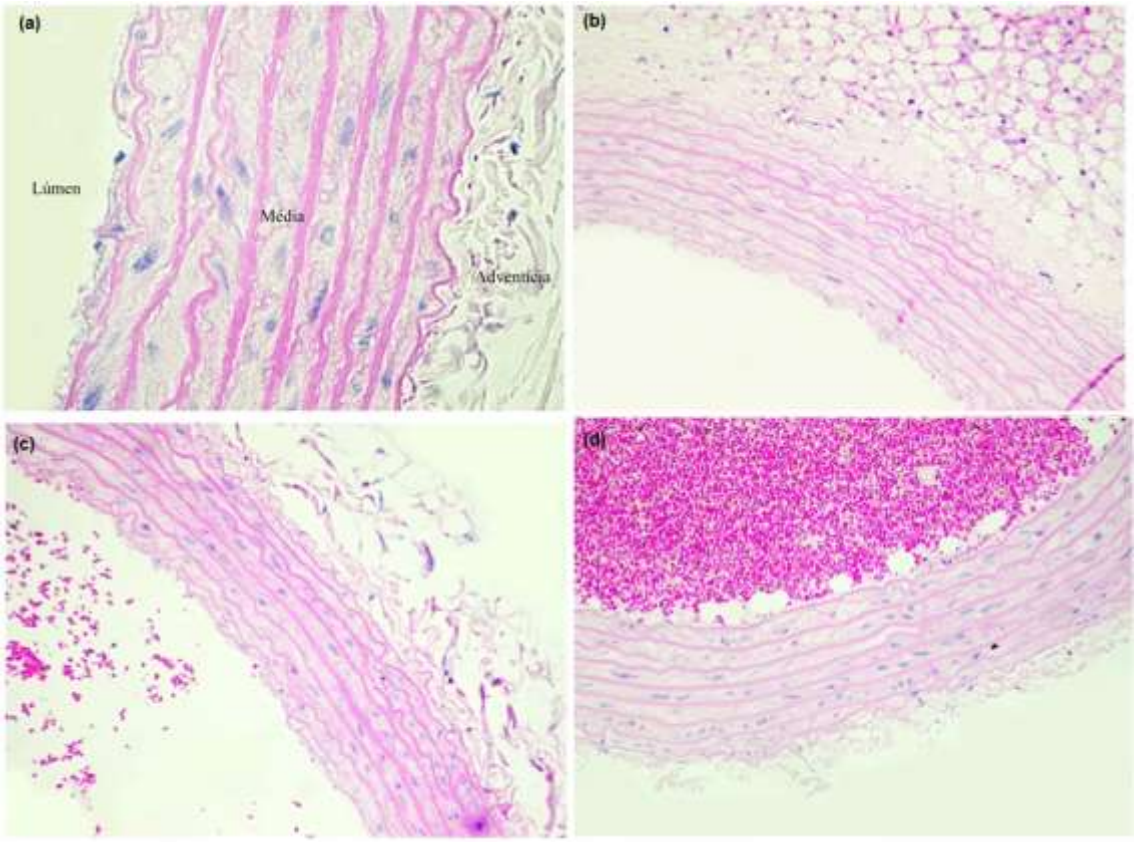

200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
Glicemia (mg/dL)
a
ab
b
a
a
a
a
Controle
FA2,5%
FA5%
BGN2,5%
BGN5%
BGO2,5%
BGO5%
Grupos

FIGURA 5



7 Artigo 2

Formatado segundo as normas da revista *British Journal of Nutrition*

EFEITOS DA EXTRAÇÃO E DA OXIDAÇÃO DA β-GLUCANA DO FARELO DE AVEIA SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR, GANHO DE PESO E NÍVEIS SÉRICOS DOS HORMÔNIOS GLP-1, PYY 3-36 E GRELINA EM RATOS

Fabrícia Rehbein Nörnberg[1]*; Fernando Pinto[2]; Josiane Bartz[3], Elizabete Helbig[1], Alvaro Renato Guerra Dias[1,2]

1.Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil
2. Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas
3. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Título resumido: β-glucana e parâmetros da saciedade em ratos

Palavras-chave: β-glucana, saciedade, oxidação

***Autor para correspondência:** Fabrícia Rehbein Nörnberg, Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil, Tel.: 55 53 3921-1259; E-mail: fabricia.rehbein@gmail.com

Resumo: O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do consumo de diferentes doses do farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana nativa e oxidada sobre a ingestão alimentar, ganho de peso e níveis de grelina, PYY 3-36 e GLP-1. Para isso, a β-glucana foi extraída do farelo de aveia para se obter um concentrado e parte deste foi oxidado. As dietas foram projetadas para serem aterogênicas (1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico) e ofertadas a 42 ratos adultos divididos em 7 grupos. O grupo controle não teve alteração na fonte de fibra, os demais grupos receberam modificação, com substituição parcial ou total da fibra da dieta com β-glucana do farelo de aveia (FA2,5 e FA5%), ou através do concentrado nos grupos β-glucana nativa (BGN2,5 e BGN5%) e β-glucana oxidada (BGO2,5 e BGO5%) durante 30 dias. Foi avaliado o consumo alimentar, ganho de peso e após a eutanásia feito a dosagem sérica de GLP-1, PYY3-36 e grelina. O grupo que recebeu 5% de β-glucana através da oferta de farelo de aveia apresentou redução do consumo alimentar, ganho de peso e aumento nos níveis séricos de GLP-1, que também foi identificado no grupo que recebeu 2,5% de β-glucana nativa através de concentrado extraído do farelo de aveia. Os níveis de grelina foram menores no grupo que consumiu 2,5% de β-glucana oxidada através de concentrado. Embora possam existir diferenças na eficácia de β-glucana, seja quando extraída ou de farelo de aveia, ambos mostram resultado favorável em parâmetros de saciedade.

Introdução

O aumento das taxas de obesidade na maioria dos países ocidentais é preocupante devido suas consequências para a saúde, pois contribui para o aparecimento de diversas doenças crônicas como Diabetes Mellitus tipo 2, câncer e doenças cardiovasculares[1]. Embora fatores ambientais sejam importantes, a ingestão de energia é principalmente regulada pelo sistema nervoso central, que detecta sinais de saciedade ou de fome de órgãos periféricos. As estratégias que reduzem a ingestão de energia por meio do controle do apetite, incluindo parâmetros de saciedade, podem ajudar as pessoas a controlar a ingestão de alimentos e gerenciar o excesso de peso e obesidade[2].

Nesse sentido, a composição do alimento pode afetar a sua capacidade para suprimir o apetite e aumentar a saciedade após as refeições. Há evidências do efeito da fibra alimentar sobre o apetite e controle do peso. A aveia contém quantidades significativas de β-glucana, um polissacarídeo não ramificado que faz parte da porção solúvel das fibras presente principalmente no farelo de aveia, com propriedades funcionais associadas incluindo a redução de lipídios, os efeitos sobre a insulina e glicemia e controle e melhoria de saciedade após as refeições[2,3].

Além de promover o aumento da viscosidade no conteúdo gastro intestinal, a β-glucana atuaria em um complexo sistema êntero-endócrino envolvido no mecanismo de controle da fome/saciedade, em que o controle do apetite pode ser dado pela inibição do hormônio da fome, a grelina gástrica e duodenal e o estímulo de hormônios da saciedade, colecistoquinina (CCK), glucagon-like peptídeo 1 (GLP-1), juntamente com o peptídeo Y-Y3-36 (PYY3-36) [3,1].

A indústria de alimentos apresenta interesse em desenvolver novos produtos com características funcionais, sendo a adição de concentrados de β-glucana aos alimentos uma boa opção para obter produtos com essas características [4]. Mas, segundo Moura et al.,[5] seria necessário uma modificação na β-glucana para melhor incorporação dessa fibra em produtos alimentícios, uma vez que a versão nativa forma um gel de alta viscosidade com propriedades específicas. Neste sentido, a estrutura da fibra pode ser modificada por agentes químicos, físicos e métodos enzimáticos levando a produtos com características específicas com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos, aumentando sua utilidade na indústria[6,7].

Os amidos oxidados são muito utilizados na indústria alimentícia porque possuem características como: baixa viscosidade, alta estabilidade a baixa temperatura, propriedade de retenção de água, e são utilizados como agentes ligantes e emulsificantes. A oxidação de amido com peróxido de hidrogênio também aumenta a claridade da pasta[8]. Existem poucos estudos sobre modificações na estrutura da β-glucana por processos oxidativos. Da mesma forma, até o momento não foram encontrados estudos que avaliem o efeito da oxidação da β-glucana sobre os hormônios relacionados com fome/saciedade.

Entendendo a importância da saciedade no controle da obesidade e tendo em vista o interesse da extração e da modificação da β-glucana sem comprometer sua funcionalidade, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito do consumo do farelo de aveia bem como dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado sobre a ingestão alimentar, ganho de peso e níveis de grelina, Peptídeo YY 3-36 e Glucagon Like Peptíde-1 em ratos.

Materiais e métodos

Protocolo experimental

Em um estudo realizado anteriormente por Moura et al.[10] no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, verificou-se que o tratamento oxidativo com peróxido de hidrogênio a 0,9% por 30 minutos em β-glucana extraída do farelo de aveia aumentou a capacidade de ligação com ácidos biliares. Devido a isso, o presente estudo determinou utilizar esse grau de oxidação, para testar *in vivo* os efeitos do processamento da β-glucana sobre os parâmetros metabólicos.

Preparação dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado a partir do farelo de aveia

Para a extração da β-glucana foi utilizado método descrito por Moura[10] em que o farelo de aveia cultivar IAC-7 (80 g) foi disperso em água destilada (1800 mL) a 90 ºC com agitação durante 10 minutos. Em seguida, a mistura foi fragmentada em liquidificador durante 5 minutos e retornou por mais 50 minutos a 90ºC sob agitação. Após 30 minutos em centrifugação a 7500 rpm, o sobrenadante foi coletado, sendo em seguida adicionado etanol 96% na proporção 1:1 e deixado em repouso por 24 horas a 4 ºC para precipitação da β-glucana. A β-glucana foi coletada e submetida à secagem em estufa com circulação de ar por 2 horas a 60 ºC. Por fim a amostra foi triturada em moinho de facas e desengordurada em Soxhlet com hexano.

Para preparação das amostras oxidadas foi utilizado método descrito por Moura et al.[10] utilizando peróxido de hidrogênio. A reação ocorreu em um reator de vidro de capacidade de 4000 mL, sob agitação, com controle de temperatura e pH. A β-glucana (70 g) foi dispersa em 2000 mL de água destilada, aquecida a 40 ºC e adicionada de H_2O_2 na concentração de 0,9%, durante 30 minutos de reação, com utilização de $FeSO_4$ como catalisador. O pH foi mantido em 5,0 com uso de soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio 0,1 M. Ao final do processo, foi adicionado etanol 96% na proporção 1:1 para precipitação da β-glucana, a qual foi seca em estufa com circulação forçada de ar a 42 ± 2 ºC.

Dietas

Para induzir à hipercolesterolemia, os animais foram alimentados com dieta AIN-93M[14], modificando-se o teor de lipídeos de 4% para 30%, adicionando-se colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%). Durante a preparação das dietas, garantiu-se

que todos os ingredientes estavam secos. Foi quantificado o teor de β-glucana com um método enzimático (Método 32-23)[15], usando o kit Megazyme BBG (Megazyme, Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, Ireland) no farelo de aveia e nos concentrados de β-glucana e também determinado o teor de lipídeos com a técnica descrita por Bligh e Dyer[16], proteína e carboidratos (AOAC[17]) do farelo de aveia e dos concentrados de β-glucana (exceto de lipídeos, pois todo o concentrado foi previamente desengordurado) para ajustar os valores dos ingredientes das dietas experimentais através da redução desses itens. A formulação das dietas pode ser observada na **Tabela 1.**

Animais

Foram utilizados 42 ratos adultos, com 60 dias de idade, machos da espécie *Rattus norvegicus* linhagem *Wistar* obtidos do biotério central da Universidade Federal de Pelotas. Os ratos foram divididos aleatoriamente em 7 grupos experimentais e todos receberam dieta conforme formulação AIN-93M, modificada com relação ao percentual de lipídeos (30%), sendo a diferença entre os grupos a fonte de fibra:

8. Grupo controle: sem alterar a fonte de fibra, 5% de hemicelulose.
9. Grupo FA2,5%: 2,5% de hemicelulose + 2,5% de β-glucana do farelo de aveia.
10. Grupo FA5%: 5,0% de β-glucana do farelo de aveia.
11. Grupo BGN2,5%: 2,5% hemicelulose + 2,5% de β-glucana nativa.
12. Grupos BGN5%: 5,0% de β-glucana nativa como fonte de fibra.
13. Grupo BGO2,5%: 2,5% hemicelulose + 2,5% de β-glucana oxidada.
14. Grupos BGO5%: 5,0% de β-glucana oxidada como fonte de fibra.

O experimento teve duração de 35 dias, sendo 5 dias de adaptação e 30 dias de tratamento. Os animais foram mantidos em gabinetes ventilados, em gaiolas metabólicas individuais de aço inoxidável, nas medidas 27x19x20 cm, com pés de 25 cm de altura, comedouro tipo túnel e bebedouro de polipropileno com capacidade para 300 mL, com ração e água fornecidas *ad libitum*, no Laboratório de Ensaios Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPel, com temperatura e umidade relativa de 22±2 ºC e 50 - 60%, respectivamente, com ciclo claro/escuro de 12 horas. No final do experimento, após jejum de 12 horas os animais foram submetidos à eutanásia por meio de decapitação.

Tabela 1. Formulação das dietas hipercolesterolêmicas fornecidas (g/kg dieta) aos ratos *Wistar* durante o ensaio biológico

Ingredientes	Controle	GFA2,5%	GFA5%	GBGN2,5% GBNO2,5%	GBGN5% GBGO5%
Amido de milho	204,70	83,00	0,00	191,00	178,00
Caseína	140,00	89,60	39,20	120,70	101,00
Dextrina	155,00	155,00	142,70	155,00	155,00
Sacarose	100,00	100,00	87,70	100,00	100,00
Óleo soja	40,00	26,14	12,28	40,00	40,00
Fibra (hemi-celulose)	50,00	25,00	0,00	25,00	0,00
Mix mineral	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Mix vitaminas	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
L- cistina	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Bitart. Colina*	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Tert – buty**	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Banha de porco	250,00	250,00	250,00	250,00	250,00
Colesterol	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Ácido cólico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Farelo de aveia	0,00	210,00	420,00	0,00	0,00
Concentrado B-glucana	0,00	0,00	0,00	59,00	118,00

FA2,5%:Grupo Farelo de aveia 2,5%; FA5%: Grupo Farelo de aveia 5,0%; BGN2,5%: Grupo β-glucana nativa 2,5%; BNO2,5%: Grupo β-glucana oxidada 2,5%; BGN5%: Grupo β-glucana nativa 5,0%; BGO5%:Grupo β-glucana oxidada 5,0%. *Bitartarato de colina **Tetra-butilhidroquinona.

Composição química das dietas experimentais

Em amostras das dietas experimentais foram determinadas a umidade, proteínas, cinzas e fibra bruta segundo método AOAC[17], lipídeos segundo Bligh e Dyer[16] e carboidratos totais: por diferença, usando a fórmula: 100 – (proteína bruta + lipídeos totais + fibra bruta + cinzas + umidade) AOAC[17].

Peso corporal total e consumo de ração

Todos os animais foram pesados no início, meio e ao final do experimento. O peso final de cada animal foi subtraído do peso inicial, sendo o resultado considerado a alteração de peso total do animal. A ingestão alimentar foi monitorada diariamente pela diferença em gramas entre a quantidade ofertada e a quantidade restante no dia seguinte, e os dados anotados em planilhas de controle.

Quantificação de PYY3-36, GLP1 e grelina.

No momento da eutanásia o sangue foi coletado e centrifugado a 3500rpm por 10 minutos para se obter o plasma e o soro sanguíneo. Foram determinados PYY3-36, e grelina do soro e GLP-1 no plasma sanguíneo por meio de kits de ensaio imunoenzimático (ELISA) da Sigma-Aldrich.

Análise estatística

Os resultados são expressos como médias e desvio padrão. Os dados tiveram distribuição normal e para a análise de variância foi utilizado ANOVA de uma via, seguido do teste estatístico de Ducan. Foi considerado como nível de significância estatística o limite de 5%.

Aspectos éticos

Todos os procedimentos foram realizados conforme a Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) nº 714 de junho de 2002, seguindo os

Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)[13]. O trabalho foi submetido à Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas com processo nº977.

Resultados

Teor de β-glucana do concentrado e do farelo de aveia

O concentrado obtido através de técnica de extração do farelo de aveia apresentou o maior teor de β-glucana, com 42,3% ($p<0,05$) representando, um acréscimo de aproximadamente 255% na quantidade dessa fibra solúvel comparado ao valor encontrado no farelo de aveia, que obteve concentração de 11,9% de β-glucana (Figura 1). O rendimento de extração do concentrado de β-glucana a partir do farelo de aveia foi de aproximadamente 13,8%.

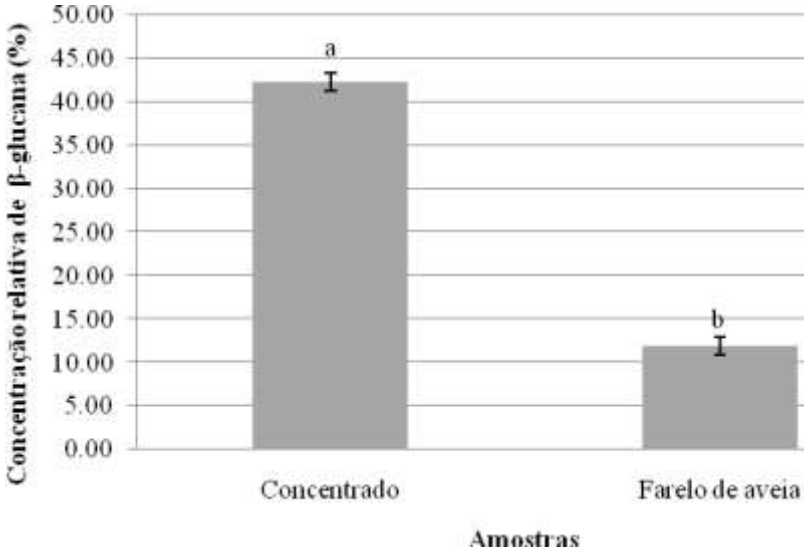


Figura 1. Concentração relativa de β-glucana presente no concentrado e no farelo de aveia. Os valores representam as médias e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%.

Teor de nutrientes das dietas experimentais

Os valores obtidos na análise de composição centesimal das dietas podem ser observados na Tabela 2. O teor de nutrientes obtidos foi bastante semelhante ao preconizado na formulação de partida (Tabela 2). O valor médio de fibras totais da dieta foi de 4,54%, sendo a recomendação da AIN-M de 5%. A variação na quantidade de proteínas e lipídeos foi de 11,21-13,53% e 28,41-30,29% respectivamente. Foi observada uma variação um pouco maior no teor de carboidratos totais (43,21-46,72 %), sendo o menor valor do BGN2,5% e o maior no controle, no entanto essa diferença é de apenas 3,51%.

Tabela 2. Composição química das dietas hipercolesterolêmicas ofertadas aos ratos *Wistar* durante o ensaio biológico

Composição %	Controle	FA2,5%	FA5%	BGN2,5%	BGN5%	BGO2,5%	BGO5%
Umidade	6,07±0,09	6,33±0,06	6,55±0,04	6,59±0,08	6,15±0,13	6,02±0,06	6,47±0,08
Cinzas	2,23±0,14	2,42±0,87	2,55±0,76	2,14±0,10	2,48±0,20	2,24±0,42	2,36±0,67
Proteína	11,21±0,85	12,34±0,45	13,13±0,48	13,53±0,42	11,75±1,11	11,99±0,71	12,07±0,36
Lipídeos	29,07±0,64	28,41±0.61	28,32±1,5	30,16±1,1	29,38±0,54	30,29±1,2	29,64±0,64
Fibras	4,70±0,13	4,48±0,55	4,55±0,03	4,37±0,47	4,55±0,08	4,57±0,35	4,55±0,09
Carboidratos	46,72±0,97	46,02±0,65	44,90±0,38	43,21±0,58	45,69±0,85	44,89±0,63	44,91±0,92

FA2,5%:Grupo Farelo de aveia 2,5%; FA5%: Grupo Farelo de aveia 5,0%; BGN2,5%: Grupo β-glucana nativa 2,5%; BNO2,5%: Grupo β-glucana oxidada 2,5%; BGN5%: Grupo β-glucana nativa 5,0%; BGO5%:Grupo β-glucana oxidada 5,0%.

Consumo alimentar e Ganho de peso

O consumo de ração foi significativamente menor nos grupos FA5% e BGN2,5% (17,03 e 17,06g) ($p<0,05$), quando comparado com o grupo FA2,5% (19,34g), no entanto, não houve diferença significativa dos grupos com modificação da fonte de fibra ao comparar com o grupo controle (Figura 2).

Ainda na Figura 2, observa-se que o grupo FA5% apresentou significativamente menor ganho de peso (71,33 g) ($p<0,05$) durante o período do experimento comparado ao grupo controle (98,50 g), representando uma redução de 28% no peso ganho. Os demais grupos não diferiram do grupo controle

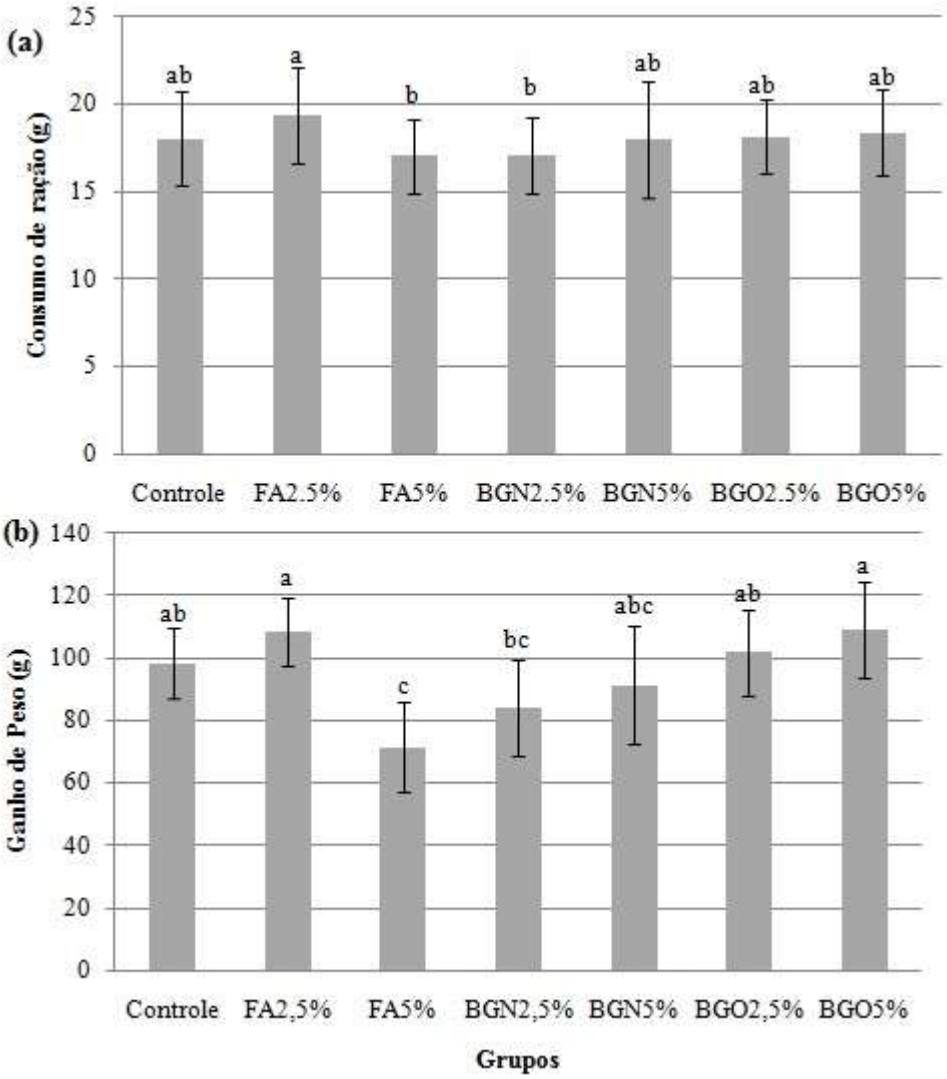


Figura 2. Consumo de ração (a) e ganho de peso (b) durante o período de experimento dos ratos *Wistar* com dieta hipercolesterolêmica. Estão apresentados as médias e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%.

Níveis séricos de GLP-1, PYY3-36 e Grelina

Pode-se observar na Figura 3 que os grupos FA5% e BGN2,5% apresentaram significativamente maiores concentrações do hormônio da saciedaede GLP-1 (a) (464,34±36,09pg/mL e 440,34pg/mL±36,49) quando comparados aos grupos controle e FA2,5% (178,81±65,19pg/mL e 172,56± 13,34pg/mL). Esse acréscimo nos níveis séricos representa um aumento de 169 e 155%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle. Ao analisar apenas os ratos que receberam farelo de aveia, houve um aumento de 160% no nível sérico de GLP-1 para o grupo que foi ofertada a maior concentração (FA5%).

Em relação ao peptído PYY3-36 (b), o grupo BGN2,5% apresentou concentração sérica de 375,14±146,56pg/mL e o grupo BGO5% 679,94±54,11 pg/mL, no entanto verifica-se que o consumo de diferentes concentrações de farelo de aveia e de concentrados de β-glucana nativo e oxidado durante 30 dias não interferiu nos níveis séricos desse hormônio da saciedade, pois não houve diferença significativa entre os grupos. Já ao analisar o hormônio grelina (c), observa-se que o grupo que recebeu BGO2,5% foi o único que apresentou significativamente menor valor (332,31±173,84 pg/mL) ($p<0,05$) quando comparado aos demais grupos, representando uma redução máxima de 451%.

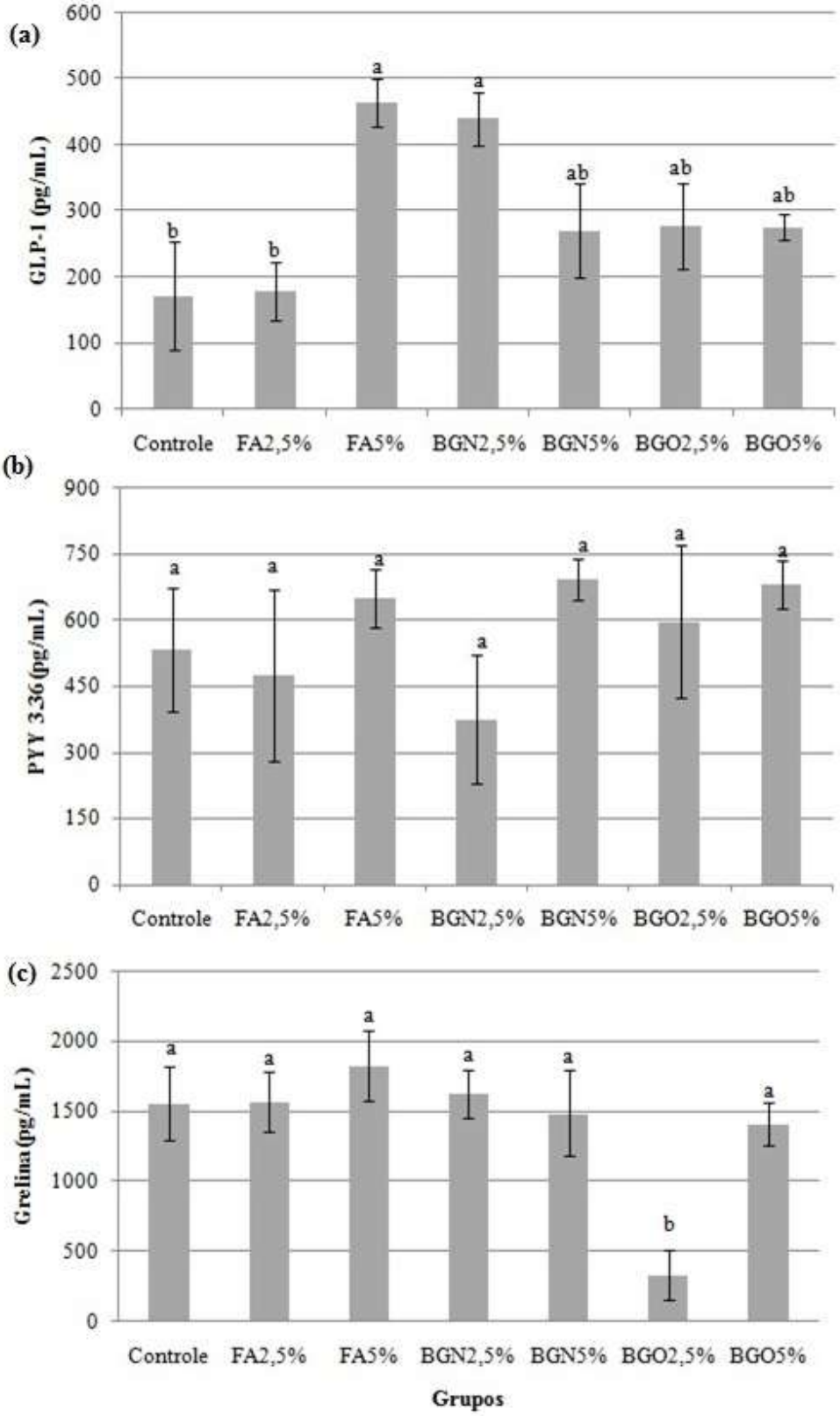


Figura 3. Níveis séricos do hormônio GLP-1 (a), PYY 3-36 (b) e grelina (c) dos ratos *Wistar* com dieta hipercolesterolêmica. Os valores representam as médias e desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa de acordo com teste Duncan com nível de significância de 5%.

Discussão

A concentração de β-glucana no produto obtido da extração do farelo de aveia nesse estudo foi superior ao encontrado por Kerckhoffs, Hornstra e Mensink[14] que obtiveram 21,2 g ao extrair a fibra solúvel do farelo de aveia e ofertar através de pão, biscoitos e suco de laranja para avaliar o efeito sobre as lipoproteinas do soro de indivíduos com hipercolesterolemia.

Ahmad et al.[15] salientam ser necessário a realização de mais estudos de extração de β-glucana, sem provocar grandes modificações na sua estrutura, preservando as suas propriedades funcionais, uma vez que pesquisas indicam que a eficácia da fibra como ingrediente funcional não está relacionada apenas com a dose, mas com o processo de extração e fatores como peso molecular, arranjo estrutural e viscosidade [16, 17]

O presente estudo demonstrou que a substituição da fibra original da dieta por 5% de β-glucana por meio da oferta de farelo de aveia (FA5%) durante 30 dias reduziu significativamente o consumo de ração quando comparado ao grupo que recebeu a concentração de 2,5%, indicando que a dose está relacionada ao efeito fisiológico. Esse menor consumo de ração pelo grupo FA 5% provavelmente foi pelo aumento significativo dos níveis séricos do hormônio da saciedade Glucagon like peptíde 1 (GLP-1), acarretando em menor ganho de peso nesses animais quando comparado ao grupo controle.

O GLP-1 é um polipeptídio secretado pelas células L do cólon, em resposta à ingestão de nutrientes e apresenta efeito sacietógeno direto no hipotálamo. Segundo a revisão elaborada por Khoury et al.,[18] a fermentação colônica para produção de ácidos graxos de cadeia curta parece ser essencial na explicação de liberação de GLP- 1 em resposta a fibras solúveis. A suplementação com carboidratos fermentáveis tem sido consistentemente associada com o aumento da expressão do mRNA pró-glucagon colônica [19, 20]. No estudo de Cani, Dewever e Delzenne[21] ratos alimentados com altas doses de frutanos do tipo inulina fermentáveis (100 g/dia), ao longo de 3 semanas, tiveram expressões de mRNA mais elevados no cólon proximal e nas concentrações plasmáticas de GLP-1, em comparação com aqueles alimentados com uma dieta padrão.

O grupo que recebeu 2,5% de β-glucana nativa através do concentrado também apresentou níveis menores de GLP-1, no entanto não o suficiente para

apresentar redução no consumo alimentar e do peso ganho comparado ao controle. O grupo que recebeu a maior dose, 5% de β-glucana nativa, não apresentou o mesmo efeito. Da mesma forma, no estudo de Lyly et al.,[22], uma bebida (300 g) contendo 2,5 g de β-glucana produziu significativamente mais elevadas classificações de saciedade em um questionário padrão do que da bebida sem fibras. No entanto, quando a dose foi aumentada para 5g de β - glucana, nenhum impacto adicional na saciedade foi relatado. Dessa forma, a eficácia de β - glucana na saciedade depende de vários fatores, dentre eles a dose.

Os grupos que receberam β-glucana oxidada na concentração de 2,5% e 5% não apresentaram efeito sobre os níveis séricos de GLP-1. Segundo Burkus e Temelli[23], os efeitos físicos da β - glucana parecem ser de fundamental importância em suas propriedades de saciar . Este efeito é largamente determinado pelo tamanho molecular e solubilidade da β-glucana . Em amido, tratamentos oxidativos de baixa intensidade podem promover aumento do poder de intumescimento, pois não causam uma despolimerização da molécula muito acentuada[24]. No entanto, Shandu et al.[25] referem que os tratamentos mais intensos podem provocar desintegração estrutural da molécula e diminuir o poder de intumescimento, que está diretamente relacionado com a solubilidade da molécula.

Yoo et al.[26] realizaram oxidação de quitosana com hipoclorito de sódio, com o intuito de aumentar a sua solubilidade em água e melhorar as suas propriedades fisiológicas em relação à diminuição do colesterol. Com o tratamento oxidativo a 25% houve aumento da solubilidade da molécula, entretanto, este aumento não foi proporcional ao aumento do nível de oxidação. A solubilidade da quitosana diminuiu com 50% e 100% de oxidação.

No estudo de Moura et al.[5], foi verificado um aumento do poder de intumescimento da β-glucana nos tratamentos de menor intensidade, já quando a oxidação com peróxido de hidrogênio foi de 0,9% por 30 min (mesmo grau e técnica utilizado no presente estudo) houve uma diminuição, indicando que a oxidação alterou a solubilidade da β-glucana. A solubilidade da fibra está relacionada com o poder de fermentação das bactérias anaeróbicas do cólon, responsáveis por produzir ácidos graxos de cadeia curta que regulam a liberação de hormônios intestinais , importantes na sinalização da saciedade.

Já em relação à grelina, hormônio com potente efeito orexígeno produzido principalmente no estômago e que atua no hipótalamo onde participa de processos

neuroendócrinos que controlam o apetite[27], apenas o grupo que recebeu 2,5% de β-glucana oxidada por meio do concentrado foi capaz de reduzir os níveis séricos desse hormônio, no entanto esse grupo não apresentou diferença significativa no consumo de ração e no ganho de peso comparado aos demais grupos.

Vitaglione et al.[28] ofereceu pão contendo 3% de β-glucana da cevada para indivíduos saudáveis a fim de testar o efeito sobre hormônios relacionados à saciedade e apetite a curto prazo, encontrou uma redução de 19 % do consumo de energia no almoço, aumento de 16% nos níveis de PYY e redução de 23% nos níveis de grelina. Já no estudo desenvolvido por Beck et al.,[1] ao ofertar diferentes doses (2,16; 2,83 e 5,45 g) de β-glucana a indivíduos com sobrepeso, não identificaram diferenças significativas no nível sérico de grelina comparado ao grupo controle.

O presente estudo não encontrou diferença significativa nos níveis séricos de PYY3-36. O PYY3-36 é secretado principalmente pelas células L do cólon e age na área do núcleo arqueado do hipotálamo relacionado com a saciedade, se ligando ao receptor Y2 que inibe a atividade do neuropeptídeo YY, um importante estimulador do apetite[1, 28]. Huang et al.,[2] testaram os efeitos de baixa (0,7%), média (3,5%) e alta (7,0%) dose de β-glucana do farelo de aveia na ativação do PYY3-36 em camundongos com obesidade induzida pela dieta. Após 6 semanas, o PYY3-36 plasmático foi significativamente mais elevado nos grupos que receberam β-glucana, apresentando correlação positiva entre o nível de PYY3-36, consumo médio de energia e o ganho de peso e a quantidade de β-glucana na dieta. Segundo os autores, o fato da β-glucana levar a uma redução da taxa de digestão e absorção pelo aumento da viscosidade gastrointestinal, faz com que os macronutrientes não absorvidos estimulem a liberação de PYY3-36 no cólon, sendo eficaz no aumento da saciedade.

Segundo a revisão de Khoury et al.,[18] o efeito de β - glucana na saciedade e na regulação do peso corporal ainda não está claro, visto que a eficácia de β - glucana na saciedade depende de vários fatores, como dose e efeitos físicos no trato-gastrointestinal; este último determinado pelo tamanho molecular e solubilidade da β-glucana e que pode ser afetado pelo processamento, purificação e procedimentos de extração. Tal variabilidade no peso molecular e solubilidade da β-glucana pode explicar os seus variados impactos sobre a saciedade.

Conclusão

Embora existem diferenças na eficácia de β-glucana, seja quando extraída ou do farelo de aveia, ambos mostram resultado favorável em parâmetros de saciedade em ratos. O consumo de 5% de β-glucana através do farelo de aveia foi eficaz na redução do peso corporal e no aumento dos níveis séricos do hormônio da saciedade GLP-1, sendo a dose um fator determinante. Já os concentrados se comportaram de maneira diferente, apenas a menor dose, de 2.5%, influenciou os hormônios séricos, com aumento do GLP-1 pelo consumo de β-glucana nativa e redução dos níveis séricos de grelina pela β-glucana oxidada.

Agradecimentos

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), SCT-RS (Secretaria da Ciência e Tecnologia do Estado do Rio Grande do Sul), Pólo de Inovação Tecnológica em Alimentos da Região Sul, FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) e a Cerealle Indústria e Comércio de Cereais LTDA.

Apoio Financeiro

FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). Não teve nenhum papel na concepção, análise ou escrita deste artigo .

Conflitos de interesse

Efeitos da extração e da oxidação da β-glucana do farelo de aveia sobre o consumo alimentar, ganho de peso e nos níveis séricos dos hormônios GLP-1, PYY 3-36 e grelina em ratos. None.

Autoria

Todos os autores participaram no planejamento dos experimentos e contribuíram na avaliação dos resultados e redação do manuscrito.

Referências Bibliográficas

1. Beck EJ, Tosh SM, Batterham MJ, Tapsell LC, Huang XF. Oat *b*-glucan increases postprandial cholecystokinin levels, decreases insulin response and extends subjective satiety in overweight subjects. Mol Nut Food Res 2009, 53, 343 – 1352.

2. Huang X F, Yu Y, Beck EJ, South T, Li Y, Batterham M J, Tapsell LC, Chen J. Diet high in oat b-glucan activates the gut-hypothalamic (PYY3–36-NPY) axis and increases satiety in diet-induced obesity in mice. Mol Nut Food Res 2011, 55, 1118–1121.

3. Laferrere B, Teixeira J, Mcginty J. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. Clin End Met 2008, 93, 2479–85.

4. Bae IY, Lee S, Kim SM, Lee H G. Effect of partially hydrolyzed oat b-glucan on the weight gain and lipid profile of mice. Food Hydr 2009, 23,2016–2021.

5. Moura FA. Pereira JM, Silva DO, Zavareze ER, Moreira, AS, Helbig E, Dias ARG. Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat b-glucan. Food Chem 2011,128,982–987.

6. Tosh SM, Wood PJ, Wang Q, Weisz J. Structural characteristics and rheological properties of partially hydrolyzed oat b-glucan: the effects of molecular weight and hydrolysis method. Carbohyd polym, 2004; 55, 425–436.

7. Johansson L, Virkki L, Anttila H, Esselström H, Tuomainen P, Sontag-Strohm T. Hydrolysis of β-glucan. Food Chem 2006,97,71–79.

8. Singh J, Kaur L, Mccarthy OJ. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – A review. Food Hydr 2007, 21,1-22.

9. Reeves PG. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. J Nutrition 1993, 127, 838S–841S.

10. American Association of Cereal Chemists. 2000. Approved Methods of the AACC,10th ed. Methods 32-23; 46-13; 08-01. The Association: St. Paul, MN.

11. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Bio and Phys 2009, 911-917.

12. AOAC. Official Methods of Analysis International. 16 ed., Washington DC: Cunniff, 1995.

13. Cobea. Princípios éticos na experimentação animal**.** Disponível em: http://www.cobea.org.br/. Acesso em: 12 set. 2012

14. Kerckhoffs DAJM, Hornstra G, Mensink RP. Cholesterol-lowering effect of β-glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when β-glucan is incorporated into bread and cookies1–3. Am J Clin Nutr 2003, 78, 221–7.

15. Ahmad A, Anjum FM, Zahoor T, Nawaz H, Ahmed Z. Extraction and characterization of β d-glucan from oat for industrial utilization. J Biol Macromol 2010, 46, 304–309.

16. Brennan CS, Cleary LJ. The potential use of cereal (1/3,1/4) β-D-glucans as functional food ingredients. J Cereal Sci 2005 42,1–13.

17. Wood PJ. Cereal _-glucans in diet and health. J Cereal Sci 2007 46, 230-238.

18. Khoury Del, Cuda C, Luhovyy BL, Anderson GH. Beta Glucan: Health Benefits in Obesity and Metabolic Syndrome. J Nutr Metab. 2012.

19. Massimino SP, McBurney MI, Field C J et al. Fermentable dietary fiber increases GLP-1 secretion and improves glucose homeostasis despite increased intestinal glucose transport capacity in healthy dogs. J Nut 1998, 1281786–1793.

20. Delzenne NM, Cani PD, Daubioul C, M.Neyrinck A. Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. Brit J Nut 2005, 93, S157–S161.

21. Cani PD, Dewever C, Delzenne NM. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. Brit J Nut 2004, 92, 521–526, 2004.

22. Lyly M, Liukkonen KH, Salmenkallio-Marttila M, Karhunen L, Poutanen K., L¨ahteenm¨aki, L. Fibre in beverages can enhance perceived satiety. European J Nutr 2009, 48, 251–258.

23. Burkus Z, Temelli F, Determination of the molecular weight of barley *β*-glucan using intrinsic viscosity measurements. Carbohyd polym 2003, 54, 51–57, 2003.

24. Kuakpetoon D, Wang Y. Locations of hypochlorite oxidation in corn starches varying in amylose content. Carbohyd res 2008, 343, 90–100.

25. Sandhu KS, KAUR M, SINGH N, LIM ST. A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. LWT, 41, 1000–1010, 2008.

26. Yoo SH, Lee JS, Park SY, Kim YS, Chang PS, Lee HG. Effects of selective oxidation of chitosan on physical and biological properties. J Biol Macrom 2005, 35, 27–31.

27. Soares JB, Leite-Moreira AF. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. Peptides 2008, 29, 1255-70.

28. Vitaglione P, Lumaga RB, Stanzione A, Scalfi L, Fogliano V. β-glucan-enriched bread reduces energy intake and modifies plasma ghrelin and peptide YY concentrations in the short term. Appetite 2009, 53, 338–344.

15. Conclusão geral

O processamento da β-glucana através da extração e oxidação potencializa a capacidade de ligação com ácidos biliares *in vitro*, no entanto seu efeito funcional *in vivo* é prejudicado. O consumo de doses mais elevadas de β-glucana através do farelo de aveia apresenta melhores efeitos metabólicos quando comparado a oferta de doses semelhantes dos concentrados de β-glucana nativo e oxidado.

O consumo de farelo de aveia apresenta capacidade de reduzir os níveis de glicemia, o ganho de peso, os níveis de gordura corporal além de promover aumento do hormônio da saciedade GLP-1 em ratos adultos após 30 dias de experimento, fatores importante para redução do risco do desenvolvimento de doenças crônicas.

O processamento do farelo de aveia para se obter a β-glucana em maior concentração e assim facilitar o consumo da dose recomendada da fibra parece alterar a funcionalidade da fibra e assim prejudicar os seus efeitos no organismo de ratos. É necessário mais estudos de extração e modificação da β-glucana para que apresente efeito similar ou potencializado do apresentado pelo consumo da β-glucana através do consumo de farelo de aveia.

Referências bibliográficas

ALMENDRA, R; SANTANA, P; FREIRE, E; VASCONCELOS, João. **Geografia da doença cardiovascular padrões e sazonalidade do enfarte agudo do miocárdio**. 2012. 6f. Dissertação (Mestrado em Geografia Humana, Ordenamento do Território e Desenvolvimento). Faculdade de Letras da Universidade de Coimbra, Coimbra.

ANDERSSON, M; ELLEGÅRD, M; ANDERSSON, H. Oat bran stimulates bile acid synthesis within 8 h as measured by 7 -hydroxy-4-cholesten-3-one1–3. **American Journal Clinical Nutrition** *(*Göteborg) v. 76, p. 5, p.1111-1116. 2002.

ANIVSA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em 12 ago, 2012.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 8 de julho de 2012.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes. v. 33 p. S11-S61, 2010.

BAE, I. Y.; LEE, S.; KIM, S. M.; LEE, H. G. Effect of partially hydrolyzed oat b-glucan 2009. on the weight gain and lipid profile of mice. **Food Hydrocolloids**,v.23, p.2016–2021,

BATTERHAM, R.L; COHEN, M.A; ELLIS, S.M; LE ROUX, C.W; et al. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36**. New England Journal Medicinal.** v.8, p**.** 349-941. 2003.

BHATTY, R. S. Laboratory and pilot plant extraction and purifi cation of β-glucans from Hull-less barley and oat brans. **Journal Cereal Science**., v. 22, n. 1, p. 163-170, 1995.

BECK, E. J., TAPSELL, L. C., BATTERHAM, M. J., TOSH, S. M., HUANG, X. F., Increases in peptide Y-Y levels following oat b-glucan ingestion are dose-dependent in overweight adults**. Nutrition Research.** v. 29, p. 705–709, 2009a.

BECK, E.J; TOSH, S.M; BATTERHAM, M.J; TAPSELL, L.C; HUANG, X.F. Oat *b*-glucan increases postprandial cholecystokinin levels, decreases insulin response and extends subjective satiety in overweight subjects. **Molecular Nutrition & Food Research.** v. 53, p1343 – 1352. 2009b.

BEHALL, K. M.; SCHOLFIELD, D. J.; HALLFRISCH, J. G.; LILJEBERG- ELMSTAHL, H. G. M. Consumption of both resistant starch and β-glucan improves postprandial plasma glucose and insulin in women. **Diabetes Care**. v. 29, p. 976–81, 2006.

BEMILLER, J., &WHISTLER, R. (2009). Starch: Chemistry and technology. New York: Academic Press . Elsiever.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças crônicas não transmissíveis: estratégias de controle e desafios e para os sistemas de saúde. Brasília-DF 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. PORTAL BRASIL. Doenças cardiovasculares. Setembro de 2012. Disponível em: http://www.brasil.gov.br/saude/2011/09/doencas-cardiovasculares.

BRENNANA, CS; CLEARY, LJ. The potential use of cereal (1/3,1/4)-b-D-glucans as functional food ingredients. **Journal of Cereal Science**. v.42, p.1-13, 2005.

BIÖRKLUND, M; HOLM, J; ONNING, G. Serum Lipids and Postprandial Glucose and Insulin Levels in Hyperlipidemic Subjects after Consumption of an Oat _ -Glucan-Containing Ready Meal. **Annals of Nutrition and Metabolism**. v.52, p. 83–90. 2008

BIÖRKLUND, M; REES, AV; MENSINK, R.P; ÖNNING, G. Changes in serum lipids and postprandial glucose and insulin concentrations after consumption of beverages with b-glucans from oats or barley: a randomised dose-controlled trial**. American Journal Clinical of Nutrition**. v32, p.92:723. 2010.

BROWN, G.D. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. **Nature Reviews Immunology**, v. 6, p.33–43. 2006.

CARBONELL, L. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. ; PÉREZ-ALVAREZ, J. A.; V. KURI. Functional and sensory effects of fibre-rich ingredients on breakfast fresh sausages manufacture. **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 02, p. 89-97, 2005.

CASIRAGHI, MC; GARSETTI, M; TESTOLIN, G; BRIGHENTI, F. Post-Prandial Responses to Cereal Products Enriched with Barley β-Glucan. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, n. 4, p. 313–320. 2006.

CASTRO, L.C.V; FRANCESCHINI, S.C.C; PRIORE, S.E; PELÚZIO, M.C.G. Nutrição e doenças cardiovasculares: os marcadores de risco em adultos. **Revista Nutriçãi Campinas,** v.17, n.3, p. 369-377, 2004.

CERVATO, A.M; MAZZILLI, R.N; MARTINS, I.S; MARUCCI, M.F.N. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. São Paulo, SP – Brasil **Revista Saúde Pública**, v.31, n.3, p. 227-35, 1997.

CHEN, J; SEVIOUR, R. Medicinal importance of fungal beta-(1– 3), (1– 6)-glucans**. Mycological Research**, v.52. p.111:635, 2007.

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA. Indicações técnicas para a cultura da aveia. Passo Fundo: Ediupf, 2003. 87p.

CONAB. Aveia. Safra 2007. www.conab.gov.br/conabweb/index. Safra 2007. www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=131

CUMMINGS, J.H; MACFARLANE, G.T; ENGLYST, H.N. Prebiotic disgetion and fermentation. **American Journal Clinical Nutrition.** v.73, n.2; p. 415 – 420. 2001.

DÂMASO, A. **Nutrição e Exercício na Prevenção de Doenças.** Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

DAVIDSON, MH; DUGAN, LD; BURNS, JH; BOVA, J; STORY, K; DRENNAN, KB. The Hypocholesterolemic Effects of -Glucanin Oatmeal and Oat Bran. **Journal of the American Medical Association,** v. 265, n14, 1991.

DE SÁ, R. M.; DE FRANCISCO, A.; SOARES, F. C. T. Concentração de B-glucanas nas diferentes etapas do processamento da aveia (Avena sativa L.). **Ciência e tecnologia dos alimentos**, Campinas, SP, v. 18, n. 4, p. 425-427, 1998.

DELANEY, B; NICOLOSI, RJ; WILSON, TA; CARLSON, T; FRAZER, S; ZHENG,GH; HESS, R; OSTERGREN, K; HAWORTH, J; KNUTSON, N. Beta-Glucan Fractions from Barley and Oats Are Similarly Antiatherogenic in Hypercholesterolemic Syrian Golden Hamsters. **The Journal of nutrition**. v.3, p.0022-3166, 2002.

DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; HELBIG, E. **Oxidação dos amidos de mandioca e de milho comum fermentados: desenvolvimento da propriedade de expansão.** Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v. 27, n. 4, p.794-799, 2007.

DONATTO, FF. Efeitos da suplementação de fibras solúveis sobre as células do sistema imune após exercício exaustivo em ratos treinados. **Revista Brasileira Medicina Esporte** v.14 n.6, 2008

DRZIKOVA, B; DONGOWSKI, G; GEBHARDT, E. Dietary fibrerich oat based products affect serum lipids, microbiota, formation of short chain fatty acids and steroids in rats. **British Journal of Nutrition**. v. 94. n. 06. p 1012 1025, 2005.

DROZDOWSKI, L. A., REIMER, R. A., TEMELLI, F., BELL, R. C., VASANTHAN, T., THOMSON, A. B**.** β-Glucan extracts inhibit the in vitro intestinal uptake of long chain fatty acids and cholesterol and down-regulate genes involved in lipogenesis and lipid transport in rats. United States, **Journal of Nutritional Biochemistry** v. 21, p 695–701, 2010.

FDA- Food labelling: health claims; oats and coronary heart disease. **Federal Register**, v. 62, p. 3584–3601, 1997.

FDA - Food and Drug Administration. Office of Nutritional Products, Labeling and Dietary Supplements (hfs-800). 5100 Paint Branch Parkway, College Park, MD

20740. Petition for health claim: Barley betafiber and coronary heart disease. January 27, 2006. Disponível em: http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dockets/06p0393/06p-0393-cp00001-002-v.1.pdf.

FERNANDES, L. R. et al. Efeito da goma guar parcialmente hidrolisada no metabolismo de lipídeos e na aterogênese de camundongos. **Revista de nutrição, Campinas,** SP, v. 19, n. 5, p. 563-71, 2006.

FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de beta-glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n.2, p.116-120, 2003.

GABBAY, R.A; SUTHERLAND, C; GNUDI, L, et al.. Insulin regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression does not require activation of the Ras/mitogen-activated protein kinase signaling pathway. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 7, p. 271:1890, 1996.

GALLAHER, D.D; SCHNEEMAN, B.O. Fibra alimentaría. Washington: International Life **Sciences Institute Press**, p.95-105,1997.

GODOY, M, F. et. al. Mortalidade por doenças cardiovasculares e níveis socioeconômicos na população de São José do Rio Preto, estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos Brasileiros Cardiologia**, v. 88, n. 2, p. 200-206, 2007.

GREGORIO, S.R.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R. Fibras alimentares e doença cardiovascular**. Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition.,** São Paulo, SP. v.22, p. 109-120, dez., 2001.

GUTKOSKI, L. C.; TROMBETTA, C. Avaliação dos teores de fibra alimentar e de beta-glicanas em cultivares de aveia (*Avena sativa L*.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.3, set/dez. 1999.

GRUNDY, S.M.; PASTERNAK, R; GREENLAND, P; SMITH, S; FUSTER, V. Assessment of Cardiovascular Risk by Use of Multiple-Risk-Factor Assessment, Equations : A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart. **American Heart Association.** Dallas, v. 100; p. 1481-1492, 1999.

HALLFRISCH J, BEHALL K. M. “Physiological responses of men and women to barley and oat extracts (nu-trimX). I. Breath hydrogen, methane, and gastrointestinal symptoms,” **Cereal Chemistry**, v. 80, no. 1, p. 76–79, 2003.

HLEBOWICZ, J; DARWICHE, G; BJORGELL, O; ALME´R, L.O. Effect of Muesli with 4g Oat Glucan on Postprandial Blood Glucose, Gastric Emptying and Satiety in Healthy Subjects: A Randomized Crossover Trial. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 27, n. 4, 470–475, 2008.

HOODA, S.; MATTE, J. J.; VASANTHAN, T.; ZIJLSTRA, R. T. Dietary oat b-glucan reduces peak net glucose flux and insulin production and modulates plasma incretin in portal-vein catheterized grower pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 140, p.

1564–1569, 2010.

HUANG, X. F., YU, Y., BECK, E. J., SOUTH, T., LI, Y., BATTERHAM, M. J., TAPSELL, L. C., CHEN, J. Diet high in oat b-glucan activates the gut-hypothalamic (PYY3–36-NPY) axis and increases satiety in diet-induced obesity in mice. **Molecular Nutrition & Food Research**. v. 55, p.1118–1121.2011.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER**. Inquérito domiciliar sobre comportamento de risco e morbidade referida de doenças e agravos não transmissíveis**: Brasil, 15 capitais e Distrito Federal, 2002-2003. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer; 2004.

INSTITUTE OF MEDICINE: **Dietary reference intakes: energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. Washington, DC: National Academies Press; 2002.

JASKARI, J; KONTULA, P; SIITONEN, A; JOUSIMIES-SOMER, H; MATTILA-SANDHOLM, T; POUTATEN, K. Oat β-glucan and xylan hydrolysates as selective substrates for Bifidobacterium and Lactobacillus strains. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 49, n. 2, pp. 175–181,1998.

JENKINS, D.J.; KENDALL, C.W.; VUKSAN, V.; VIDGEN, E.; PARKER ARKER, T.; FAULKNER AULKNER AULKNER, D.; MEHLING, C.C.; GARSETTI, M.; TESTOLIN, T.; CUNNANE, S.C.; RYAN, M.A.; COREY, P.N. Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for a claim of health benefits: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. **American Journal Clinical Nutrition.** v.75, p. 834-839, 2002.

JOHANSSON, L.; VIRKKI, L.; ANTTILA, H.; ESSELSTRÖM, H.;TUOMAINEN, P.; SONTAG-STROHM, T. Hydrolysis of _-glucan. **Food Chemistry**, v. 97, p.71–79, 2006.

KARIM, A.A.; NADIHA, M.Z.; CHEN, F.K.; PHUAH, Y.P.; CHUI, Y.M.; FAZILAH, A.Pasting and retrogradation properties of alkali-treated sago starch. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.1044-1053, 2008.

KERCKHOFFS, D.A.J.M; HORNSTRA, G; MENSINK, R.P**.** Cholesterol-lowering effect of β-glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when β-glucan is incorporated into bread and cookies1–3. **American Journal Clinical of Nutrition,** v.78 p. 221–7. 2003

KHOURY D. El , CUDA C. , LUHOVYY B. L. Anderson G. H. Beta Glucan: Health Benefits in Obesity and Metabolic Syndrome. **Journal Nutrition Metabolism**. 2012; 2012: 851362. doi: 10.1155/2012/851362N.

KING, D.E; MAINOUS, A.G; LAMBOURNE, C.A. Trends in Dietary Fiber Intake in the United States,1999-2008. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**. v.112, p.642-648. 2012

KONTULA, P; VON WRIGHT, A; MATTILA-SANDHOLM, T. Oat bran β-gluco- and xylo-oligosaccharides as fermentative substrates for lactic acid bacteria.International **Journal of Food Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 163–169, 1998.

KUAKPETOON, D.; WANG Y. Locations of hypochlorite oxidation in corn starchesvarying in amylose content. **Carbohydrate Research**. v. 343, p. 90–100, 2008.

LAFERRERE B, TEIXEIRA J, MCGINTY J. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. **Clinical Endocrinology Metababolism.** v.93, p.2479–85, 2008.

LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C. G. Molecular aspects of cereal b-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. **Journal of Cereal Science**, v.46, p.101–118, 2007.

LEES, R. **Manual de análises de alimentos.** Zaragoza: Acribia. 1979.

LIATIS, S.; TSAPOGAS, P.; CHALA, E; DIMOSTHENOPOULOS, C.; KYRIAKOPOULOS, K.; KAPANTAIS, E.; KATSILAMBROS, N. The consumption of bread enriched with betaglucan reduces LDL-cholesterol and improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes. **Diabetes & Metabolism,** v. 35, p.115–120, 2009.

LIMA, TL. **Avaliação dos efeitos da ingestão de semente de linhaça (linum usitatissimum) em ratos wistar fêmeas**. Trabalho de conclusão do curso de Nutrição, da Faculdade Assis Gurgacz (FAG), 2008.

LIU, S; STAMPFER, M.J; HU, F.B; GIOVANNUCCI, E; RIMM, E; MANSON, J.E; HENNEKENS, C.H; WILLETT, W.C. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. **American Journal Clinical Nutrition**. v.70, n.3, p.412-9. Sep 1999.

MACHADO, M.R.G**. Bebida de soja fermentada com Lactobacillus acidophilus: viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional** / Pelotas, 2007. 101f. : Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas.

MALKKI, Y.; VIRTANEN, E. Gastrointestinal effects of oat bran and oat gum - A Review. **Food Science and Technology**, v.34, p.337-347, 2001.

MARTI DEL MORAL, A; MORENO-ALIAGA, M.J; MARTINEZ-HERNANDEZ, J. Effect of prebiotics on lipid metabolism. **Nutrution Hospital Journal.**. 2003, v.18, n.4, p. 181-188.

MARTINS, I.S, et al. Hábitos alimentares aterogênicos de grupos populacionais em área metropolitana da região sudeste do Brasil. **Revista Saude Publica.** v. 28, n.5, p.349-56.1994.

MCKEOWN M J, B. MEIGS, S. LIU, E. SALTZMAN, P. W. F. WILSON, AND P. F. JACQUES, “Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the framingham offspring cohort**,” Diabetes Care,** vol. 27, no. 2, pp. 538–546, 2004.

MITSOU, E.K; PANOPOULOU, N; TURUNEN, K. SPILIOTIS, V; KYRIACOU, A. Prebiotic potential of barley derived b-glucan at low intake levels: A randomised, double-blinded, placebo-controlled clinical study. **Food Research International.** v. 43, p. 1086–1092, 2010.

MOURA, F.A; PEREIRA, J.M; SILVA, D.O; ZAVAREZE, E.R; MOREIRA, A.S; HELBIG, E; DIAS, A.R.G.D. Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat b-glucan. **Food Chemistry** v.128, p.982–987, 2011.

MUSTAD, V.A; KRIS-ETHERTON, P.M. Além da redução do colesterol: decifrando os benefícios da intervenção alimentar para a doença cardiovascular. **Current Atherosclerosis Reports** Brasil, v.1, p. 2-7. 2001.

NAUMANN, E; REES, A; O¨ NNING, G; WYDRA, M; MENSINK, R.P**.** β-Glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. **American Journal Clinical Nutrition**. v.83, p.601–5. 2006.

NRC. National Research Council. **Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório.** Goiânia: AAALAC/COBEA, p.75-89, 2003.

OLIVEIRA, CL; MELLO, MT; CINTRA, IP; FISBERG, M. Obesidade e síndrome metabólica na infância e adolescência. **Revista Nutrição Campinas**, v. 17, n.2, p.237-245, 2004

OLIVEIRA, L. C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.; BORGES, C. D.; ELIAS, M. C.; GUTKOSKI, L. C. Comparative study between methods of β-glucans extraction of white oat grains. **Alimentos. Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 2, p. 183-189, abr./jun. 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE; Organização Pan-Americana da Saúde [homepage na intenet]. Prevenção de doenças crônicas um investimento vital. [acesso em 20 nov 2010]. Disponível em: http://www.transdoreso.org/pdf/prevencao_doenca_cronica.pdf.

PARADA, N.M; COZZA, E; PARADA, J.L. Relación entre hábitos alimentarios y niveles de colesterol sérico en una población suburbana de Argentina. **Archivos Latinoamericanos Nutrição**. v.49, n.4, p.333-7. 1999.

PARK, S.Y; BAE, Y; LEE, S; LEE, H.G. Physicochemical and Hypocholesterolemic Characterization of Oxidized Oat β-Glucan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 439–443, 2009.

PEIXOTO, J.C; FEIJÓ, Â.P; TEIXEIRA, A.B.S; LOUZADA, S.R,N. Benefícios da soja no controle da obesidade. **Revista Eletrônica Novo Enfoque.** v. 12, n. 12, p. 47 – 67, 2011.

PEREIRA, D.I.A.; GIBSON, G.R. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**., v.37, n.4, p.259-281, 2002.

PEREIRA, M.A; O'REILLY, E; AUGUSTSSON, K; FRASER, G.E; GOLDBOURT, U; HEITMANN, B.L; HALLMANS, G; KNEKT, P; LIU, S; PIETINEN, P; SPIEGELMAN, D; STEVENS, J; VIRTAMO, J; WILLETT, W; ASCHERIO, A. Dietary Fiber and Risk of Coronary Heart - A Pooled Analysis of Cohort Studies. **Archives of Internal Medicine**. v.164, p. 370-376, 2004.

PICHE, T; ZERBIB, F.D.E.S; VARANNES, S.B, et al. Modulation by colonic fermentation of LES function in humans. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver.** v. 84, p. 278 -578, 2000.

PIÑERO, M. P.; PARRA, K.; HUERTA-LEIDENZ, N.; MORENO, L. A.; FERRER, M.; ARAUJO, S.; BARBOZA, Y. Effect of oat's soluble fibre (_-glucan) as a fat replacer on physical, chemical, microbiological and sensory properties of low-fat beef patties. **Meat Science**, v.80, p.675–680, 2008.

RIPSIN C. M; KEENAN, J. M. JACOBS D. R. ET AL., Oat products and lipid lowering: a meta-analysis, **Journal of the American Medical Association**, v. 267, no. 24, p. 3317–3325, 1992.

RIQUE, A.B.R; SOARES, E.A; MEIRELLES, C.M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira Medicina do Esporte**. v. 8, n6, 2002.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? **American Journal Clinical Nutrition,** v. 73, p. 406-409, 2001.

ROSA, C. O. B; COSTA, N. M. B; NUMES, R. M. Efeito dos feijões (Phaseolus vulgaris, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução de colesterol sangüíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. v.48, n.4, p.306-310, 1998.

RODRIGUES, A. Microbiota Intestinal e sua Possível Relação com a Obesidade. **ABESO**, v. 53, n. 7, 2011.

ROPERT A, CHERBUT C, ROZE C, et al. Colonic fermentation and proximal gastric tone in humans. **Gastroenterology.** v.96, n.18, p.111:289, 1996.

SÁNCHEZ-RIVERA, M.M.; GARCÍA-SUÁREZ, F.J.L.; VELÁZQUEZ DEL VALLE, M.; GUTIERREZ-MERAZ, F.; BELLO-PÉREZ, L.A. Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite.**Carbohydrate Polymers**, v.62, p. 50 - 56, 2005.

SAHYOUN N.R.P.F; JACQUES, X. L. ZHANG, W. JUAN, AND N. M. MCKEOWN, “Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults,” **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 83, no. 1, pp. 124– 131, 2006

SLAVIN, J. L. “Dietary fiber and body weight,” **Nutrition,** vol. 21, no. 3, pp. 411–418, 2005

SNART, J; BIBLIONI, R; GRAYSON, T; LAY, C; ZHANG, H; ALLISON, G.E; LAVERDIERE, J.K; TEMELLI, F; VASANTHAN, T; BELL, R; TANNOCH, G.W. Cecum Enrichment for Lactobacilli in the Rat High-Viscosity Beta-Glucan Results in Supplementation of the Diet with. **Applied and Environmental Microbiology***. v.* 72, n.3, p. 1925-1931. 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 88 (Suplemento I), 2007.

SINGH, J.; KAUR, L.; McCARTHY, O.J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – A review. **Food Hydrocolloids,** v.21, p.1-22, 2007.

SPIER, F**. Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

QUEENAN, K. M; STEWART, M. L; SMITH, K. N; THOMAS, W; FULCHER, R. G; SLAVIN, J. L. Concentrated oat β-glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. **Nutrition Journal,** v.6, n.6, 2007.

TODD, S; WOODWARD, M; TUNSTALL-PEDOE, H; BOLTON-SMITH, C. Dietary antioxidant vitamins and fiber in the etiology of cardiovascular disease and all-causes mortality: results from the Scottish heart health study. **| American Journal of Epidemiology**. v.150, n.10, p. 1073–1080,1999.

TOLVANEN, P.; MÄKI-ARVELA, P.; SOROKIN, A. B.; SALMI, T.; MURZIN, D. Y.Kinetics of starch oxidation using hydrogen peroxide as an environmentallyfriendly oxidant and an iron complex as a catalyst. **Chemical Engineering Journal**, v. 15, p. 52-59, 2009

TROWELL, H.C. Ischemic heart disease and dietary fiber. **American Journal Clinical Nutrition.** v.25, p.926-32.1972.

VASANTHAN, T.; TEMELLI, F. Grain fractionation technologies for cereal betaglucan concentration. **Food Research International**, v.41, p.876–881, 2008

VITAGLIONE, P; LUMAGA, R.B; STANZIONE, A; SCALFI, L; FOGLIANO, V. b-Glucan-enriched bread reduces energy intake and modifies plasma ghrelin and peptide YY concentrations in the short term. **Appetite.** v.53, p. 338–344. 2009.

WANG, Q. et al. Preparation and characterization of molecular weight standards of low polydispersity from oat and barley (1→3) (1→4)- β-D-glucans. **Food Hidrocoloides**., v. 17, n. 6, p. 845-853, 2003.

WATSON, R.T; PESSIN, J.E. Intracellular organization of insulin signaling and GLUT4 translocation. **Recent Progress in Hormone Research**. v. 56, p.175–93. 2001.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION**. Cardiovascular diseases CVDs**). Fact sheet N°317. Geneva, September 2011. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html Acesso em: 23 julho de 12.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION Organização Mundial de Saúde; Organização Pan-Americana da Saúde [homepage na intenet]. Prevenção de doenças crônicas um investimento vital. [acesso em 20 nov 2010]. Disponível em: http://www.transdoreso. org/pdf/prevencao_doenca_cronica.pdf.

WILD, S; ROGLIC, G; GREEN, A. Global prevalence of diabetes. **Diabetes Care** v.27,p.1047-53,2004.

WILLIAMS, C.M; WILLIAMS, C.M; JACKSON, K.G. Inulin and oligofructose: effects on lipid metabolism from human studies. **British Journal Nutrition.** v.87, n.2, p.261-264. 2002.

WOOD, P. J. et al. Large-scale preparation and properties of oat fractions enriched in (1→3) (1→4) - β-D-glucans. **Cereal Chemistry,** v. 66, n. 2, p. 97-103, 1989.

WOOD, P. J.; WEISZ, J.; FEBEC, P. Potencial for β-glucan enrichment in brans derived from Oat (*Avena sativa L*.) cultivars of different (1-3),(1-4)- β-D-glucan concentrations. **Cereal Chemistry,** St. Paul, v. 68, n.1, p. 48-51, 1991.

WOOD, P.J. Cereal β -glucans in diet and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46, p. 230-238, 2007.

WORLD BANK. **Becoming Old in an Older Brazil: Implications of Population Aging on Growth,** Poverty, Public Finance and Service Delivery. Washington, DC: World Bank, 2011.

YAMAGUCHI, G.S.A. Alterações estruturais de segmento ileal distal interposto no jejuno proximal, em ratos normais. Tese. **Programa de pós-graduação em cirurgia e experimentação.** Universidade Federal De São Paulo Escola Paulista De Medicina. SÂO PAULO; 2008.

APÊNDICE

Os dados de peso do fígado, coração e cérebro foram coletados, porém não utilizados para a escrita do Artigo 1 e Artigo 2. Os valores estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Peso dos órgãos dos ratos Wistar após período de tratamento

Grupos	Fígado	Coração	Cérebro
C	19,14±4.76	1,35±0,14	1,80±0,34
FA2,5%	20,745±4,00	1,23±0,18	1,95±0,18
FA5,0%	14,56±2,54	1,30±0,12	2,04±0,25
BGN2,5%	14,74±1,78	1,20±0,10	2,04±0,22
BGN5,0%	17,37±3,27	1,23±0,10	1,83±0,29
BGO2,5%	18,5±2,11	1,29±0,12	1,95±0,13
BGO5,0%	20,56±3,77	1,33±0,16	1,98±0,10

ANEXO

Pelotas, 18 de dezembro de 2012

De: Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Professor Elizabete Helbig

Departamento de Nutrição da Faculdade de Nutrição

Senhora Professora:

A *CEEA* analisou o projeto intitulado: **"Farelo de aveia e concentrado nativo e oxidativo de B-glucana: efeito sobre parâmetros endócrinos e metabólicos em ratos submetidos a uma dieta hipercolesterolêmica"**, processo nº23110.009778/2012-84, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à *CEEA*.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa e Iniciação Científica para posterior registro no *COCEPE* (código para cadastro nº **CEEA 9778**).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

Presidente da CEEA

Ciente em: 28 / 01 /2012

Assinatura da Professora Responsável: