



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana

LORENZA RODRIGUES DOS REIS GALLO

**ANÁLISE QUÍMICA, ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DE PÃES SEM GLÚTEN DE
SORGO DE DIFERENTES GENÓTIPOS E
SEUS EFEITOS GLICÊMICOS EM
HUMANOS**

Brasília-DF

2021



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana

LORENZA RODRIGUES DOS REIS GALLO

Tese apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Nutrição Humana,
Universidade de Brasília, como parte dos requisitos
para obtenção do título de doutor em Nutrição Humana.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Braz Assunção Botelho

Co-orientador: Prof. Dr. Caio Eduardo Gonçalves Reis

BRASÍLIA – DF

2021

LORENZA RODRIGUES DOS REIS GALLO

**ANÁLISE QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PÃES SEM GLÚTEN
DE SORGO DE DIFERENTES GENÓTIPOS E SEUS EFEITOS GLICÊMICOS
EM HUMANOS**

Tese apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Nutrição Humana,
Universidade de Brasília, como parte dos requisitos
para obtenção do título de doutor em Nutrição Humana.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Raquel Braz Assunção Botelho (presidente)

Profa. Dra. Renata Puppim Zandonadi

Profa. Dra. Viviani Ruffo de Oliveira

Profa. Dra. Livia Pimentel de Sant'Ana Dourado

Rita de Cássia Coelho de Almeida Akutsu (suplente)

FICHA CATALOGRÁFICA

Gallo, Lorenza Rodrigues dos Reis

Análise química, atividade antioxidante de pães sem glúten de sorgo de diferentes genótipos e seus efeitos glicêmicos em humanos/ Lorenza Rodrigues dos Reis Gallo

Tese de Doutorado/ Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

Brasília, 2021.

Área de Concentração: Nutrição Humana.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Braz Assunção Botelho

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e meus pais pela vida. Obrigada, Martinho e Marília Gallo, por sempre me apoiarem e me incentivarem.

Agradeço de todo meu coração à minha orientadora, Profa. Dra. Raquel Botelho, que é fonte de inspiração e um exemplo de profissional desde 2008, quando entrei na Nutrição. Obrigada por sempre estar presente e me ajudar tanto nessa longa jornada que foi o doutorado.

Agradeço ao Prof. Dr. Caio Reis pela paciência e por ajudar tanto nessa reta final.

Agradeço a todos os professores que contribuíram para a realização desse projeto: Prof. Dr. Márcio Mendonça, Profa. Dra. Sandra Arruda, Profa. Dra. Renata Zandonadi, Profa. Dra. Rita Akutsu, Profa. Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco e Profa. Dra. Vera Sônia Nunes da Silva.

Agradeço também a todos os voluntários da pesquisa e aos profissionais da Embrapa nas pessoas de Valéria Aparecida Queiroz e Iriane, e do Sabin na pessoa de Simone Lima, pela parceria.

Por fim, meu agradecimento aos demais que contribuíram de alguma forma com as análises: Luiz Eduardo Araújo, Mário Henrique, Ananda Araújo, Alejandra Ortega, Maria do Desterro, Thais, Marina, Lorena, Gabrielle, Joyce e Debora.

RESUMO

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é um cereal sem glúten que apresenta diversas características nutricionais importantes, como presença de fibras e compostos bioativos. Devido a suas propriedades, tem sido utilizado na fabricação de produtos sem glúten de melhor qualidade nutricional. Em função do seu baixo índice glicêmico e da presença de compostos com atividade antioxidante, o sorgo pode auxiliar na promoção da saúde, prevenindo obesidade, câncer e diabetes mellitus tipo 2. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito glicêmico, insulinêmico e antioxidante do consumo de pães sem glúten de sorgo de diferentes genótipos em humanos. Foram selecionados três genótipos diferentes de sorgo (marrom, bronze e branco) para elaboração de pães sem glúten. Todos os pães (três de sorgo e um controle de arroz) passaram por análise da composição centesimal, amido resistente, fibra dietética, atividade antioxidante pelo método de ORAC, capacidade antioxidante pelo método de FRAP, índice glicêmico (IG) e índice insulinêmico (II). O ensaio clínico randomizado, cruzado, duplo-cego foi realizado com 10 voluntários saudáveis do sexo masculino. Em cada etapa do estudo, os voluntários ingeriram um dos alimentos testes contendo 50g de carboidrato disponíveis na porção ofertada. Nos tempos 0 (imediatamente antes da ingestão, em jejum), 15, 30, 45, 60, 90, 120 e 180 minutos após o consumo foram realizadas coletas de sangue. Foi determinado o índice glicêmico (IG) e insulinêmico (II) dos pães pelo método trapezoidal. Foram realizadas comparações múltiplas (ANOVA) com teste de Tukey para estabelecer diferenças estatísticas ($p < 0,05$). Todos os pães de sorgo apresentaram significativamente mais fibra do que o pão de arroz (controle). O pão de sorgo marrom foi classificado como baixo IG, os pães bronze e branco como médio IG e o pão controle como alto IG. O pão de sorgo marrom também apresentou baixo teor de carboidratos, grande quantidade de fibra (5,79g/100g) e apresentou resposta glicêmica de AAC (área abaixo da curva) de 3 horas significativamente menor do que o pão controle. Além disso, o pão de sorgo marrom apresentou maior atividade antioxidante do que as outras amostras ($p \leq 0,001$). Os voluntários do estudo apresentaram idade entre $28,0 \pm 4,9$ anos; peso de $77,6 \pm 11,7$ kg; altura de $1,78 \pm 0,07$ m; IMC de $24,2 \pm 2,3$ kg/m²; $21,36 \pm 5,31$ de percentual de gordura; e glicemia capilar de jejum de $89,0 \pm 4,3$ mg/dL. Por fim, os resultados confirmam a hipótese da melhora nas respostas glicêmicas e insulinêmicas após o consumo de pães de sorgo por homens adultos saudáveis comparado ao pão sem glúten padrão. Portanto, devido a vários benefícios à saúde, a produção de sorgo marrom deve

ser incentivada para produzir alimentos sem glúten com melhor perfil nutricional. Mais pesquisas são necessárias para explorar os efeitos de diferentes genótipos de sorgo em produtos alimentícios na saúde humana em diferentes populações.

Palavras-chave: sem glúten, sorgo, pão, índice glicêmico, atividade antioxidante, amido resistente, fibra dietética.

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) is a gluten-free cereal that presents several important nutritional characteristics, as presence of fiber and bioactive compounds. Due to its properties, it has been used to produce gluten-free products with better nutritional quality. Because of its low glycemic index and the presence of compounds with antioxidant activity, sorghum can help promote health by preventing obesity, cancer, and type 2 diabetes. In this sense, this study aims to evaluate the glycemic, insulinemic and antioxidant effect of gluten-free bread made with different sorghum genotypes in humans. Three different genotypes of sorghum (brown, bronze and white) were chosen to produce gluten-free bread. All types of bread (three made with sorghum and one control made with rice flour) were analyzed for chemical composition, resistant starch and dietary fiber content, antioxidant activity by ORAC method, antioxidant capacity by FRAP method, glycemic index (GI), and insulinemic index (II). This double-blind, crossover, randomized clinical trial was conducted with 10 healthy men. In each trial phase, participants consumed one of the test meals that provided 50g of available carbohydrate per offered portion. Immediately before consumption (in fasting) and after 15, 30, 45, 60, 90, 120 and 180 minutes, blood samples were collected. GI and insulinemic responses were determined by the trapezoidal method. Multiple samples comparisons (ANOVA) with Tukey test were conducted to establish significant differences ($p < 0.05$). All sorghum bread showed significantly more fiber than rice bread (control). Brown sorghum bread was classified as low GI, bronze and white as medium GI, and control as high GI. Brown sorghum bread presented low carbohydrate content, a great amount of fiber (5.79g/100g), and a significantly lower 3 hours AUC glucose response than the control, besides the highest antioxidant activity value ($p \leq 0.001$). Participants presented 28.0 ± 4.9 years, 77.6 ± 11.7 kg, 24.2 ± 2.3 kg/m², $21.36 \pm 5.31\%$ of body fat, and 89.0 ± 4.3 mg/dL of fasting capillary blood glucose. Finally, results confirm the hypothesis of glycemic and insulinemic responses improvement after consuming gluten-free sorghum bread by adult health men because all sorghum bread samples presented lower IG and II compared to control bread. Therefore, due to several health benefits and its superiority among other sorghum genotypes analyzed in this study, brown sorghum production should be encouraged to provide gluten-free products with a better nutritional profile. More research is required to explore the effects of different sorghum genotypes in food products on human health among different populations.

Keywords: gluten-free, sorghum, bread, glycemic index, antioxidant activity, resistant starch, dietary fiber.

SUMÁRIO

	Página
1. Introdução	11
2. Referencial Teórico	14
3. Objetivos	30
3.1. Geral	30
3.2. Específicos	30
4. Materiais e Métodos	31
5. Resultados	39
6. Discussão	45
7. Conclusão	54
8. Referências Bibliográficas	54
9. Anexo	72
10. Apêndice	89

1. INTRODUÇÃO

A demanda por produtos sem glúten tem crescido nos últimos anos devido à adoção de uma dieta sem glúten por parte da população. Essa restrição ao glúten se dá por diversos motivos como: Doença Celíaca (DC), intolerância ao glúten ou a percepção de que o glúten é potencialmente prejudicial, portanto, sua restrição representaria um estilo de vida saudável (TAYLOR; SCHOBBER; BEAN, 2006; NILAND; CASH, 2018).

Nesse sentido, houve um crescimento do mercado de produtos sem glúten nos últimos anos devido, principalmente, à moda da dieta sem glúten adotada por pessoas que acreditam que esse tipo de alimentação é mais saudável e eficaz para perder peso, mesmo que não haja evidência científica que suporte essa crença (FOSCHIA et al., 2016; BASCUNAN et al., 2017).

Esse crescimento do mercado de produtos sem glúten é uma tendência mundial, sendo que o pão sem glúten é o produto mais procurado. O pão tradicional feito com farinha de trigo faz parte do hábito alimentar em diversas culturas, por isso, é muito importante desenvolver versões alternativas que não tenham glúten em sua composição (SANTOS et al., 2019; CAPRILES et al., 2016).

Entretanto, o desenvolvimento de pães sem glúten de alta qualidade é um desafio tecnológico, pois o glúten confere viscoelasticidade e capacidade de retenção de gás nas massas, tendo, portanto, influência direta na aparência, estrutura, textura e qualidade dos pães. Sendo assim, são utilizados diferentes ingredientes, aditivos e processos para melhorar as propriedades físicas e composição nutricional, além da aceitabilidade e vida de prateleira dos pães sem glúten (SANTOS et al., 2019; CAPRILES; AREAS, 2014).

Dentre os substitutos da farinha de trigo que vem sendo utilizado para a produção de farinhas e produtos de panificação é o sorgo (TAYLOR; SCHOBBER; BEAN, 2006). O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é um dos dez cereais mais produzidos no mundo e um alimento importante na dieta de mais de 500 milhões de pessoas em mais de 30 países. O alto consumo desse cereal se deve, em grande parte, a seu fácil cultivo em várias áreas, incluindo regiões muito secas e áridas ou que possuem severas flutuações de temperatura (HENLEY, 2010). Entretanto, nos países ocidentais, o sorgo é utilizado prioritariamente na alimentação animal em detrimento do consumo humano (STEFOSKA-NEEDHAM et al., 2015).

A produção do sorgo é liderada pelos Estados Unidos da América, sendo 8,6 milhões de toneladas na safra de 2019/2020. Para a safra de 2021/2022, estima-se um aumento na produção mundial que deve ser a maior desde 2014/2015 (USDA, 2021).

No Brasil, o sorgo é considerado uma cultura alternativa ao milho no sistema de sucessão de culturas devido às técnicas utilizadas para produtividade serem similares (DUARTE, 2010). Para a safra de 2020/21, a previsão é de produzir 2,7 milhões de toneladas, 9,3% maior que a safra anterior, em uma área de 875,4 mil hectares, incremento de 4,8% (CONAB, 2021).

A região Centro-Oeste do Brasil é a maior área produtora de sorgo do país (EMBRAPA, 2012) e a Embrapa Milho e Sorgo possui mais de 6.000 acessos de sorgo no Banco Ativo de Germoplasma, havendo grande variedade de genótipos com diferentes composições químicas, tendo teores de amido, fibras, proteínas, minerais e compostos fenólicos diversos (QUEIROZ et al., 2009; ESPITIA-HERNÁNDEZ et al., 2020).

Com estimativa de produzir 1,29 milhão de toneladas para safra de 2020/2021, o estado de Goiás continua na primeira colocação no ranking de produção de sorgo no Brasil, representando 49,7% da produção nacional. A expectativa é de aumento de 17,5% na produção em comparação com a safra de 2019/2020, segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021).

Além de não possuir glúten e poder ser consumido por indivíduos com desordens relacionadas ao glúten (STEFOSKA-NEEDHAM et al., 2015), o sorgo apresenta diversas características nutricionais importantes, como o teor de fibras, proteínas e compostos bioativos, o que tem contribuído para o aumento do seu consumo por humanos nos Estados Unidos e em outras culturas ocidentais (TAYLOR; SCHOBBER; BEAN, 2006). Entre características importantes, o sorgo é fator preventivo contra condições crônicas de saúde (oxidação celular e inflamação) e doenças altamente prevalentes no mundo ocidental como hipercolesterolemia, câncer e diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) (SHIM et al., 2013; LEE et al., 2014; SUGANYADEVI; SARAVANAKUMAR; MOHANDAS, 2013; KIM; PARK, 2012).

Segundo Cardoso e colaboradores (2015), o sorgo pode ser utilizado como substituto de outros cereais em função do seu potencial de promover saúde e prevenir doenças, pois é rico em fibras dietéticas, minerais, vitamina E, carotenoides e compostos bioativos.

Sorgos pigmentados como marrom, bronze e vermelho são ricos em compostos fenólicos e bioativos, além de serem fonte de diversos fitoquímicos como taninos, que

possuem propriedades antioxidantes (TAYLOR et al., 2013), atraindo consumidores interessados em alimentos com alegação de propriedades funcionais (DLAMINI; TAYLOR; ROONEY, 2007).

Além de ser rico em amido resistente, fibras e polissacarídeos não amiláceos, o sorgo possui taninos que podem se ligar às proteínas e aos carboidratos da dieta formando complexos insolúveis, resultando em menor resposta glicêmica e aumento da saciedade após seu consumo (ARUNA; VISARADA, 2019). Portanto, a hipótese desse trabalho é que o consumo de pão de sorgo sem glúten promove melhores respostas glicêmica e insulinêmica em adultos saudáveis.

Entretanto, são poucos os estudos que determinaram o índice glicêmico (IG) de produtos elaborados com sorgo (LEMLIOGLU-AUSTIN et al., 2012; MORAES et al., 2012; WOLTER et al., 2013; WOLTER et al., 2014; PRASAD et al., 2014). Os estudos de Lemlioglu-Austin et al. (2012) e Moraes et al. (2015) estimaram o IG de extratos de farelo de sorgo e farinhas de sorgo, respectivamente, sendo ambos *in vitro*. Da mesma forma (*in vitro*), foram conduzidos os dois estudos de Wolter et al. (2013 e 2014), que determinaram o IG de pães de sorgo sem glúten. Já no estudo de Prasad et al. (2014), os IG de produtos de sorgo foram determinados *in vivo*, com 10 indivíduos não diabéticos.

Devido às características químicas e tecnológicas do sorgo e sua boa aceitabilidade em produtos como barra de cereais com pipoca de sorgo, *cookies* de sorgo com amendoim e bolo de sorgo com banana (CARSON et al., 2000; GONZÁLEZ, 2005; ANUNCIACÃO et al., 2017; QUEIROZ et al., 2015), pesquisas têm sido realizadas explorando seus compostos específicos, como fitoquímicos (AWIKA; ROONEY, 2004; DYKES; ROONEY, 2006); o efeito do processamento em sua composição (TAYLOR; DUODU, 2015); e composição nutricional e implicações à saúde de acordo com os compostos identificados (STEFOSKA-NEEDHAM et al., 2015; CARDOSO et al., 2015).

Apesar do reconhecimento dos benefícios do sorgo, há pouca informação sobre a composição dos produtos elaborados com esse cereal e seu impacto no metabolismo da glicose. Portanto, são necessários mais estudos para determinar os efeitos do consumo de pão de sorgo na saúde humana (WOLTER et al., 2014).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Sorgo

2.1.1. Conceito, classificação, produção e consumo

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moech) é um dos dez cereais mais produzido no mundo, sendo cultivado em regiões tropicais e subtropicais. O sorgo possui três partes distintas: pericarpo, gérmen e endosperma. O pericarpo representa 6%, o gérmen 9% e o endosperma 85% do grão. Algumas variedades também apresentam uma fina camada embaixo do pericarpo denominada testa, que geralmente possui taninos (BALOTA, 2012).

Segundo Harlan e de Wet (1972), o sorgo compreende cinco raças (*bicolor*, *caudatum*, *durra*, *guinea* e *kafir*) e dez raças intermediárias que são combinações das cinco raças básicas, sendo a distinção entre as raças baseada principalmente no tipo de espiguetta e na morfologia do grão. A variabilidade genética do sorgo permitiu o desenvolvimento de diversos híbridos a partir de trabalhos de melhoramento, apresentando características agrônomicas e valor nutritivo diferentes (PEDREIRA et al., 2003).

No geral, a propriedade do sorgo que afeta sua qualidade para a indústria alimentícia é a textura do endosperma. A textura do endosperma está relacionada à proporção de endosperma farináceo e vítreo dos grãos, sendo classificados em vítreo (duro), intermediário e farinhento (macio) (ARUNA; VISARADA, 2019).

Apesar de sua vasta produção, o sorgo é utilizado majoritariamente na alimentação animal, sendo apenas 35% cultivado diretamente para o consumo humano. Em países da África e da Ásia é considerado alimento básico para milhões de pessoas, chegando a suprir cerca de 70% da ingestão calórica diária (AWIKA; ROONEY, 2004; DICKO et al., 2006; TAYLOR; SCHOBBER; BEAN, 2006). Entretanto, no Brasil, praticamente não há consumo de sorgo na alimentação humana, sendo cultivado, principalmente, visando à produção de grãos para suprir a demanda das indústrias de ração animal e como forragem, para alimentação de ruminantes (DYKES et al., 2005).

Em 1986, um estudo realizado por Schaffert no Brasil mostrou que diversos tipos de farinhas mistas, incluindo sorgo e trigo, poderiam ser utilizadas na panificação, com pouca alteração na qualidade sensorial do produto. A partir desse estudo, a Embrapa Milho e Sorgo, em parceria com a Embrapa Agroindústria de Alimentos, desenvolveu

uma linha de pesquisa com o objetivo de identificar e avaliar genótipos de sorgo que pudessem atender a esse mercado (QUEIROZ et al., 2009).

Há diversos genótipos de sorgo que são apresentados pelas cores branca, creme, amarela, laranja, bronze, vermelha, marrom, preta e combinações dessas cores (figura 1) (BALOTA, 2012). Cada cor de sorgo apresenta diferentes características, por isso foram escolhidos três genótipos de cores diferentes para essa pesquisa. Por exemplo, o sorgo branco com testa não pigmentada não apresenta níveis significativos de taninos; o sorgo vermelho com testa pigmentada apresenta conteúdo moderado de taninos; e o sorgo marrom com testa pigmentada apresenta grande quantidade de taninos (DYKES; ROONEY, 2006).

Além da coloração, os genótipos de sorgo podem ser classificados em função da textura, o que possibilita utilizações diversas. De acordo com Rooney e Waniska (2000), os genótipos de sorgo com endosperma duro são próprios para a produção de cuscuz, enquanto os com endosperma de textura intermediária para produção de pães sem fermentação e, por fim, os genótipos que apresentam endosperma macio são ideais na produção de pães fermentados.



Figura 1 – Grãos de sorgo de diferentes genótipos

2.1.2. Composição nutricional do sorgo

Apesar de estar entre os dez cereais com maior produção brasileira, o cultivo do sorgo no Brasil e em diversos países é destinado prioritariamente à alimentação animal. Entretanto, esse cereal possui grande potencial a ser explorado na alimentação humana devido às suas propriedades nutricionais. Em diversas regiões semiáridas, seu consumo já é feito pelos seres humanos em função da sua composição nutricional e tem aumentado nos países do Ocidente devido ao seu potencial funcional em relação a dislipidemias, obesidade, diabetes mellitus e câncer, podendo ser utilizado na elaboração de mingaus e produtos de panificação (QUEIROZ et al., 2011; TAYLOR; SCHÖBER; BEAN, 2006; POQUETTE; GU; LEE, 2014).

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2014), os grãos de sorgo são compostos por aproximadamente 75% de carboidratos (cerca de 69% de amido -70 a 80% de amilopectina e 20 a 30% de amilose), 6% de fibra alimentar, 11% de proteínas e 3% de lipídios.

No Brasil, Martino e colaboradores (2012) realizaram um estudo com oito genótipos de sorgo, sendo eles de coloração branca sem tanino (BR 501, BR 506, BRS 309 e CMSXS 136), marrom com tanino (BRS 700 e BR 305) e vermelha sem tanino (BR 007 e BRS 310), e encontraram uma variação de 57,3 a 64,7% de carboidrato, 8,57 a 11,59% de proteína, 1,24 a 3,07% de lipídio e 9,13 a 15,09% de fibra. Para o genótipo BRS 305 (marrom) utilizado no presente estudo, Martino e colaboradores (2012) apresentaram composição de 62,09g de carboidrato, 11,43g de fibra dietética, 10,11g de proteína e 2,60g de lipídio por 100g de amostra. Em relação ao genótipo BR 501, foram encontrados 62,74g de carboidratos, 11,18g de fibras, 9,91g de proteína e 3,07g de lipídios por 100g de amostra.

De acordo com Antunes e colaboradores (2007), que analisaram 33 genótipos de sorgo (BR 501, BR 304, BR 305, BRS 306, BR 007B, BR 506, BR 012, SC 120, SC 283, CMSXS 214, CMSXS 226, CMSXS 182, CMSXS 227, SHS 400, SHS 600, DKB 57, Texiota 54, 740, 00009055, 9815019, AG 1018, A 9904, A6304, 822, 00009033, 498019, 9815004, Sara, Ranchero, Esmeralda, Hegari, Early Hegari e Waxy Bl. Kafir) provenientes da Embrapa Milho e Sorgo e de outras empresas melhoradoras de sorgo no Brasil, foram verificadas algumas diferenças em relação à composição dos sorgos brasileiros. Encontrou-se, por exemplo, que os teores de amido possuem uma variação entre 62,07% (BR 304) e 78,74% (CMSXS 226) nos genótipos analisados.

Em relação à proteína, demonstrou-se que há 98% de variação entre os teores de proteína bruta dos 33 genótipos analisados, sendo o menor valor 9,85% para o SHS 600 e o maior valor, 18,28%, para o BR 012. Valores semelhantes (8,7 a 16,8%) foram encontrados por Rooney e colaboradores (1980). Sobre os teores de fibra bruta (FB), verificou-se que o genótipo CMSXS 227 apresentou o menor teor de FB (0,35%), enquanto o SHS 400, o mais alto (6,60%) (ANTUNES et al., 2007).

Apesar de suas diferenças em relação à composição nutricional, o sorgo é basicamente composto por carboidratos complexos, que geralmente possuem digestão lenta, promovendo saciedade e retardando a sensação de fome (HENLEY, 2010). Por ser uma fonte de fibras insolúveis, o farelo de sorgo pode ser utilizado para aumentar o teor de fibras alimentares quando adicionados a produtos como pães (OHR, 2004; TOELLER, 2002).

Outra característica nutricional do sorgo é possuir compostos lipossolúveis como carotenoides e vitamina E (0,81mg/100g), contribuindo para sua atividade antioxidante; vitaminas do complexo B como tiamina (0,237mg/100g), riboflavina (0,142mg/100g) e piridoxina (0,59mg/100g) e minerais como o fósforo (287mg/100g), o potássio (350mg/100g) e o zinco (1,54mg/100g) (DICKO et al., 2006; CARDOSO et al., 2015; ALTHWAB et al., 2015).

Os grãos de sorgo apresentam compostos bioativos, como compostos fenólicos e taninos, que têm a capacidade de sequestrar radicais livres e auxiliar na promoção da saúde, prevenindo obesidade, DM2 e câncer (AWIKA; ROONEY, 2004; QUEIROZ et al., 2011; MORAES, et al., 2012). Entretanto, como existem vários genótipos, pode haver diferenças nos compostos bioativos.

No estudo conduzido por Antunes e colaboradores (2007), os fenóis totais variaram entre os 33 genótipos brasileiros analisados, mas, apenas BR 305, SHS 600 e A 9904 apresentaram valores acima de 0,75%, o que os caracteriza como sorgos com taninos.

Em outra pesquisa, realizada por Moraes e colaboradores (2012), foi demonstrado que o sorgo marrom do genótipo BRS 305 possui concentração de 4,50mg de fenólicos totais e 59,5mg de taninos por grama de farinha, tendo, portanto, concentração de fenólicos totais e taninos significativamente maior que os genótipos BRS 309 (branco) e BRS 310 (vermelho).

2.1.4. Sorgo e capacidade antioxidante

O estresse oxidativo ocorre em função do desequilíbrio entre a geração de radicais livres, como espécies de oxigênio e nitrogênio reativos, e a defesa de antioxidantes. Esse estresse pode estar relacionado ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas como DM2 e doenças cardiovasculares (STROBEL et al., 2011; GIACCO; BROWNLEE, 2010).

O sistema de defesa antioxidante consiste na atuação dos antioxidantes endógenos glutathiona, catalase e superóxido dismutase; e antioxidantes exógenos provenientes da dieta, como os polifenóis. Segundo Moskaug e colaboradores (2005), os polifenóis presentes nos alimentos são poderosos antioxidantes químicos, além de favorecerem a síntese dos antioxidantes endógenos.

Arts e Hollman (2005) mostram em estudos epidemiológicos que existe uma associação inversa entre o consumo de alimentos ricos em polifenóis e o risco de doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo. Ou seja, uma dieta rica em polifenóis diminui o risco de desenvolvimento de doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo.

Estudos transversais também mostram que os marcadores de estresse oxidativo são inversamente proporcionais ao consumo de alimentos ricos em polifenóis (HERMSDORFF et al, 2012; YANG et al, 2013). Alimentos ricos em polifenóis como suco de maçã, diversas oleaginosas como avelã, amêndoas e nozes pecã, vinho tinto e grãos integrais demonstraram melhora no status antioxidante e nos marcadores de estresse oxidativo em estudos clínicos (VIEIRA et al., 2012; TORABIAN et al., 2009; HADDAD et al., 2014; LI et al., 2007; HUDTHAGOSOL et al., 2011; PRICE et al., 2012).

De acordo com revisão sistemática realizada por Simnadis e colaboradores (2016), existe uma forte relação entre o consumo de sorgo e a redução da expressão de marcadores de estresse oxidativo. Esse mesmo efeito pode ser observado depois do consumo de frutas e hortaliças, sugerindo, portanto, que o sorgo possui compostos bioativos que trazem benefícios à saúde (WANG et al., 2011).

Entre os compostos bioativos presentes no sorgo estão os compostos fenólicos que atuam como neutralizadores de radicais livres, prevenindo a autoxidação (ANGELO; JORGE, 2007). Um estudo realizado por Khan e colaboradores (2015) demonstrou que uma massa feita com adição de 30% de sorgo vermelho aumentou em quatro vezes o conteúdo fenólico quando comparada à massa tradicional elaborada apenas com trigo. Além disso, o consumo dessa massa com sorgo vermelho gerou uma redução significativa

do estresse oxidativo. Portanto, o consumo de sorgo vermelho sem tanino foi relacionado à diminuição da expressão dos marcadores de estresse oxidativo.

Outro estudo, conduzido por Yousif e colaboradores (2012) com pães, demonstrou que o conteúdo fenólico do pão com adição de 40% de sorgo vermelho foi significativamente maior que o pão com adição de 40% de sorgo branco, e, esse último também apresentou diferença significativa quando comparado ao pão controle elaborado com 100% de farinha de trigo.

Um estudo conduzido por Moraes et al. (2012) apontou que as farinhas elaboradas com os genótipos de sorgo marrom (BRS 305), branco (BRS 309) e vermelho (BRS 310), possuem 90% de atividade antioxidante, o que confirma outros estudos que demonstram que a atividade antioxidante do sorgo é maior quando comparada ao trigo, ao arroz e à aveia (FARRAR et al., 2008; RAGAE; ABDEL-AAL; NOAMAN, 2006).

Nos alimentos, os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (ANGELO; JORGE, 2007). Esses compostos são produzidos pelo metabolismo secundário das plantas quando submetidas a condições de estresse como infecções, injúrias mecânicas e radiação (NACZK; SHAHIDI, 2004). No sorgo, os compostos fenólicos concentram-se no pericarpo do grão (MORAES et al, 2015).

Os compostos fenólicos presentes no sorgo apresentam duas categorias: os ácidos fenólicos e os flavonoides (AWIKA; ROONEY, 2004). Os ácidos fenólicos são classificados como derivados de ácido hidroxibenzoico ou hidroxicinâmico, que são derivados dos ácidos benzoico e cinâmico respectivamente, sendo sua estrutura apresentada na figura 2 (AWIKA; ROONEY, 2004).

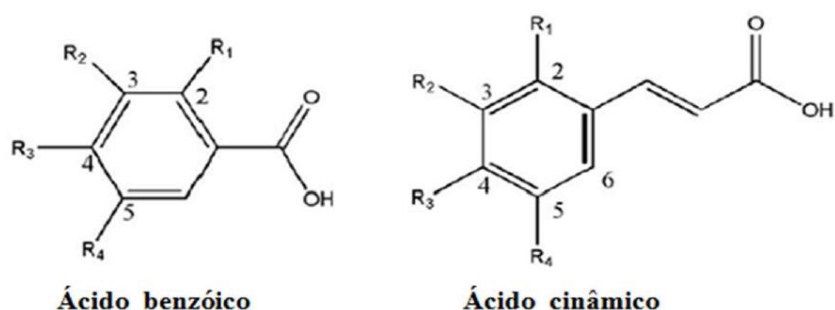


Figura 2 – Estrutura Química dos Ácidos Benzoico e Cinâmico

Fonte: AWIKA; ROONEY, 2004.

Os principais ácidos fenólicos do sorgo, derivados dos ácidos benzoico e cinâmico são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Estrutura Química dos Ácidos Benzoico e Cinâmico

	Ácido benzoico				Ácido cinâmico				
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
Gálico	H	OH	OH	OH	Cafeico	H	OH	OH	H
Gentísico	OH	H	H	OH	Ferúlico	H	OCH ₃	OH	H
Salicílico	OH	H	H	H	<i>O</i> -Cumárico	OH	H	H	H
<i>p</i> -Hidroxibenzoico	H	H	H	OH	<i>P</i> -Cumárico	H	H	OH	H
Siríngico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Sinápico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Protocatéquico	H	OH	OH	H					

Fonte: AWIKA; ROONEY, 2004.

Os flavonoides são metabólitos secundários das plantas, sendo considerados o maior grupo de compostos fenólicos. São caracterizados estruturalmente pela presença do esqueleto básico contendo 15 átomos de carbono na forma C6-C3-C6 (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Na família dos flavonoides estão as antocianinas que compõem um grupo de pigmentos responsável pela coloração de tecidos vegetais. Em grãos de sorgo, elas são denominadas 3-deoxiantocianinas, sendo as principais: luteolinidinas, apigeninidinas e derivados metoxilados, que possuem pouca presença em alimentos (AWIKA; ROONEY, 2004; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; YANG et al., 2009).

Outra vantagem é que, devido à ausência do grupo hidroxila na posição C-3, característica singular da 3-deoxiantocianina, há melhor estabilidade a mudanças de pH no sorgo do que nas frutas e hortaliças (DEVI; SARAVANAKUMAR; MOHANDAS, 2012).

Por ser fonte de compostos fenólicos como 3-deoxiantocianidinas e taninos, que são responsáveis por elevada capacidade antioxidante, o sorgo contribui para a melhora da microbiota intestinal e marcadores relacionados a doenças crônicas como obesidade e câncer (CARDOSO et al., 2017; TAYLOR et al., 2013).

Os compostos bioativos podem sofrer influência de acordo com o tratamento ao qual são submetidos, alterando assim algumas características do grão. Cardoso e colaboradores (2014) avaliaram os efeitos do processamento doméstico com calor seco (forno a 121°C por 25 minutos) e úmido (cocção em água a 100°C por 25 minutos) sobre

os compostos bioativos do sorgo e constataram que o calor seco não afeta o conteúdo das 3-deoxiantocianidinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, mas o mesmo não acontece quando submetidos a tratamentos de calor úmido.

Ainda em relação à estabilidade térmica, os pigmentos das 3-deoxiantocianidinas foram avaliados por Yang, Dykes e Awika (2014), que verificaram boa estabilidade quando submetidos a 95°C por 2 horas e 121°C por 30 minutos.

É importante ressaltar que a quantidade e o perfil de polifenóis contidos no sorgo também variam significativamente em função do genótipo. Os sorgos do tipo vermelho e amarelo, por exemplo, possuem maior quantidade de flavonas que genótipos de sorgo de outras cores como o branco (TALEON et al., 2014; WU et al., 2016).

Outro fator que afeta o conteúdo polifenólico e a atividade antioxidante dos vegetais é o déficit hídrico (COHEN; KENNEDY, 2010). Segundo estudo conduzido por Wu e colaboradores (2017), os níveis totais de polifenóis e a atividade antioxidante do grão de sorgo aumentaram significativamente quando a quantidade de água usada na irrigação foi reduzida.

Além dos compostos fenólicos, outra classe de compostos bioativos encontrados no sorgo são os taninos, que possuem alto peso molecular, sendo do tipo condensado, e conhecidos como proantocianidinas (DYKES; ROONEY, 2006). Segundo Awika e Rooney (2004), os taninos possuem efeitos anticarcinogênicos, antimutagênicos e antimicrobianos possivelmente devido as suas características antioxidantes.

Os taninos do sorgo também fazem ligação com proteínas, carboidratos e outros nutrientes, reduzindo a digestibilidade dos nutrientes, especialmente do amido (BARROS; AWIKA; ROONEY, 2012). Entretanto, podem trazer benefícios à saúde, pois os genótipos de sorgo que possuem taninos possuem maior capacidade antioxidante do que sorgos sem taninos (AWIKA; ROONEY, 2004).

O consumo de alimentos com farinha de sorgo integral vem apresentando potencial de melhorar o status antioxidante e a modulação dos marcadores de estresse oxidativo. Entre os cereais, algumas variedades de sorgo, como os que apresentam testa pigmentada (*Red Swazi*, NS 5511 e Framida), possuem maior quantidade de polifenóis, funcionando como fortes antioxidantes *in vitro* (DLAMINI; TAYLOR; ROONEY, 2007).

A composição do sorgo depende de diversos fatores, sendo o mais importante o genótipo. De acordo com Awika e Rooney (2004), as variedades de sorgo das cores vermelha, marrom e preta são ricas em fitoquímicos que possuem atividade antioxidante.

Ainda, segundo estudo realizado no Brasil por Moraes e colaboradores (2012), com sorgos do tipo branco (BRS 309), marrom (BRS 305) e vermelho (BRS 310), demonstrou-se que o sorgo marrom possui maior concentração de fenólicos totais, taninos condensados, luteolinidina e apigeninidina ($p < 0,05$). Entretanto, a concentração de fitato desse genótipo foi significativamente menor quando comparado aos outros genótipos ($p < 0,05$).

Segundo Ayala-Soto e colaboradores (2015) que analisaram a composição de sorgo branco (TX631 RTx431), marrom (Pioneer 81G67) e vermelho, o sorgo marrom apresentou 35,15mg de tanino enquanto o sorgo vermelho apenas 1,26mg e o sorgo branco não apresentou taninos. Para os fenólicos totais, o sorgo rico em tanino apresentou 41,42mg, o vermelho 7,13mg e o branco 3,68mg.

Em contrapartida, Moraes e colaboradores (2012) apontaram que em relação à concentração de antocianinas e atividade antioxidante, não existem diferenças significativas entre os sorgos branco, marrom e vermelho analisados, BRS 309, BRS 305 e BRS 310, respectivamente. Nesse mesmo estudo *in vivo* com ratos, demonstrou-se que uma dieta contendo farinha de sorgo é eficaz para diminuir inflamação e marcadores de estresse oxidativo (MORAES et al., 2012).

2.1.5. Sorgo e Índice Glicêmico

O Índice Glicêmico (IG) é um parâmetro utilizado para classificar os alimentos que contêm carboidratos de acordo com a resposta glicêmica que promovem em relação à resposta observada após consumo de um alimento referência. A glicose é a referência padrão com valor determinado em 100. Dessa forma, o IG é determinado como a área formada abaixo da curva de resposta glicêmica após o consumo de 50 g de carboidratos de um alimento-teste, dividida pela área abaixo da curva de resposta glicêmica após o consumo do alimento de referência contendo o mesmo teor de carboidratos (WOLEVER et al., 1991).

Segundo Jenkins e colaboradores (2002), dietas de alto IG apresentam menor poder de saciedade, resultando em excessiva ingestão alimentar, favorecendo o aumento do peso corporal. Além disso, podem alterar o perfil lipídico e a secreção insulínica, favorecendo o aparecimento de doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (JENKINS et al., 2002).

A DM2 é uma Doença Crônica Não Transmissível (DCNT) multifatorial, possuindo diversas causas. Entretanto, está fortemente associada à obesidade e à alta

ingestão de carboidratos (BRAY; POPKIN, 2014; CHENG et al., 2013). Segundo Guariguata e colaboradores (2014), a DM2 tem crescido rapidamente nos últimos anos e a tendência é que atinja 592 milhões de pessoas até 2035. Uma maneira de prevenir essa DCNT é controlando o aumento da glicemia por meio de dieta, isso porque a DM2 pode ser causada por uma desregulação da homeostase glicêmica (BRAND-MILLER et al., 2009).

O consumo de alimentos de alto IG leva a uma grande e rápida elevação da glicemia e seu consumo excessivo habitual é associado ao aumento do risco de DM2. Em contrapartida, alimentos com baixo IG possuem carboidratos de digestão lenta, causando uma menor e mais lenta elevação do nível de glicose sanguínea, sendo, portanto, preventivo em relação à DM2 (BHUPATHIRAJU et al, 2014; BRAND-MILLER et al, 2009).

O consumo de alimentos de alto IG pode também favorecer o aumento do apetite, promovendo um balanço energético positivo (BOUCHÉ et al., 2002). Isso porque ocorre uma elevação aguda da glicemia pós-prandial resultando no aumento da secreção insulínica e em seguida uma queda da glicemia, podendo levar a quadros de hipoglicemia. Essa resposta metabólica indica que o organismo está tendo dificuldades para acessar seus substratos energéticos, resultando no aumento da ingestão alimentar (ALFENAS; PAIVA, 2007).

Diversos estudos encontraram associação entre alta ingestão de carboidratos simples (refletida pelo aumento da carga glicêmica da dieta) com aumento do risco de DM2 e cardiopatia isquêmica, assim como um alto consumo de grãos e cereais integrais confere proteção para essas condições (GIUGLIANO et al., 2018; MOZAFFARIAN, 2016).

Segundo Brouns e colaboradores (2005), proteínas, lipídios e fibras alimentares retardam a velocidade de digestão e absorção dos alimentos, resultando em menor elevação da glicemia por serem de menor IG. Além disso, as proteínas podem estimular secreção insulínica, favorecendo assim a redução do IG (GANNON et al., 2003).

Portanto, para reduzir o IG das preparações, pode-se adicionar alimentos ricos em proteínas e fibras, promovendo assim aumento da saciedade e redução da ingestão alimentar (BROUNS et al., 2005).

Gillies e colaboradores (2007), a partir de uma revisão sistemática e meta-análise, concluíram que a modificação de estilo de vida é eficaz para prevenir ou retardar o início

do diabetes entre indivíduos com intolerância à glicose, sendo as intervenções de estilo de vida (dieta e exercício físico) tão eficazes quanto a terapia farmacológica.

Uma dieta com redução de carboidratos e de baixo IG demonstra melhoria significativa na glicemia de jejum, insulina de jejum, hemoglobina A1c e favorece a perda de peso, quando comparada a uma dieta normoglicêmica (WESTMAN et al., 2008).

A composição nutricional da dieta e a distribuição de macronutrientes influenciam os componentes individuais da Síndrome Metabólica (SM), e estudos têm investigado a melhor composição da dieta para atuar em todos os fatores de risco cardiovascular presentes na SM. Pesquisas mostram que dietas com redução de carboidratos e aumentadas em proteína reduzem os níveis plasmáticos de triglicerídeos e aumentam o colesterol HDL (KRAUSS et al., 2006; MCAULEY et al., 2005). Portanto, dietas com maior quantidade de proteína, em especial de origem vegetal, podem ser mais eficazes para melhorar o perfil lipídico e a ação da insulina (KRAUSS et al., 2006; MCAULEY et al., 2005; ABETE et al., 2010).

Além disso, o consumo elevado de alimentos ricos em antioxidantes, incluindo frutas e hortaliças, bem como alimentos ricos em gorduras insaturadas e proteínas, sobretudo de fontes vegetais ou carnes magras, aliada à ingestão equilibrada de carboidratos de baixo IG e baixa ingestão de gordura saturada e trans, em combinação com exercício regular pode ser benéfico para a prevenção e controle das DCNTs (SCHUSTER; OLIVEIRA; DAL BOSCO, 2015).

O endosperma do sorgo possui um amido com perfil de digestão mais lento quando comparado a outros cereais, tal propriedade demonstra, portanto, modular a resposta glicêmica pós-prandial em humanos (SIMNADIS; TAPSELL; BECK, 2016).

Segundo a revisão sistemática realizada por Simnadis, Tapsell e Beck (2016), a resposta glicêmica favorável induzida pelo consumo de sorgo é similar em magnitude quando comparada à diminuição da glicose induzida pelo consumo de grãos ricos em beta-glucana como aveia e cevada (TOSH, 2013).

A digestibilidade do amido nas farinhas de sorgo e milho é influenciada pelo vítreo do endosperma e os efeitos são mais pronunciados no sorgo. Ou seja, a digestão do sorgo parece ser resultado do acesso reduzido da alfa-amilase ao amido devido à formação de uma rede proteica mais complexa e restritiva nesse cereal (EZEUGU; DUODU; TAYLOR, 2005).

Segundo revisão sistemática realizada por Simnadis e colaboradores (2016), a resposta glicêmica favorável tem relação com a presença e a digestibilidade do amido.

Estudos *in vitro* conduzidos por Yousif e colaboradores (2012) e Khan e colaboradores (2014), respectivamente, demonstraram diminuição da digestibilidade do amido em pães sírios preparados com sorgo e verificaram uma correlação inversa entre a digestibilidade do amido e o teor de sorgo de massa. Ou seja, a adição de sorgo a produtos alimentícios é capaz de reduzir a digestibilidade do amido e quanto maior a adição, menor a digestibilidade.

Um estudo *in vivo* conduzido por Poquette, Gu e Lee (2014), que tinha como um dos objetivos verificar a resposta glicêmica e insulinêmica pós prandial depois do consumo de *muffin* com farinha de sorgo (variedade rica em amido resistente e amido de lenta digestão) demonstrou que o consumo de *muffins* de sorgo contribuíram para a atenuação da glicemia e respostas à insulina quando comparados aos *muffins* elaborados com farinha de trigo integral.

Outras pesquisas também mostram que alguns genótipos de sorgo possuem alta concentração de taninos e compostos fenólicos que estão associados à inibição enzimática e interação com a molécula de amido. Sendo assim, há impacto na digestibilidade do amido, aumento do amido resistente e diminuição do IG em alimentos (LEMLIOGLU-AUSTIN et al, 2012; MKANDAWIRE et al, 2013).

O amido resistente possui efeitos fisiológicos benéficos como redução da glicemia pós-prandial e dos níveis de LDL e triglicerídeos plasmáticos. Isso porque como o amido resistente não é digerido no intestino delgado, ele se torna disponível como substrato para a fermentação das bactérias anaeróbicas do cólon, trazendo, portanto, benefícios similares aos das fibras alimentares no trato digestório (QUEIROZ, 2009).

Um estudo *in vivo* conduzido por Prasad e colaboradores (2015) que comparou o IG de produtos como semolina, macarrão, biscoito e cereal matinal à base de farinha de sorgo com farinhas de trigo, arroz e semolina verificou que os produtos à base de sorgo apresentaram menor IG. Tal fato é devido a menor resposta glicêmica produzida pela digestão lenta de carboidrato, diminuindo, portanto, a absorção de glicose na circulação.

Segundo Moraes e colaboradores (2015), o índice glicêmico estimado do sorgo de pericarpo marrom (genótipo SC 21) foi negativamente correlacionado ao conteúdo fenólico, especificamente flavonoides e atividade antioxidante, fibra dietética (solúvel e insolúvel) e beta-glucana. Isso porque os genótipos de sorgo do tipo marrom possuem uma espessa camada pigmentada abaixo do pericarpo, chamada de testa, possuindo maior concentração de fenólicos totais, taninos e atividade antioxidante.

De acordo com Pineli e colaboradores (2015), apesar da grande diversidade e variedade de sorgos, os estudos com sorgo em produtos sem glúten são focados em farinhas comerciais de sorgo branco ou vermelho. Outro ponto importante é que ainda existem poucas pesquisas que associam o uso do sorgo aos taninos, outros compostos fenólicos e amido resistente. Sendo assim, são necessários mais estudos com sorgo devido às suas características nutricionais e sensoriais para desenvolvimento de produtos sem glúten de qualidade e para entender as respostas glicêmica e insulinêmica desses produtos sem glúten e à base de sorgo.

2.2. Alternativas de produtos sem glúten

A intolerância ao glúten, também conhecida como sensibilidade ao glúten, hipersensibilidade ao glúten e intolerância ao glúten não celíaca é uma síndrome que tem aumentado sua prevalência nos últimos anos (SAPONE et al., 2012; BIESIEKIERSKI et al., 2011).

Essa intolerância é mais comum no sexo feminino e em adultos e parece ter maior incidência que a DC, que atinge cerca de 1% da população mundial. Estima-se que atinja até 6% da população (DI SABATINO; CORAZZA, 2012; CATASSI et al., 2013; AZIZ et al., 2014; VOLTA et al., 2014).

Os sintomas são diversos, sendo alguns similares à DC como diarreia, anemia e perda de peso. Outros sintomas podem ser dor abdominal, náusea, eritema, cefaleia, cansaço crônico e depressão (SAPONE et al., 2012).

O tratamento se dá pela retirada do glúten da dieta, fazendo com que haja uma regressão completa dos sintomas (SAPONE et al., 2012; BIESIEKIERSKI et al., 2011; VERDU; ARMSTRONG; MURRAY, 2009).

Diferentemente da intolerância ao glúten, a DC é uma enteropatia autoimune desencadeada pelo glúten em indivíduos geneticamente suscetíveis (LIONETTI; CATASSI, 2011). Segundo diretrizes, o diagnóstico deve ser baseado na combinação de um teste sorológico positivo para DC e uma pequena biópsia do intestino delgado que mostre anormalidades nos vilos (HUSBY et al., 2012; WGO, 2016).

O indivíduo portador de doença celíaca pode ou não apresentar sintomas, sendo os sintomas gastrointestinais clássicos, diarreia, esteatorreia e perda de peso devido à má absorção de nutrientes. Aproximadamente 50% dos portadores apresentam outros sintomas como anemia, osteoporose e problemas neurológicos (RAMPERTAB et al., 2006; TURSI et al., 2001).

Nos últimos 20 anos, a DC se tornou um problema de saúde pública. Um estudo realizado por Singh e colaboradores (2018) mostrou que sua prevalência é de 0,7% variando de acordo com sexo, idade e localização geográfica. Nesse estudo verificou-se que no Brasil essa prevalência está entre 0,2 e 4%. Entretanto, é importante ressaltar que em mulheres a prevalência de DC é 1,5 vezes maior que em homens e em crianças é o dobro quando comparada aos adultos.

O tratamento da DC é a dieta isenta de glúten por toda a vida (HAINES; ANDERSON; GIBSON, 2008). Sendo assim, nos últimos anos, tem aumentado o interesse da indústria em desenvolver produtos isentos de glúten. Alguns cereais menos conhecidos como sorgo, quinoa e amaranto têm aparecido como boas alternativas (ALVAREZ-JUBETE; ARENDT; GALLAGHER, 2010; TAYLOR; EMMAMBUX, 2008).

De acordo com Srichuwong e colaboradores (2017), cereais e pseudocereais como sorgo, quinoa e amaranto podem ser usados na indústria alimentícia devido ao potencial de melhorar textura e valores nutricionais devido à sua composição. Um estudo conduzido por Taylor e colaboradores (2014) mostrou que os grãos de sorgo, quinoa e amaranto são ricos em diversos fitoquímicos que possuem antioxidantes e atividade de eliminação de radicais livres.

Na Ásia, África e América do Sul, esses mesmos cereais são utilizados como farinhas integrais sendo substratos para a produção de grande variedade de comidas fermentadas e bebidas (HAMMES et al, 2005; TAYLOR; EMMAMBUX, 2008).

As características dos cereais são fundamentais para seu uso em produtos alimentícios. A maior parte de sua composição é o amido, que desempenha um papel crítico nas propriedades tecnológicas das farinhas devido a sua transformação físico-química e interação com outros ingredientes. Por exemplo, em massas e produtos de panificação, os grânulos de amido representam a fase descontínua porque são distribuídos de acordo com a fase contínua que é a rede de glúten (ROBIN; PALZER, 2015).

Nos produtos sem glúten, o amido tem papel fundamental, conferindo estrutura, textura e estabilidade ao produto final (HAMMES et al, 2005). Segundo Srichuwong e colaboradores (2017), além do amido, outros fatores como fibras dietéticas, lipídios, micronutrientes e fitoquímicos interferem nas propriedades da farinha integral de cereais.

2.3. Sorgo na panificação

Um estudo conduzido por Yousif e colaboradores (2012) avaliou o uso de farinha integral de sorgo branco e vermelho como substituto parcial da farinha de trigo refinada em pães sírios e demonstrou que quando comparada à farinha de trigo refinada, as farinhas de sorgo apresentavam menos proteínas e fibras totais e valores similares de lipídios e carboidratos.

Segundo Goodall e colaboradores (2012), as prolaminas do sorgo, chamadas de kafirins, são consideradas similares as do milho, porém, menos digeríveis. Além disso, as cadeias polipeptídicas das proteínas do sorgo são extremamente curtas e ligadas, o que dificulta a interação proteína-proteína, afetando a coesividade e a capacidade de retenção de gás nas massas de sorgo (TAYLOR; BELTON, 2002). Além disso, o conteúdo de amido e outros polissacarídeos deve ser considerado para avaliar o potencial tecnológico das farinhas de sorgo na produção de pães.

Ainda em relação ao amido, Barros et al. (2012) demonstraram que as interações entre o amido e os compostos fenólicos e taninos diminuem a digestibilidade do sorgo *in vitro*. Essa é uma propriedade importante, pois o uso de grãos com taninos pode resultar em produtos sem glúten com baixo IG.

Em outro estudo conduzido por Barros et al. (2014), verificou-se que as proantocianidinas do sorgo modificam naturalmente o amido devido à forte interação com a amilose, tornando possível a produção de alimentos ricos em amido resistente.

Portanto, existem diversas vantagens nutricionais quando se trata do sorgo e o maior desafio da indústria alimentícia em relação aos produtos isentos de glúten é melhorar as propriedades sensoriais, principalmente a textura. Assim, é crucial conhecer a relação entre a estrutura e a função do sorgo que ainda é pouco conhecida (ROBIN; PALZER, 2015; SCHAFFER-LEQUART et al., 2015; ALVAREZ-JUBETE et al., 2010; HAGER et al., 2012).

Outro desafio é produzir produtos sem glúten com baixo IG, ou seja, escolher substitutos ao glúten que além de conferirem características sensoriais desejáveis, colaborem para melhorar o metabolismo da glicose. Um estudo conduzido por Romão et al. (2020) analisou 12 amostras de pães sem glúten comerciais, e apenas 4 amostras eram de pães integrais ou multigrãos ricos em fibras (teor de fibras alimentares $\geq 6\text{g}/100\text{g}$). Sendo que 58% dos pães apresentaram alto IG e os outros 42% médio IG, mesmo as versões integrais. O estudo demonstra a constante importância de buscar substitutos ao glúten que não somente compensem as características de textura e sabor dos produtos.

Apesar dos grãos de sorgo, quinoa e amaranto serem considerados ingredientes com grande potencial para o desenvolvimento de produtos sem glúten, sua utilização na indústria de alimentos ainda é bem limitada devido a fatores como disponibilidade, desenvolvimento da produção, preço e pesquisas (SRICHUWONG et al., 2017). Em contrapartida, ocorreu um aumento da demanda de produtos sem glúten e o uso de sorgo começou a surgir em países desenvolvidos, segundo Adiamo, Falawe e Olawoye (2017).

2.3.1. Importância do sorgo no desenvolvimento de produtos sem glúten

Segundo Queiroz e colaboradores (2009), devido as suas características nutricionais e sabor suave, a farinha de sorgo vem se tornando cada vez mais comum em produtos de panificação sem glúten. Entre as tendências de produtos sem glúten com sorgo estão: pão, massas, biscoitos, alimentos infantis, cerveja, barras de cereais e *cookies* (QUEIROZ et al., 2011; MORAES et al., 2012; MARTINO et al., 2012; SOARES et al., 2019).

Diversas pesquisas têm estudado a utilização do sorgo no desenvolvimento de produtos alimentícios como pães (SCHOBER et al., 2005; SCHOBER; BEAN; BOYLE, 2007), tortilha (ROONEY; WANISKA, 2000), macarrão (ROONEY; WANISKA, 2000; FERREIRA et al., 2016; LIU et al., 2012), barra de cereais com pipoca de sorgo (QUEIROZ et al., 2015), bolo de sorgo com banana (QUEIROZ et al., 2015), alimentos infantis (MOHAMMED et al., 2011), churros (QUEIROZ et al., 2020), *cookies* e pastéis (QUEIROZ et al., 2015; SOARES et al., 2019).

O estudo conduzido por Schober e colaboradores (2005) comparou a qualidade de pães sem glúten elaborados com 10 tipos de farinhas de sorgo, sendo utilizado 70% de farinha de sorgo e 30% de fécula de batata na composição. Os sorgos usados foram: vermelho (genótipos MNO2 INC 5 e MNO2 INC 9) e branco (farinha de sorgo branca comercial e genótipos MNO2 INC 6, MNO2 INC 7, GS 2799, GS 2801, GS 2802, 1486, NK 8828). Após as análises verificou-se que as maiores diferenças entre os genótipos de sorgo para a produção dos pães sem glúten ocorreram em relação à estrutura da crosta formada, entretanto, não houve diferenças significativas em relação ao volume e peso dos pães. No que diz respeito à tecnologia do pão de sorgo, maiores volumes de pão podem ser alcançados quando se adiciona amido de milho à farinha de sorgo e se produz uma massa macia (de baixa viscosidade) com alto teor de água.

Já na pesquisa de Schober, Bean e Boyle (2007), foram desenvolvidos pães sem glúten com farinha de sorgo branco sem tanino (*Twin Valley Mills, Ruskin, NE*). Os pães

foram elaborados com 70% de farinha de sorgo e 30% de fécula de batata, tendo como objetivo verificar possíveis melhoras bioquímicas, reológicas e microestrutural com uso de farinha de sorgo fermentada. Os autores concluíram que foi possível produzir pães de sorgo de melhor qualidade com o uso de hidroxipropilmetilcelulose e farinha de sorgo fermentada. Além disso, os pães que foram elaborados com farinha de sorgo sem fermentação apresentaram um alvéolo maior no centro da crosta do pão.

Segundo Dahlberg e colaboradores (2004), a composição de amido do sorgo é adequada para o desenvolvimento de produtos de panificação saudáveis e isentos de glúten. Da mesma forma, um estudo de revisão conduzido por Adiamo et al. (2018) que analisou a produção de produtos de sorgo sem glúten, concluiu que o sorgo se mostrou uma boa opção para produtos sem glúten como pães, massas, cookies, salgadinhos, alimentos infantis e cerveja, além de possuir melhor qualidade nutricional em relação ao trigo.

Um estudo realizado por Trappey e colaboradores (2014) com sorgo branco (Fontanelle D-1000-7) demonstrou que a composição da farinha de sorgo e sua granulometria afetam a qualidade do pão sem glúten. Foram preparados pães sem glúten com 70% de farinha de sorgo branco e 30% de fécula de batata e verificou-se que o uso de farinha de sorgo com menor teor de fibras e granulometria é capaz de produzir pães sem glúten com melhores características como volume, estrutura do miolo, cor e textura.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

- ✓ Analisar a composição química e as respostas glicêmica, insulinêmica e antioxidante de indivíduos após consumo dos pães de sorgo de diferentes genótipos sem glúten.

3.2. ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar o teor de amido resistente dos pães de sorgo;
- ✓ Determinar o teor de fibras alimentares dos pães de sorgo.
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante dos pães de sorgo;
- ✓ Analisar a capacidade antioxidante dos pães de sorgo no sangue;
- ✓ Determinar os índices glicêmico e insulinêmico dos pães de sorgo;

- ✓ Analisar o comportamento da resposta glicêmica e insulinêmica pós-prandial dos pães de sorgo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa trata de um ensaio clínico randomizado, cruzado, duplo-cego. Este estudo é fruto da parceria entre o Departamento de Nutrição da Universidade de Brasília (UnB) e a EMBRAPA Sorgo, com fomento da Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF). O estudo foi dividido em duas etapas: (i) elaboração, análise de composição e atividade antioxidante dos pães com diferentes genótipos de sorgo; (ii) estudo clínico para avaliação das respostas glicêmica e insulinêmica dos pães de sorgo sem glúten.

4.1. Elaboração, análise de composição e atividade antioxidante dos pães

4.1.1. Elaboração dos pães sem glúten a base de sorgo e de arroz

A primeira etapa do estudo consistiu na escolha dos genótipos de sorgo. Essa escolha ocorreu com base em estudo realizado anteriormente por Andrade de Aguiar et al (2020), vinculado ao pelo Programa de Pós-graduação em Nutrição Humana da UnB. Para isso, foram escolhidos três genótipos de sorgo com características diferentes em relação à composição de antioxidantes e taninos, e os respectivos pães desenvolvidos que tiveram melhor aceitação pelos voluntários dessa pesquisa, sendo eles sorgo marrom (BR 305), bronze (BRS 332) e branco (BRS 501).

Os grãos de sorgo foram cedidos pela EMBRAPA Sorgo (Sete Lagoas – MG) para a realização da pesquisa. Após a seleção dos três genótipos, os pães de sorgo sem glúten foram elaborados.

Para a elaboração dos pães sem glúten e com sorgo, os grãos de sorgo foram transformados em farinha utilizando-se o equipamento Thermomix® (Vorwerk TM6, Alemanha) na velocidade 10 por 3 minutos, dessa forma a farinha se tornou homogênea e atingiu granulometria similar à farinha de arroz (industrializada).

Como pão controle sem glúten, escolheu-se um pão a base de farinha de arroz (*Oryza sativa*) por ser um tipo de farinha muito utilizada em produtos sem glúten comercializados no Brasil. Os pães a base de arroz (controle) e sorgo, todos sem glúten,

foram produzidos segundo as Fichas Técnicas de Preparação (anexo 1) estabelecidas pelo grupo de pesquisa em outro experimento conduzido no Laboratório de Técnica Dietética da Universidade de Brasília (ANDRADE DE AGUIAR et. al, 2020). A formulação com o percentual dos ingredientes está descrita na tabela 2.

Tabela 2 – Porcentagem de ingredientes das formulações de pães sem glúten utilizados no estudo.

Ingredientes	Porcentagem (%)
Farinha*	22,36
Fécula de batata	10,06
Ovo	6,04
Óleo de soja	5,36
Polvilho doce	4,14
Açúcar mascavo	3,80
Clara de ovo	3,69
Fermento biológico seco instantâneo	1,12
Sal	0,56
Goma xantana	0,39
Água	42,48

*Arroz ou sorgo.

4.1.2. Análise da composição química dos pães

Foram realizados testes bromatológicos em triplicata para determinação da composição química dos pães de sorgo e do pão de arroz (controle). Foram analisados: umidade (*AOAC Official Method 925.09*), cinzas (*AACC Official Method 08-03.01*), proteínas (*AACC 46-13*), lipídios, amido resistente (AR), fibra alimentar (*AOAC Official Method 985.29*) e atividade antioxidante dos quatro tipos de pães. Todos os pães foram produzidos no dia anterior às análises sendo armazenados em plásticos para alimentos em temperatura ambiente. Os protocolos das análises estão nos anexos 2 a 7.

Foi possível determinar umidade por secagem direta em estufa a 105°C (anexo 2), cinzas em mufla a 550°C (anexo 3), proteínas pelo método de *Kjedahl* (anexo 4) e lipídios pelo método de *Soxhlet* (anexo 5).

As fibras foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico que se baseia na gelatinização e hidrólise parcial do amido com α -amilase termoresistente, seguida de hidrólise de parte das proteínas com protease e hidrólise do amido residual com amiloglucosidase (*AOAC Official Method 985.29*).

Para a determinação do amido resistente foi utilizado o protocolo *AOAC Method 2002.02* e *AACC Method 32-40.01*. As amostras foram incubadas com solução de α -amilase pancreática e amiloglucosidase (AMG) em equipamento com rotação de 200 rpm a 37°C por 16 horas. A reação foi parada com a adição da solução *GOPOD* (glicose oxidase + peroxidase e 4-aminoantipirina). As soluções padrão de D-glicose foram preparadas em quadruplicata misturando 0,1mL de D-glicose (1 mg/ml) e 3mL de reagente *GOPOD*. O branco foi preparado com 0,1mL de tampão de acetato de sódio (pH 4,5) e 3mL de reagente *GOPOD*. Todos os tubos foram colocados no banho maria a 50°C com rotação de 200 rpm por 20 minutos. Por fim, foi medida a absorvância de cada solução em espectrofotômetro a 510nm (McCLEARY; McNALLY; ROSSITER, 2002). O protocolo completo está no anexo 6.

Por fim, os carboidratos foram determinados por diferença: 100 – (peso em gramas [proteínas + lipídios + cinzas + fibras + AR] em 100g de amostra). As análises para determinação da composição nutricional dos pães foram realizadas antes da etapa experimental com os voluntários. Isso porque era necessário que cada porção consumida pelos indivíduos possuísse 50g de carboidrato disponível.

4.1.3. Análise da atividade antioxidante dos pães

A análise da atividade antioxidante dos pães foi realizada pelo método de ORAC (do inglês, *Oxygen Radical Absorbance Capacity*) que mede a capacidade de absorção de radicais de oxigênio. O método de ORAC determina a capacidade de absorção de radicais de oxigênio por meio da construção de uma curva de decaimento da fluorescência em função do tempo.

Para o método de ORAC foram utilizados: tampão fosfato com pH 7,4; 2-fluoresceína $16,371 \cdot 10^{-8}$ mol/L; *AAPH* 178 mmol/L (Dicloridrato de 2,2'-Azobis(2-amidinopropano)); e trolox. As amostras foram incubadas a 37°C por 10 minutos e as leituras realizadas a cada 60 segundos em espectrofotômetro nos comprimentos de onda

485 a 520nm (ALBARICI; FREITAS; PESSOA, 2009). O protocolo completo da análise de atividade antioxidante pelo método de ORAC está no anexo 7 (SINGLETON; ROSSI, 1965; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; WANG; CAO; PRIOR, 1997).

4.2. Estudo clínico

4.2.1. Definição do público e recrutamento

Foram recrutados adultos saudáveis do sexo masculino entre 20 e 45 anos para participar da pesquisa. Para realização do cálculo amostral foi utilizado o programa *G Power* versão 3.1.9.2 (Universidade de Düsseldorf, Alemanha) adotando poder estatístico de 90% e nível de significância de 5%, assumindo os níveis de glicose como a primeira variável do estudo e com base no resultado de Poquette, Gu e Lee (2014), no qual resultou em nove participantes em cada grupo experimental. Os sujeitos que por ventura se desligaram do estudo foram recolocados por novo recrutamento e seguiram com uma nova randomização.

O recrutamento foi realizado por meio da distribuição de cartazes e panfletos públicos e divulgação da pesquisa em redes sociais. Foram selecionados 13 indivíduos adultos jovens com 28 anos \pm 4,88 saudáveis. A participação se deu de maneira voluntária e os participantes não recebiam pela participação. Os participantes foram avaliados por meio de questionário de saúde que se encontra no apêndice 1. Aqueles que possuíam histórico de doenças cardiovasculares, metabólicas e gastrointestinais, em uso de medicamentos, portadores de asma, diabetes *mellitus*, hipertensão arterial sistêmica e tabagistas foram excluídos da amostra. Além disso, foram considerados os seguintes critérios de inclusão: não apresentar flutuação de peso \geq 5 kg nos últimos três meses; não apresentar distúrbios do sono e nem utilizar medicamentos para esse fim; não apresentar alergia aos alimentos fornecidos durante o estudo. Os voluntários foram orientados a manter constante o nível de atividade física e os hábitos de vida durante a pesquisa.

4.2.2 Desenho experimental

O protocolo do presente estudo foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília, sendo aprovado sob o CAAE 58257416.1.0000.0030. Todos os voluntários foram esclarecidos quanto aos objetivos da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

O estudo realizado foi um ensaio clínico randomizado cruzado duplo-cego, em que 11 indivíduos participaram de cinco etapas experimentais com intervalo de 3 a 15 dias entre elas. Entretanto, foram utilizados os dados de 10 indivíduos, pois um foi excluído da amostra.

Cada sujeito participou de forma aleatória de cinco sessões. Uma das sessões foi realizada no laboratório de análises clínicas parceiro do estudo, em Brasília (DF), com consumo de 50g glicose anidra – curva padrão. As demais sessões foram realizadas na sala de coleta do Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Nutrição na UnB. Em cada sessão na UnB os voluntários consumiram um tipo de pão. Em três dias de experimento foram consumidos os pães de sorgo (pericarpo branco, marrom ou bronze) e em outro dia o pão controle (à base de farinha de arroz), todos contendo 50g de carboidrato disponível por porção, sendo 112g, 127g, 136g e 133g de pão controle, de sorgo marrom, bronze e branco, respectivamente.

Os pães foram produzidos na véspera do experimento, armazenados em sacos plásticos para alimentos em temperatura ambiente, e codificados. O cegamento dos voluntários e da pesquisadora responsável foi feito por meio da não especificação de qual pão foi consumido no momento do experimento.

Os voluntários se apresentaram ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição (Departamento de Nutrição da UnB) entre 7 e 8 horas da manhã, em jejum de 12h para a realização dos experimentos. Eles foram instruídos a não ingerir bebida alcoólica e não realizar exercícios físicos não habituais por 24 horas antecedentes ao teste e a ingerir uma refeição normoglicídica na noite anterior. Para a coleta de sangue das curvas glicêmica e insulinêmica padrão (glicose anidra), os voluntários se apresentaram no Laboratório de análises químicas parceiro seguindo as mesmas orientações.

Nos dias das etapas experimentais, foi determinada a glicemia capilar de jejum (GCJ), registrado o número de horas de sono na noite anterior, o horário da última refeição no dia anterior e aplicado um recordatório alimentar de 24h. Os recordatórios 24h foram calculados por meio da plataforma CalcNut (DA COSTA, s.d.) para verificar ingestão calórica e distribuição de macronutrientes e fibras de cada dia anterior às coletas no Laboratório de Bioquímica da Nutrição. A GCJ foi avaliada por punção digital, utilizando glicosímetro e fita reagente Accu-check Performa (Roche Diagnostics, Suíça), a fim de confirmar o estado de jejum.

Em cada etapa do estudo, os voluntários ingeriram um dos alimentos testes no período de 10 minutos podendo consumir até 100mL de água para ajudar no consumo.

Nos tempos 0 (imediatamente antes da ingestão, em jejum), 15, 30, 45, 60, 90, 120 e 180 minutos após o consumo foram realizadas coletas de sangue para avaliação do metabolismo da glicose (glicose e insulina). Nos tempos 0, 60, 120 e 180 minutos foi coletado sangue para avaliação da capacidade antioxidante do plasma sanguíneo. Foi permitido ao voluntário durante a realização do experimento ler, ouvir música, assistir televisão, usar computador e, eventualmente, utilizar o banheiro do laboratório.

4.2.3. Avaliação Antropométrica

No primeiro dia de teste, foram aferidos inicialmente peso, altura e percentual de gordura corporal. Para o peso, foi utilizada balança eletrônica digital do tipo plataforma, com capacidade para 150 kg e precisão de 5g (*OMRON* modelo HN-289, China). A estatura foi medida utilizando um estadiômetro compacto portátil milimetrado, com extensão de 210 cm e escala de 0,1cm, fixado à parede (*Wiso* modelo E210, China). Para a determinação do peso e da estatura, os voluntários estavam posicionados em pé, em posição firme, com os braços relaxados, cabeça no plano horizontal e com o mínimo de roupa possível. Foi calculado o valor do índice de massa corporal (WHO, 2000). O percentual de gordura corporal foi determinado por bioimpedância de quatro pontos (*Body Composition Analyzer – Quantum II*, RJL Systems, EUA) na qual o voluntário foi orientado a estar em jejum de 12 horas e não consumir nenhum tipo de líquido durante esse mesmo período e esvaziar a bexiga imediatamente antes do teste. O cálculo foi realizado com planilha no Excel de acordo com os dados de resistência e reatância (LUKASKI et al., 1985).

4.2.4. Análise de glicose e insulina no plasma

Nos tempos determinados previamente, foram coletados quatro mL de sangue venoso em tubo tipo soro para análise da glicemia e insulina. Todas as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm por 15 minutos à 4°C. Após isso, os tubos foram armazenados em gelo para manter a temperatura de 4°C e encaminhados ao laboratório de análises clínicas parceiro da pesquisa. A análise de glicose e insulina no plasma foi realizada pelos métodos de hexoquinase (ADVIA, modelo 2400, Siemens Healthcare Diagnósticos S.A., Brasil) e quimioluminescência (ADVIA, modelo Centauro, Siemens Healthcare Diagnósticos S.A., Brasil), respectivamente (HENRY, 2007). A sensibilidade da glicose oxidase foi de 0,12 mmol/L (com coeficiente de variação intra-análise de 0,41%) e o da insulina de 1,39 pmol/L (com coeficiente de variação intra-análise de 1,9%).

4.2.5. Análise da capacidade antioxidante

Nos tempos determinados (0, 60, 120 e 180 minutos) foram coletados três mL de sangue venoso em tubo tipo EDTA adicionados de glutathiona reduzida (GSH) 0,65 mmol/L para análise de antioxidante no plasma. Em seguida as amostras foram centrifugadas (4.000 rpm por 15 minutos à 4°C) sendo imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C para posterior análise. As análises foram realizadas de acordo com o método de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

A capacidade antioxidante foi estimada pela medida do aumento da absorbância causada pela formação de íons ferrosos a partir do reagente FRAP contendo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) e FeCl₂.6- H₂O. A absorbância foi medida por espectrofotômetro a 593nm. O método descrito por Benzie & Strain (1996) envolve o uso de amostras de sangue coletadas em tubos heparinizados. Três mL do reagente FRAP recém preparado a 37°C [1mL solução (10mM de 2,4,6,TPTZ) em 40nM de HCl, 1mL de solução 20mM FeCl₂.6- H₂O, 10mL de 0,3 M tampão acetato (pH 3.6)] foi misturado com 0,375mL de água destilada e 0,025mL das amostras de plasma.

Para análise do FRAP, o reagente FRAP foi preparado a partir de 25mL de tampão acetato 0,3mol/L pH 3,6; 2,5mL da solução de 2,4,6-tripiridil-s-triazina 10nmol/L em ácido clorídrico 40mmol/L; e 2,5mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20mmol/L, sendo usado imediatamente após a sua preparação.

A absorbância da cor desenvolvida na camada orgânica foi medida a 593nm. A temperatura é mantida a 37°C em banho-maria. As leituras foram realizadas imediatamente após a mistura do reagente FRAP ao plasma (tempo 0) e após 4 minutos. A diferença entre as leituras (tempo 0 e tempo 4) são usadas para os cálculos dos valores de FRAP.

Para a quantificação da capacidade antioxidante do plasma foi construída uma curva padrão utilizando solução padrão aquosa de sulfato ferroso na faixa de concentração de 100 a 2.000 µmol/L. O FRAP foi expresso em µmol/L. Os resultados foram expressos em µmol Fe/L. O protocolo de análise da capacidade antioxidante pelo método de FRAP está descrito no anexo 8 (PULIDO; BRAVO; SAURA-CALIXTO, 2000).

4.2.6. Determinação dos Índices Glicêmico e Insulinêmico

Inicialmente foi calculada a área positiva abaixo da curva (AAC) da resposta glicêmica e insulinêmica pelo método trapezoidal, conforme o proposto pela *Food and Agriculture Organization* (FAO, 1998), utilizando planilha no Excel®. Em seguida, o

valor da AAC obtido da glicose anidra foi estipulada como o padrão assumindo o valor de 100. Para obtenção dos índices glicêmicos dos pães de sorgo e controle, foi calculado a proporção entre os valores da AAC de cada pão (de sorgo e controle) com a glicose padrão (FAO, 1998). O índice insulinêmico foi calculado da mesma forma utilizando os valores de insulina (FAO, 1998). A classificação do IG foi feita de acordo com os critérios (IG alto ≥ 70 ; IG intermediário 56–69; IG baixo ≤ 55) previamente estabelecidos por Brand-Miller et al. (2009).

4.3.1. Análises estatísticas

Os testes de Levene e Shapiro–Wilk foram utilizados para determinar a homogeneidade de dados de variância e normalidade, respectivamente. Os resultados foram analisados tanto quanto à composição dos pães e suas atividades antioxidantes (ORAC) quanto à resposta glicêmica e insulinêmica e à capacidade antioxidante *in vivo* (FRAP). Para comparação entre os grupos (pão controle e genótipos de sorgo marrom, bronze e branco) em relação à composição dos pães, status antioxidante (ORAC e FRAP) e AAC da glicose e da insulina, foi feita a análise de variância (ANOVA) de uma via com teste post-hoc de Tukey. Já para comparação entre os grupos em relação às respostas glicêmica e insulinêmica foi aplicada a ANOVA de duas vias com medidas repetidas com teste post-hoc de Bonferroni quando houve diferença significativa entre os estímulos e o tempo. O tamanho do efeito das respostas de glicose e insulina e AAC de glicose e insulina foram calculados usando η^2 (Eta ao quadrado) (LAKENS, 2013). Para avaliação do consumo alimentar dos voluntários nos dias anteriores a cada experimento no Laboratório de Bioquímica da Nutrição, foi aplicada ANOVA de uma via para os recordatórios 24h em relação ao VET, distribuição de macronutrientes e consumo de fibras. As análises estatísticas foram conduzidas usando o programa *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 21 (SAS Institute, Inc., EUA). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (bicaudal). Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão para os dados relativos aos voluntários e dados dos pães, já os resultados bioquímicos foram apresentados como média \pm erro padrão.

5. RESULTADOS

5.1. Análise da composição dos pães

A figura 3 apresenta as fotos dos pães sem glúten utilizados no estudo.



Figura 3 – Pães de arroz, sorgo marrom, bronze e branco utilizados na pesquisa

A composição de nutrientes e a atividade antioxidante dos pães de sorgo e arroz estão demonstradas na tabela 3.

Tabela 3 – Composição química e atividade antioxidante das amostras de pão controle (arroz) e de sorgo, expressas em g/100g em base seca.

	Controle	Marrom	Bronze	Branco
Energia (kcal)**	240	206	220	206
Carboidrato*	37,51 ± 0,85 ^c	31,68 ± 0,54 ^b	29,29 ± 0,56 ^a	30,60 ± 0,39 ^b
Amido resistente	3,05 ± 0,05 ^b	1,77 ± 0,12 ^a	2,75 ± 0,19 ^b	1,55 ± 0,06 ^a
Fibra alimentar	3,96 ± 0,03 ^a	5,79 ± 0,03 ^d	4,71 ± 0,13 ^b	5,48 ± 0,03 ^c
Proteína	5,36 ± 0,52 ^a	5,42 ± 0,24 ^a	6,13 ± 0,15 ^b	5,36 ± 0,18 ^a
Lipídio	7,58 ± 0,00 ^a	6,41 ± 0,08 ^b	8,68 ± 0,00 ^d	6,87 ± 0,00 ^c
Cinzas	1,51 ± 0,00 ^b	1,53 ± 0,00 ^b	1,52 ± 0,02 ^b	1,35 ± 0,00 ^a
Umidade	40,97 ± 0,73 ^a	47,42 ± 0,91 ^b	46,94 ± 0,74 ^b	48,80 ± 0,46 ^b
ORAC (µmol TE/g)	25.60 ± 2.77 ^a	45.49 ± 2.07 ^b	30.84 ± 0.28 ^a	22.41 ± 3.04 ^a

*Carboidratos totais por diferença: 100 – (peso em gramas [proteínas + lipídios + cinzas + fibras alimentares + AR] em 100g de amostra) (FAO, 2003).

** Energia (kcal) calculada por meio da multiplicação dos valores médios de carboidratos e proteínas por 4 e lipídios por 9.

Valores na mesma linha marcados com letras diferentes apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Como demonstrado na tabela 3, todos os pães de sorgo apresentaram menor VET que o pão controle. Em relação ao teor de carboidratos, todos os pães de sorgo também apresentaram quantidade inferior quando comparados ao controle (pão de arroz) ($p \leq 0,002$). Além disso, o pão de sorgo bronze apresentou significativamente menos carboidratos em relação ao pão de sorgo marrom com $p = 0,033$. Entretanto, não houve diferença significativa entre os pães de sorgo bronze e branco ($p = 0,26$) ou entre os pães de sorgo marrom e branco ($p = 0,22$). Para amido resistente, o pão controle e o pão de sorgo bronze apresentaram maiores valores em relação aos demais pães ($p \leq 0,0002$ e $p \leq 0,0005$, respectivamente) sem diferença estatística entre eles ($p = 0,16$). Para fibra, todos os pães de sorgo apresentaram significativamente maior teor de fibras em relação ao controle ($p < 0,05$), tendo o sorgo marrom a maior quantidade, seguido do branco e do bronze ($p < 0,05$). O sorgo bronze também apresentou maior quantidade de proteína e

lipídios em relação aos demais ($p \leq 0,002$ e $p < 0,0001$, respectivamente). Em relação à umidade, o pão controle apresentou menor valor em comparação aos pães de sorgo ($p \leq 0,004$). Já o pão de sorgo branco apresentou significativamente menor teor de cinzas em relação às demais amostras ($p < 0,0001$). Além disso, o pão de sorgo marrom apresentou maior atividade antioxidante (ORAC) quando comparado às outras amostras ($p \leq 0,001$), sem diferença estatística quando se comparou o pão controle ao sorgo branco e bronze ($p = 0,388$ e $p = 0,09$, respectivamente) (Tabela 3).

Portanto, o pão de sorgo bronze apresentou menor quantidade de carboidratos, mais amido resistente que os outros pães de sorgo e maior teor de proteínas e lipídios em comparação aos demais pães. Em relação ao pão de sorgo marrom, foi observado menor teor de carboidratos em comparação ao controle, menor quantidade de amido resistente e lipídios, mas grande presença de fibras e maior atividade antioxidante. Já o pão de sorgo branco apresentou menor quantidade de carboidratos e mais fibras que o controle, baixo teor de amido resistente e baixa atividade antioxidante.

5.2. Estudo Clínico

Entre os 13 voluntários recrutados, dois desistiram da pesquisa e um foi excluído devido à resposta insulinêmica atípica e diferente dos demais, pois a insulina basal já era maior que a referência e aumentada em relação aos outros voluntários (média de $19,6 \pm 4,5$ uUI/mL).

Portanto, finalizaram o estudo 10 indivíduos do sexo masculino saudáveis com idade média de 28 anos $\pm 4,88$; peso médio de 77,6 kg $\pm 11,75$; estatura média de 1,78 cm $\pm 0,07$; IMC médio de $24,22\text{kg/m}^2 \pm 2,26$; percentual de gordura médio de $21,36 \pm 5,31$ e glicemia capilar em jejum média de $89\text{mg/dL} \pm 4,33$. Todos os voluntários não eram fumantes, não apresentavam nenhuma DCNT e nem faziam uso de medicamentos.

Em relação aos recordatórios 24h, foram calculadas as médias de consumo dos 10 indivíduos para todas as coletas de sangue realizadas no Laboratório de Bioquímica da Nutrição na Universidade de Brasília, além das médias de consumo por tratamento (tipo de pão consumido). Os voluntários consumiram em média $1890\text{kcal} \pm 455$ e a distribuição de macronutrientes foi de 46,4% de carboidrato; 24,2% de proteína; 29,4% de lipídio; e $17\text{g} \pm 4$ de fibras. A análise dos recordatórios 24h calculados por tratamento está demonstrada na tabela 4.

Tabela 4 – Análise nutricional média dos recordatórios 24h dos 10 voluntários participantes do estudo por tratamento

Tratamento	VET (kcal)	CHO (%)	PTN (%)	LIP (%)	Fibras (g)
Pão Controle	1774 ± 541 ^a	46 ^b	26 ^c	28 ^d	17 ± 8 ^e
Pão de Sorgo Marrom	1828 ± 502 ^a	50 ^b	24 ^c	26 ^d	16 ± 4 ^e
Pão de Sorgo Bronze	1918 ± 660 ^a	46 ^b	21 ^c	33 ^d	15 ± 6 ^e
Pão de Sorgo Branco	2041 ± 528 ^a	44 ^b	26 ^c	30 ^d	19 ± 7 ^e
Média	1890kcal ± 455	46,4%	24,2%	29,4%	17g ± 4

Valores com letras diferentes na mesma coluna demonstram diferença estatística ($p < 0,05$).

Como demonstrado na tabela 4, não houve diferença significativa em relação ao consumo alimentar dos voluntários do dia anterior a cada experimento no Laboratório de Bioquímica da Nutrição (VET, $p = 0,73$; carboidratos, proteínas e lipídios ($p = 0,74$; $p = 0,59$; $p = 0,31$, respectivamente) e para fibras, $p = 0,71$).

5.3. Repostas glicêmica e insulinêmica

Os valores médios e classificações de cada estímulo (glicose anidra e pães) em relação aos índices glicêmicos e insulinêmicos estão demonstrados nas tabelas 5 e 6, respectivamente.

Tabela 5 – Índice Glicêmico da glicose e dos pães controle e de sorgo

Estímulo	AAC de 3h da Glicose	Índice Glicêmico	Classificação**
Glicose Anidra	2619.75 ± 2094.94 ^a	100*	Alto
Pão Controle	2098.50 ± 1352.53 ^a	80	Alto
Pão de Sorgo Marrom	1144.50 ± 590.67 ^b	44	Baixo
Pão de Sorgo Bronze	1571.25 ± 908.22 ^{ab}	60	Médio
Pão de Sorgo Branco	1662.75 ± 1362.39 ^{ab}	63	Médio

Valores da AAC de 3h da glicose estão apresentados como média ± erro padrão.

Valores com letras diferentes na mesma coluna demonstram diferença estatística ($p < 0,05$).

*Valor estipulado como padrão (100).

**Classificação de acordo com Brand-Miller et al. (2009).

Tabela 6 – Índice Insulinêmico da glicose e dos pães controle e de sorgo

Estímulo	AAC de 3h da Insulina	Índice Insulinêmico
Glicose Anidra	4797.29 ± 3009.89 ^a	100
Pão Controle	3372.05 ± 3255.73 ^b	70
Pão de Sorgo Marrom	2379.59 ± 3083.12 ^b	50
Pão de Sorgo Bronze	2697.02 ± 2890.74 ^b	56
Pão de Sorgo Branco	2094.09 ± 1212.01 ^b	44

Valores da AAC de 3h da insulina estão apresentados como média ± erro padrão.

Valores com letras diferentes na mesma coluna demonstram diferença estatística ($p < 0,05$).

*Valor estipulado como padrão (100).

Em relação à resposta glicêmica da AAC de 3 horas, o pão de sorgo marrom apresentou um valor inferior ao pão controle ($p = 0,047$). Além disso, não houve diferenças significativas entre os demais pães ($p > 0,074$). Já a resposta insulinêmica (AAC-3h) não mostrou diferenças estatísticas entre todas as amostras de pão ($p \geq 0,074$). A resposta da AAC da bebida de glicose foi significativamente maior do que outras amostras de pão ($p \leq 0,037$).

De acordo com a classificação IG (IG alto ≥ 70 ; IG intermediário 56–69; IG baixo ≤ 55) e como apresentado na tabela 5, o pão de sorgo marrom apresentou baixo IG, os pães de sorgo bronze e branco IG intermediário, e apenas o pão controle apresentou alto IG (BRAND-MILLER et al., 2009).

Para os dados da AAC da insulina, como esperado, ao consumir a glicose padrão, obteve-se maior AAC da insulina em relação aos demais grupos (contra pão de arroz $p = 0,037$; pão de sorgo marrom $p = 0,005$; pão de sorgo bronze $p = 0,009$; pão de sorgo branco $p = 0,007$). Já em comparação aos pães consumidos, não houve diferenças significativas entre eles ($p \geq 0,074$).

Para o Índice Insulinêmico (II), em relação às amostras de pão, os pães de sorgo apresentaram escores inferiores (56, 50 e 44 para os genótipos bronze, marrom e branco, respectivamente) em relação ao pão controle (70) (Tabela 6).

As curvas com as respostas glicêmica e insulinêmica dos voluntários de acordo com cada estímulo (glicose, pão controle e pães de sorgo) são apresentadas nas figuras 4 e 5, respectivamente (média \pm erro padrão).

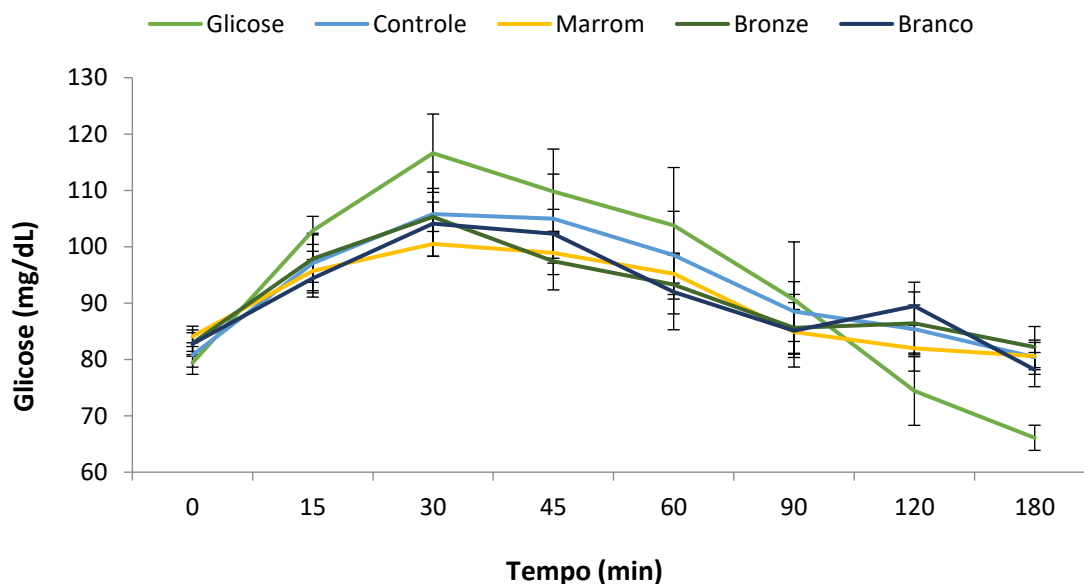


Figura 4 – Resposta glicêmica aos estímulos (glicose, pão controle e pães de sorgo) dos voluntários participantes do estudo (média \pm erro padrão)

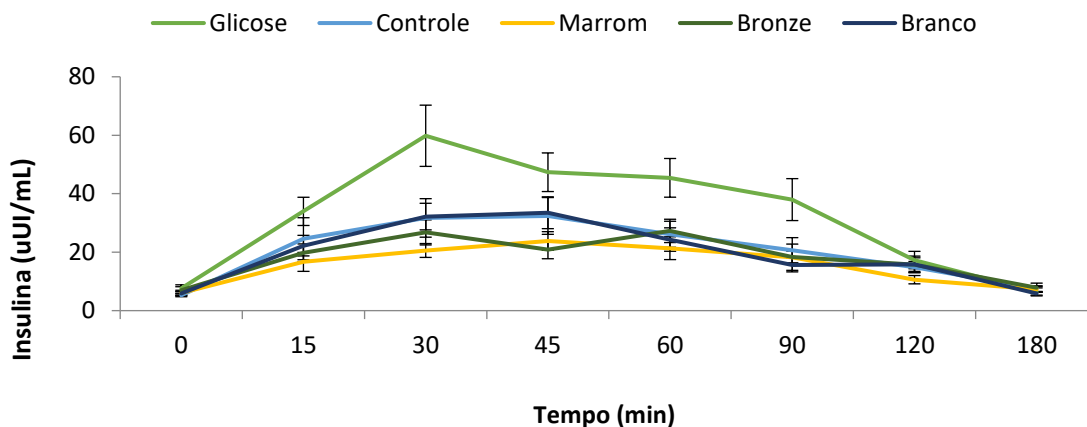


Figura 5 – Resposta insulinêmica aos estímulos (glicose, pão controle e pães de sorgo) dos voluntários participantes do estudo (média \pm erro padrão)

Não houve diferenças significativas em qualquer ponto das curvas glicêmicas e insulinêmicas entre as amostras testadas (pães controle e de sorgo) ($p \geq 0,64$ e $p \geq 0,48$, respectivamente) (Figuras 4 e 5).

5.4. Capacidade antioxidante

A curva que demonstra a capacidade antioxidante obtida por meio da análise do sangue (FRAP) dos voluntários ao longo do experimento está representada na figura 6.

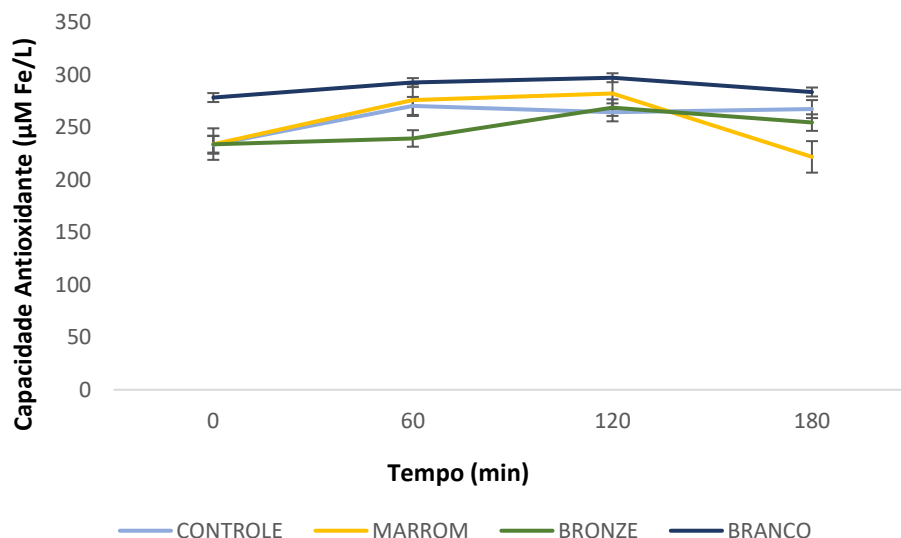


Figura 6 – Capacidade antioxidante dos pães controle e de sorgo (média ± erro padrão)

Não houve diferenças significativas em relação à capacidade antioxidante em qualquer ponto da curva entre as amostras testadas (pães controle e de sorgo) ($p \geq 0,50$) (Figura 6).

6. DISCUSSÃO

No presente estudo o foco era comparar os pães sem glúten de sorgo e de arroz. Em relação à análise de composição dos pães, os pães de sorgo apresentaram menor VET em relação ao pão controle. Para carboidratos, as amostras de pão de sorgo apresentaram entre 29,29 e 31,68g/100g, já no estudo conduzido por Romão et al. (2020), que analisou 12 amostras de pães sem glúten produzido com diversos ingredientes, o teor de carboidratos variou de 33,32 a 55,92 g/100g. Nesse estudo, 83,3% dos pães sem glúten possuíam amido de milho, 58,3% polvilho, 16,6% fécula de batata e 16,6% farinha de arroz na composição. Devido ao uso desses compostos, os pães sem glúten analisados por Romão et al. (2020) apresentaram maior teor de carboidratos quando comparados aos pães sem glúten com sorgo deste estudo.

Já em relação às proteínas, a variação foi de 5,36 a 6,13g/100g, enquanto no estudo de Romão et al. (2020) essa variação foi maior, oscilando entre 2,22 e 8,34g por 100g. É importante ressaltar que o pão com maior teor proteico (8,34g) tinha em sua composição farinha de soja, além de ovo de galinha. Para lipídios, os pães de sorgo apresentaram maior teor (entre 6,41 e 8,68g por 100g) em comparação aos resultados dos pães analisados por Romão et al. (2020) que apresentaram apenas 0,75 a 4,75g por 100g de amostra.

Em relação ao amido resistente, o pão de sorgo bronze apresentou diferença estatística em comparação às outras amostras de pão de sorgo ($p < 0,05$), mas não apresentou diferença significativa em relação ao pão controle ($p = 0,16$). Isso pode ter ocorrido porque o arroz é um cereal que possui maior teor de amilose (aproximadamente 25%), e, segundo Chung, Liu e Hoover (2009), amidos com maior teor de amilose apresentam maiores níveis de amido resistente.

Quando se compara trigo com sorgo, Poquette, Gu e Lee (2014) encontraram que *muffins* de trigo apresentaram apenas 0,5g de amido resistente por 100g, enquanto os *muffins* de sorgo 3,6g/100g, provando, portanto, que os produtos de sorgo possuem mais amido resistente do que os produtos elaborados com trigo. Além disso, de acordo com Hariprasanna e colaboradores (2015), o grão de sorgo possui melhor perfil nutricional que o arroz por possuir maior teor de fibras e antioxidantes. Um estudo conduzido por Matos Segura e Rosell (2011) analisou pães sem glúten comerciais feitos com farinha de arroz, milho e fécula de batata, e demonstrou que esses pães apresentavam entre 1,0g e 2,9g de amido resistente por 100g de amostra. Apesar da quantidade de amido resistente encontrada no presente estudo ser similar aos pães sem glúten comerciais analisados por Matos Segura e Rosell (2011), é importante destacar que a metodologia de análise utilizada foi diferente da utilizada neste estudo.

Segundo Rosell e Marco (2008), o conteúdo de amido resistente depende de diversos fatores como: características do amido no alimento, tipo de grânulo, proporção de amilose e amilopectina, cristalinidade do amido e o método analítico utilizado. De acordo com Pomeranz (1992), o conteúdo de amido resistente nos alimentos é variável e dependente das características físico-químicas do grânulo de amido, bem como dos processos térmicos e das condições de estocagem aos quais foram submetidos. Além disso, o congelamento, utilizado para prolongar a vida útil dos alimentos, pode provocar alterações na estrutura do grânulo do amido. Portanto, a metodologia utilizada por Matos Segura e Rosell (2011) pode ter aumentado a quantidade de amido resistente das

amostras. Sendo assim, a menor quantidade de amido resistente das amostras do presente estudo quando comparadas à análise de Matos Segura e Rosell (2011) pode ter sido influenciada por não ter sido feito o congelamento dos pães, pois o congelamento favorece a formação de amido resistente.

É importante ressaltar que a digestão do amido depende de diversos fatores que incluem a afinidade da α -amilase por amidos nativos que é dependente do tamanho da partícula do amido devido à disponibilidade da enzima para ligação e absorção (TAHIR et al., 2010). Portanto, o tamanho da partícula de ingredientes crus e a hidratação da massa desempenham um papel crucial na determinação da digestibilidade (*in vitro*) (DE LA HERA et al., 2014).

Além disso, grânulos de amidos gelatinizados podem formar uma grande variedade de conformações e interações com outros compostos de amidos. Dessa forma, outros nutrientes, como proteínas, podem afetar a digestibilidade do amido. Portanto, o processo de fabricação dos produtos alimentícios pode influenciar o conteúdo formado de amido resistente (DREHER et al., 1984).

Também foi possível determinar no estudo que todos os pães de sorgo possuem significativamente maior teor de fibras do que o pão controle (de arroz) ($p < 0,05$), contribuindo para a classificação de IG mais baixo que o pão controle, pois quanto maior o teor de fibras, menor o impacto na glicemia. Esse resultado é de extrema importância dado que os produtos sem glúten geralmente apresentam menor teor de fibras por serem preparados com amido de milho, fécula de batata e farinha de arroz branca (ROSELL; MARCO, 2008).

Entretanto, é importante ressaltar que os pães foram preparados no dia anterior aos experimentos, o que pode ter desencadeado o processo de formação de amido resistente que é formado quando um produto que contém amido é submetido à cocção e depois resfriado, pois os grânulos de amido sofrem gelatinização e retrogradação. Tal fato pode explicar o motivo pelo qual o pão de arroz, rico em amido, apresentou maior quantidade de amido resistente quando comparado aos pães de sorgo (BROWN, 2004).

A farinha de arroz é um dos ingredientes mais utilizados na fabricação de produtos sem glúten, entretanto, apresenta carboidratos de fácil digestão e baixo teor de proteínas (1,3g/100g) e de fibras (0,6g/100g) (ROSELL; MARCO, 2008; NEPA, 2011). Calvo-Lerma e colaboradores (2019) também destacam que a maioria dos produtos sem glúten, como pães e massas, possui baixo teor de fibras.

Ainda, de acordo com Romão et al. (2020), no Brasil, os tipos de farinha e amido mais utilizados na produção de pães sem glúten são de milho, mandioca, batata e arroz. Além disso, em relação à composição química de 12 pães sem glúten, as amostras apresentaram um teor de fibras variando de 6,79 a 16,26g por 100g, tendo os maiores valores de fibras os pães integrais sem glúten. Já no presente estudo, os teores de fibra dos pães de sorgo variaram de 4,71 a 5,79g por 100g, sendo todos significativamente superiores ao pão de arroz (controle).

Segundo Rosell e Marco (2008), a farinha de arroz possui apenas 2,4g de fibras por 100g. Enquanto isso, num estudo conduzido por Oliveira e colaboradores (2016), que analisou as farinhas de sorgo bronze e marrom dos mesmos genótipos utilizados nesta pesquisa, determinou-se que a farinha de sorgo bronze possui 13,46g de fibras e a marrom 19,81g de fibras, ambas por 100g de amostra. Portanto, ambas farinhas de sorgo (bronze e marrom) utilizadas possuem no mínimo 82% mais fibras que a farinha de arroz comercial que é amplamente utilizada na fabricação de pães sem glúten. Já os pães de sorgo bronze e marrom do presente estudo apresentaram 16% e 32% a mais de fibras que o pão feito com farinha arroz (controle), respectivamente, o que contribuiu para um menor IG dos pães de sorgo em relação ao controle

Outros estudos que analisaram a quantidade de fibras de produtos sem glúten demonstraram que um pão sem glúten feito com amido de milho e batata apresenta 3,34g de fibra total por 100g (KORUS et al., 2009) e pães comerciais sem glúten apresentam de 1,2g a 5,6g de fibra total por 100g (THOMPSON, 2000). Nesse estudo de Thompson (2000) com farinhas de sorgo, demonstrou-se que os pães de sorgo são nutricionalmente melhores que o pão controle à base de farinha de arroz em relação ao teor de fibras.

De acordo com o Instituto Internacional de Pesquisa de Arroz (*International Rice Research Institute*, 1979), o arroz, tem maior digestibilidade proteica do que o sorgo porque o sorgo apresenta alto teor de fibras e conteúdo de taninos em comparação ao arroz. Tal fato se explica devido ao fato de os taninos do sorgo fazerem ligação com proteínas e carboidratos, diminuindo, assim a digestibilidade do amido (POQUETTE; GU; LEE, 2014; BARROS; AWIKA; ROONEY, 2012).

Já segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), um produto que apresenta mais de 6g de fibras por 100g é considerado um alimento rico em fibra (BRASIL, 1998). E, segundo o FDA (*Food and Drug Administration*), um alimento é fonte de fibras se apresenta 10 a 19% da referência diária (*Dietary reference intakes - DRI*) e rico em fibras se apresenta 20% ou mais de fibras em relação à DRI (FDA, 2019).

Ou seja, para ser rico em fibras deve apresentar mais de 5,5g de fibra por porção. Portanto, o pão de sorgo marrom pode ser classificado como rico em fibras pelo FDA e os pães de sorgo bronze e branco como fontes de fibras pela legislação estadunidense. Pela legislação brasileira, todos os pães de sorgo do presente estudo são considerados fontes de fibras.

A importância da fibra dietética na saúde se dá, dentre outros motivos, em função dos seus efeitos no metabolismo da glicose. Lembrando que fibra dietética pode ser definida como qualquer carboidrato não digerível e lignina que não é degradada no intestino delgado. Ela possui papel essencial na redução da resposta glicêmica pós prandial, o que pode ter contribuído para o menor IG dos pães de sorgo (WEICKERT; PFEIFFER, 2018; GIACCO et al., 2000). Além disso, as fibras também estão associadas à diminuição do risco de doenças cardiovasculares e DM2, redução do colesterol sanguíneo, aumento da saciedade e prevenção da constipação (ADA, 2002). Portanto, o consumo dos pães de sorgo, que são boas fontes de fibra, podem ter impacto positivo na saúde humana devido aos diversos benefícios descritos anteriormente.

Outro fator que influencia na resposta glicêmica pós prandial é a presença de taninos. Segundo Poquette, Gu e Lee (2014), os taninos do sorgo contribuem para a baixa digestibilidade do amido, o que pode levar à lenta absorção de carboidratos, também influenciada pela maior quantidade de fibras dos pães de sorgo. Portanto, esse mecanismo também pode explicar o menor IG observado nos pães de sorgo, uma vantagem a mais para o controle da glicemia que também poderia ser interessante para diabéticos tipo 2.

Além disso, o pão de sorgo marrom apresentou a maior atividade antioxidante (45,49 μ mol TE/g) entre as amostras, como demonstrado na tabela 3. Esse resultado é, provavelmente, em função dos sorgos coloridos, como marrom e vermelho, possuírem maior concentração de compostos fenólicos (RHODES et al., 2014). Em contrapartida, o pão de sorgo branco apresentou o menor valor de atividade antioxidante (22,41 μ mol TE/g) quando comparado aos outros genótipos de sorgo, similar ao encontrado por Awika e Rooney (2004), no qual o sorgo branco apresentou apenas 22 μ mol TE/g, enquanto o sorgo preto apresentou 220 μ mol TE/g e o vermelho 140 μ mol TE/g.

Em relação ao sorgo branco, apesar da baixa quantidade de antioxidante, sua atividade antioxidante é superior a um pão de trigo branco reportado por Benitez e colaboradores (2018). Enquanto o pão de trigo branco apresentou 11,6 μ mol TE/g e o de trigo integral 44 μ mol TE/g, o pão de sorgo branco do presente estudo apresentou 22,41 μ mol TE/g e o de sorgo marrom 45,49 μ mol TE/g. Sendo assim, o pão de sorgo

branco possui maior atividade antioxidante quando comparado ao pão de trigo branco. Além disso, o pão de sorgo marrom também é superior ao pão de trigo integral em relação à atividade antioxidante.

É importante destacar que o genótipo de sorgo branco, por ser geralmente rico em taninos, apresenta atividade antioxidante reduzida, assim como foi encontrado no presente estudo. Além disso, os taninos condensados do sorgo são capazes de se ligar ao amido e polissacarídeos, assim como os compostos fenólicos podem formar complexos com proteínas e carboidratos nos alimentos. Esse mecanismo leva a mudanças nas propriedades estruturais que afetam a digestibilidade, podendo ser relacionados a uma diminuição na resposta da glicose (LE BOURVELLEC; RENARD, 2012). O que foi comprovado no presente estudo no qual verificou-se que houve uma melhora na resposta glicêmica após o consumo de pão de sorgo marrom, que apresentou maior teor de fibras e atividade antioxidante em relação aos outros pães, sendo classificado como baixo IG.

Outro fator que influencia nas respostas glicêmicas e insulinêmicas é o consumo de carboidratos da dieta. Segundo Wee e Henry (2020), os carboidratos se tornaram um problema de saúde a partir do momento que são digeridos e absorvidos rapidamente, especialmente quando consumidos em grandes quantidades. Inclusive tem ocorrido o aumento da prevalência de DM2 na Ásia, que pode ser atribuído a uma dieta rica em carboidratos com consumo de produtos à base de grãos como arroz, farinhas e amidos. De acordo com a perspectiva humana, o comportamento alimentar e a escolha dos alimentos das refeições também podem afetar a resposta glicêmica. Diante disso, todos os voluntários foram orientados a fazer a última refeição normoglicêmica no dia anterior da coleta para minimizar o impacto nos resultados do metabolismo da glicose.

Em relação à análise dos recordatórios 24h, foi possível observar que em média, a distribuição de macronutrientes estava dentro das recomendações (*Acceptable Macronutrient Distribution Range*, AMDR) para o perfil dos participantes (DRI, 2005). Além disso, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos em relação ao VET, à distribuição de macronutrientes e ao consumo de fibras ($p \leq 0,31$) no consumo alimentar nas 24h que antecederam os testes. Ademais, vale ressaltar que a quantidade de fibra ingerida estava aquém da recomendação diária, portanto, pode-se especular que não houve interferência do consumo de fibras da alimentação prévia nas respostas glicêmicas dos voluntários. Ou seja, as respostas glicêmicas e insulinêmicas obtidas nas coletas estão relacionadas ao consumo de cada estímulo do estudo (glicose anidra, pães de sorgo e pão controle).

Corroborando nossa hipótese da melhora da resposta glicêmica em função do consumo dos pães de sorgo, Moraes e colaboradores (2015) determinaram que o IG estimado de farinha de sorgo estava negativamente correlacionado com os compostos fenólicos (especificamente flavonoides), atividade antioxidante, fibras totais, insolúveis e solúveis, e betaglucana. Portanto, o sorgo está relacionado ao menor IG considerando as preparações analisadas. Em contrapartida, o mesmo estudo concluiu que o amido resistente não estava correlacionado ao IG estimado. Dado que corrobora os achados do presente estudo, visto que os pães de sorgo marrom e branco apresentaram teores de amido resistente significativamente menores que o pão controle.

É importante ressaltar que esses resultados podem estar associados ao processo de retrogradação do amido e formação de amido resistente, devido à produção dos pães ter sido feita no dia anterior aos experimentos. Entretanto, segundo Srichuwong et al. (2017), proteína e fibra solúvel podem retardar a gelatinização e retrogradação do amido em farinhas integrais, respectivamente.

Outra pesquisa, de Basu e colaboradores (2019), que estudou o metabolismo da glicose em adultos saudáveis após consumo de refeições contendo arroz e sorgo, encontrou que houve uma maior sensibilidade à insulina nas refeições com sorgo quando comparadas ao arroz (calorias e macronutrientes idênticos).

Com base nesse resultado, pode-se especular que a diminuição da resposta glicêmica pós prandial dos pães de sorgo deve ocorrer devido à melhor sensibilidade à insulina sem necessariamente reduzir a secreção de insulina. Ademais, um estudo conduzido por Rosén e colaboradores (2011) com diferentes tipos de pães de centeio demonstrou que o conteúdo de compostos fenólicos estava negativamente relacionado à rápida resposta à glicose no período pós prandial de 1h. O mecanismo é, provavelmente, multifatorial, incluindo os efeitos das fibras e a reduzida taxa de hidrólise do amido. Portanto, são necessários mais estudos para explorar a complexidade desse mecanismo.

Em outro estudo com sorgo, conduzido por Park e colaboradores (2012), concluiu-se que a administração de extrato de sorgo em ratos reduziu significativamente os níveis de glicose sérica. Entretanto, só o tratamento com maior concentração de sorgo foi capaz de reduzir de maneira significativa os níveis de insulina sérica. Da mesma forma, Lakshmi e colaboradores (1996) demonstraram que o consumo de sorgo integral diminuiu significativamente a glicose em jejum e a AAC da glicose de 2 h em indivíduos com diabetes tipo 2, provavelmente devido ao conteúdo de fibra.

Apesar das fibras diminuírem os níveis de glicose sanguínea em função do retardado do esvaziamento gástrico, alteração da velocidade de trânsito intestinal e redução da absorção de carboidratos (LEE et. al, 2014), Ray e colaboradores (1983) reportaram que o consumo de grãos de sorgo não afetou os níveis séricos de glicose e insulina em comparação a ratos hiperlipidêmicos alimentados com arroz branco. Esses resultados inconsistentes podem estar relacionados ao tipo de grão de sorgo consumido, grão versus extrato, ou ao modelo experimental utilizado (humano ou animal) (PARK et al., 2012).

Sendo assim, é necessário que mais estudos sejam realizados para se chegar a um possível consenso. De qualquer forma, o pão de sorgo marrom apresentou baixo teor de carboidratos e alto teor de fibras, além de ter demonstrado uma resposta glicêmica significativamente menor em comparação ao pão controle, apresentando baixo IG. É importante destacar que o baixo IG está relacionado com melhora na resposta glicêmica e segundo Westman e colaboradores (2008), uma dieta de baixo IG contribui para redução dos níveis de hemoglobina glicada, glicemia em jejum e insulina em indivíduos com obesidade e diabetes tipo 2.

Além do papel das fibras na melhora do metabolismo da glicose, o conteúdo de amido resistente também tem grande importância por possuir efeitos fisiológicos benéficos à saúde humana. Brites e colaboradores (2011) reportaram uma redução do colesterol total e melhor resposta pós-prandial em ratos alimentados com pão enriquecido em amido resistente em relação ao grupo controle alimentado com pão branco de trigo. Outro estudo conduzido por Shen e colaboradores (2015) mostrou que o amido resistente ajuda a prevenir e tratar a obesidade devido a diversos mecanismos, incluindo síntese e secreção de leptina e adiponectina, e melhora na microbiota intestinal.

De acordo com Al Dhaheri e colaboradores (2015), fatores como digestibilidade do amido, interações da absorção de amido com conteúdo de fibras, lipídios e proteínas associados a métodos de cocção afetam a resposta glicêmica. Ademais, fibras também interferem no processo de digestão do amido. Um estudo conduzido por Kurek e colaboradores (2018) encontrou que pães de trigo enriquecidos com fibras pela adição de aveia e linhaça apresentavam menor IG quando comparados aos pães de trigo comuns (pobres em fibras). Portanto, os resultados do presente estudo são condizentes com os diversos estudos citados anteriormente.

Como pode ser observado nas curvas glicêmica e insulinêmica (figuras 4 e 5), a glicose anidra (padrão), como esperado, teve maior pico (em 30 min) e maior 3h-AAC,

ou seja, houve um aumento das respostas glicêmica e insulinêmica após seu consumo e, devido à disponibilidade de carboidrato simples, ocorreu uma queda acentuada na resposta glicêmica após 90 min. Em contrapartida, o pão de sorgo marrom foi o que apresentou menores respostas glicêmica e insulinêmica devido a sua composição.

Portanto, baseado nos efeitos benéficos do consumo do pão de sorgo no metabolismo da glicose relatados por Prasad (2014), nossos resultados confirmam a hipótese mostrando uma melhora nas respostas glicêmicas e insulinêmicas após o consumo de pães de sorgo por homens adultos saudáveis comparado ao controle. Isso porque todas as amostras de pão de sorgo apresentaram menor IG e II quando comparadas ao pão controle. Entretanto, os mecanismos relacionados ao consumo de sorgo e seus efeitos nas respostas glicêmica, insulinêmica e antioxidante ainda não estão claras e precisam de mais pesquisas.

Por fim, é importante destacar que o sorgo marrom tem boa aceitabilidade em produtos sem glúten. Numa pesquisa conduzida por Andrade de Aguiar et al. (2020), que analisou a aceitabilidade de pães de sorgo usando a escala hedônica estruturada de 9 pontos, o pão de sorgo marrom (do mesmo genótipo e receita utilizados no presente estudo) teve média de 7,1 para aparência, 6,8 para aroma, 6,6 para sabor e textura, e 6,8 para aceitabilidade geral. Em relação à aceitabilidade geral, o pão teve 100% de aceitação. Enquanto isso, outro estudo realizado por Queiroz et al. (2020) que desenvolveu churros sem glúten preparado com sorgo marrom e branco, verificou que os churros de sorgo marrom tiveram aceitabilidade de 84,5% para todos os atributos sensoriais avaliados. Ademais, os churros de sorgo marrom apresentaram maior aceitação quanto à textura, à aceitabilidade geral e à intenção de compra em relação aos churros de sorgo branco.

Soares et al. (2019) também verificaram que biscoitos e pastéis sem glúten produzidos com sorgo marrom possuem boa aceitabilidade. Inclusive, nesse estudo os participantes foram divididos em dois grupos, sendo que no primeiro grupo os voluntários apenas avaliaram os produtos e preencheram o questionário de aceitabilidade, enquanto no segundo grupo os avaliadores também recebiam informações sobre os benefícios do sorgo para a saúde humana. Ao final do estudo concluiu-se que houve aumento da aceitabilidade dos dois produtos, sugerindo que existe uma influência positiva quando os participantes conhecem os benefícios do sorgo para a saúde (SOARES et al., 2019).

O presente estudo teve algumas limitações como a quantidade de genótipos de sorgo analisados (apenas marrom, bronze e branco) e somente em pães sem glúten. Importante destacar também que o preparo dos pães no dia anterior às análises químicas

pode ter influenciado na formação de amido resistente e retrogradação do amido. Entretanto, são recomendados mais estudos, pois o sorgo marrom possui grande potencial para ser utilizado no desenvolvimento de produtos sem glúten, tanto em função das suas importantes características funcionais e nutricionais, quanto em relação à aceitabilidade.

7. CONCLUSÃO

Todos os pães de sorgo apresentaram menor teor de carboidratos e maior teor de fibras que o controle (arroz). Além disso, o pão de sorgo marrom apresentou baixo IG, maior quantidade de fibras e atividade antioxidante significativamente maior que os outros pães, proporcionando uma menor resposta glicêmica, entretanto, sem diferença significativa. A diminuição da resposta glicêmica pode ter ocorrido devido à melhor sensibilidade à insulina, sem necessariamente reduzir a secreção desse hormônio. Isso porque o conteúdo de fibras e compostos fenólicos pode estar negativamente relacionado à rápida resposta à glicose no período pós prandial.

Os resultados do presente estudo são importantes porque foram utilizados três diferentes genótipos de sorgo (marrom, bronze e branco) na análise dos pães sem glúten. Entretanto, devido ao pequeno número amostral, os resultados devem ser extrapolados com cautela e mais pesquisas são necessárias para explorar os efeitos na saúde humana de diferentes genótipos de sorgo em diversos alimentos com diferentes populações, como diabéticos tipo 2. Diante do exposto, a produção de sorgo marrom deve ser encorajada no contexto de fabricação de produtos sem glúten devido ao seu perfil nutricional superior e potenciais benefícios à saúde associados ao seu consumo.

8. REFERÊNCIAS

AACC International., **AACC International Approved Methods**; AACC International: St. Paul, MN, USA, 2015. <http://methods.aacnet.org/toc.aspx>

ABETE, I.; ASTRUP, A.; MARTINEZ, J.A.; THORSOTTIR, I.; ZULET, M.A. Obesity and the metabolic syndrome: role of different dietary macronutrient distribution patterns and specific nutritional components on weight loss and maintenance. **Nutrition Reviews**, 2010; 68(4):214-31.

ADA. **Standards of Medical Care for Patients With Diabetes Mellitus**. Diabetes Care, 2002, 25 (Supplement 1), S33–S49. doi: 10.2337/diacare.25.2007.s33.

- ADIAMO, O.Q. FAWALE, O.S. OLAWOYE, B. Recent Trends in the Formulation of Gluten-Free Sorghum Products. **Journal of Culinary Science & Technology**, 2018; 16:4, 311-325. doi: 10.1080/15428052.2017.1388896.
- ALBARICI, T.R.; FREITAS, D.M.; PESSOA, J.D.C. **Protocolos de análise para polpa de açaí: um guia prático de consulta**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 48 p.
- AL DHAHERI, A.S.; AL, A.K.; LALEYE, L.C.; WASHI, S.A.; JARRAR, A.H.; AL MEQBAALI, F.T.; MOHAMAD, M.N.; MASUADI, E.M. **The effect of nutritional composition on the glycemic index and glycemic load values of selected Emirati foods**, 2008; 1–8.
- ALFENAS, R.C.G.; PAIVA, E. Effect of glycemic index on satiety and body weight. **Rev. Nutr.**, 2007; 20 (2).
- ALVAREZ-JUBETE, L.; ARENDT, E.K.; GALLAGHER, E. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. **Trends in Food Science and Technology**, 2010; 21, 106–113.
- ALTHWAB, S.; CARR, T.P.; WELLER, C.L.; DWEIKAT, I.M.; Schlegel, V. Advances in grain sorghum and its co-products as a human health promoting dietary system. **Food Research International**, 2015; 77, 349-359.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 2007; 66,1, 1-9.
- ANDRADE DE AGUIAR, L.; BOBROWSKI RODRIGUES, D.; APARECIDA VIEIRA QUEIROZ, V.; MELO, L.; DE LACERDA DE OLIVEIRA, L. Comparison of two rapid descriptive sensory techniques for profiling and screening of drivers of liking of sorghum breads, **Food Research International**, 2020. doi: 10.1016/j.foodres.2020.108999.
- ANTUNES, R.C.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; BORGES, I.; BORGES, A.L.C.C.; SALIBA, E.O.S. Composição bromatológica e parâmetros físicos de grãos de sorgo com diferentes texturas do endosperma. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, 2007, v.59, n.5, p.1351-1354.
- ANUNCIACÃO, P.C. et al. Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: Sensorial acceptance and bioactive compound content. **Food Chemistry** 2017, v. 221, p. 984–989.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 19th ed, Gaithersburg, Maryland: AOAC, Chapter 45 Met. 985.29, v.2, p. 100-102, 2012. <https://sbooks.best/downloads/Official-Methods-Of-Analysis-Of-Aoac-International-19th-Edition->

AOCS. **Approved Procedure Am 5-04 Rapid Determination of Oil/fat Utilizing High Temperature Solvent Extraction**, 2005. <http://www.academia.edu/30938058/AOCS>.

ARTS, I.C.; HOLLMAN, P.C. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr** 2005; 81.

ARUNA, C.; VISARADA, K.B.R.S. **Sorghum Grain in Food and Brewing Industry**. Breeding Sorghum for Diverse End Uses. 2019. 209–228. doi: 10.1016/b978-0-08-101879-8.00013-9.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, 2004; 65, 1199–1221.

AYALA-SOTO, et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and gelling properties of glucoarabinoxylans from three types of sorghum brans. **Journal of Cereal Science**, 2015; 65, 277e284.

AZIZ, I. et al. A UK study assessing the population prevalence of self-reported gluten sensitivity and referral characteristics to secondary care. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, 2014, 26, pp. 33-39.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, 2006; 99(1):191-203.

BALOTA, M. **Sorghum (Sorghum vulgare L.) marketability grain color and relationship to feed value**. AREC-23NP, Virginia Cooperative Extension Bulletin, Blacksburg, VA, 2012, p. 1-3.

BARROS, F. A.; AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Interaction of tannins and other sorghum phenolic compounds with starch and effects on in vitro starch digestibility. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, 2012; 60, 11609–11617.

BASCUNAN, K.A.; VESPA, M.C.; ARAYA, M. Celiac disease: understanding the gluten-free diet. **Eur J Nutr.**, 2017; 56:449–459. doi:10.1007/s00394-016-1238-5.

BASU, R. et al. A novel natural tracer method to measure complex carbohydrate metabolism. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 2019, 1;317(3):E483-E493. doi: 10.1152/ajpendo.00133.2019.

BENITEZ, V. et al. Breads fortified with wholegrain cereals and seeds as source of antioxidant dietary fibre and other bioactive compounds, **Journal of Cereal Science**, 2018; doi: 10.1016/j.jcs.2018.06.001.

BHUPATHIRAJU, S.N. et al. Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes: Results from 3 large US cohorts and an updated meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 2014.

BIESIEKIERSKI, J.R. et al. Gluten causes gastrointestinal symptoms in subjects without celiac disease: a double-blind randomized placebo-controlled trial. **Am J Gastroenterol**, 2011, 106, pp. 508-514

BOUCHÉ, C.; RIZKALLA, S.W.; JING, L.; VIDAL, H.; VERONESE, A.; PACHER, N.; et al. Five-week, low-glycemic index diet decreases total fat mass and improves plasma lipid profile in moderately overweight nondiabetic men. **Diabetes Care**, 2002; 25:822-8.

BRAND-MILLER, J. C.; STOCKMANN, K.; ATKINSON, F.; PETOCZ, P.; DENYER, G. Glycemic index, postprandial glycemia, and the shape of the curve in healthy subjects: Analysis of a database of more than 1000 foods. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 2009; 89(1), 97–105.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria n.27 de 14 de janeiro de 1998. Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. Available in: <<http://anvisa.gov.br>>.

BRAY, G.A.; POPKIN, B.M. Dietary sugar and body weight: Have we reached a crisis in the epidemic of obesity and diabetes? Health be damned! Pour on the Sugar. **Diabetes Care**, 2014; 37(4), 950–956.

BRITES, C.M.; TRIGO, M.J.; CARRAPIÇO, B.; ALVIÑA, M.; BESSA, R.J. Maize and resistant starch enriched breads reduce postprandial glycemic responses in rats. **Nutrition Research**, 2011; v. 31, p. 302-308.

BROUNS, F.; BJORCK, I.; FRAYN, K.N.; GIBBS, A.L.; LANG, V.; SLAMA, G.; et al. Glycemic index methodology. **Nutr Res Rev**, 2005; 18:145–171.

- BROWN, I. Applications and uses of resistant starch. **Journal of AOAC International**, 2004; 87(3), 727–732.
- CALVO-LERMA, J.; CRESPO-ESCOBAR, P.; MARTÍNEZ-BARONA, S.; FORNÉS-FERRER, V.; DONAT, E.; RIBES-KONINCKX, C. Differences in the macronutrient and dietary fibre profile of gluten-free products as compared to their gluten-containing counterparts. **Eur. J. Clin. Nutr.**, 2019; 73, 930–936. <https://doi.org/10.1038/s41430-018-0385-6>.
- CAO, G.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. **Free Radic Biol Med**, 1993, 14:303–11. doi: 10.1016/0891-5849(93)90027-r.
- CAPRILES, V.D.; AREAS, J.A.G. Novel approaches in gluten-free breadmaking: interface between food science, nutrition, and health. **Compr Rev Food Sci Food Saf.**, 2014; 13:871–890. doi:10.1111/1541-4337.12091.
- CAPRILES, V.D.; SANTOS, F.G.; AREAS, J.A.G. Gluten-free breadmaking: improving nutritional and bioactive compounds. **J Cereal Sci.**, 2016; 67:83–91. doi: [10.1016/j.jcs.2015.08.005](https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.005).
- CARDOSO, L.D.M.; MONTINI, T.A.; PINHEIRO, S.S.; QUEIROZ, V.A.V.; PINHEIRO SANT’ANA, H.M.; MARTINO, H.S.D.; MOREIRA, A.V.B. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **Food Chemistry**, 2014; 152.
- CARDOSO, L.M. et al. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **Journal of Cereal Science**, 2015; 65, 220–226.
- CARDOSO, L.M.; PINHEIRO, S.S.; MARTINO, H.S.D.; PINHEIRO-SANT’ANA, H.M. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Volume 57, 2017.
- CARSON, L.; SETSER, C.; SUN, X.S. Sensory characteristics of sorghum composite bread. **International Journal of Food Science & Technology**, 2000; 35, 465–471.
- CATASSI, C. et al. Non-celiac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. **Nutrients**, 2013, 5, pp. 3839-3853.

CHENG, Y.J. et al. Secular changes in the age-specific prevalence of diabetes among U.S. adults: 1988–2010. **Diabetes Care**, 2013; 36(9), 2690–2696.

CHUNG, H.J.; LIU, Q.; HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. **Carbohydrate Polymers**, 2009; 75, 436–447.

COHEN, S. D.; KENNEDY, J. A. Plant metabolism and the environment: Implications for managing phenolics. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2010, 50, 620–643.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 7, sétimo levantamento, abr. 2021. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>.

DA COSTA, T.H.M. (org.). CalcNut: plataforma para cálculo de dieta, s.d. Disponível em: <http://fs.unb.br/calcnut>.

DAHLBERG, J.A.; WILSON, J. P.; SNYDER, T. Sorghum and pearl millet: health foods and industrial products in developed countries. Alternative uses of sorghum and pearl millet in Asia. Proceedings of an expert meeting ICRISAT Patancheru Andhra Pradesh India **CFC Technical Paper**, 2004, pp. 42–59.

DE LA HERA, E., et al. Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. **Food Chemistry**, 2014; 151, 526–531.

DEVI, P. S.; SARAVANAKUMAR, M.; MOHANDAS, S. The effects of temperature and pH on stability of anthocyanins from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran. **African Journal of Food Science**, 2012; 6(24), 567–573.

DICKO, M. H.; GRUPPEN, H.; TRAORÉ, A. S.; VORAGEN, A. J.; BERKEL, W. Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 5, p. 384-395, 2006.

DI SABATINO, A.; CORAZZA, G. Nonceliac gluten sensitivity: sense or sensibility? **Ann Intern Med**, 2012, 156, pp. 309-311.

DLAMINI NR, TAYLOR J, ROONEY LW. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. **Food Chem** 2007; 105.

DREHER, M.L., DREHER, C.J., BERRY, J.W., FLEMING, S.E. Starch digestibility of foods: A nutritional perspective. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr**, 2009; 20, 47–71.

DRI. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids.** Washington (DC): National Academy Press; 2005.

DYKES, L.; ROONEY, L. W. Sorghum and millet phenols and antioxidants. **Journal of Cereal Science**, 2006; 44, 236–251.

ESPITIA-HERNÁNDEZ, P. et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) as a potential source of bioactive substances and their biological properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2020. doi: 10.1080/10408398.2020.1852389.

EZEUGU, L; DUODU, K; TAYLOR, J. Effects of endosperm texture and cooking conditions on the in vitro starch digestibility of sorghum and maize flours. **J Cereal Sci**, 2005; 42:33–44.

FARRAR, J. L.; HARTLE, D. K.; HARGROVE, J. L.; GREENSPAN, P. A novel nutraceutical property of select sorghum (*sorghum bicolor*) brans: Inhibition of protein glycation. **Phytotherapy Research**, 2008, 22(8), 1052–1056.

FAUL, F.; ERDFELDER, E.; LANG, A.G.; BUCHNER, A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. **Behavior Research Methods**, 2007, 39 (2), 175-191. doi: 10.3758/bf03193146.

FERREIRA, S.M.R. et al. Utilization of sorghum, rice, corn flours with potato starch for the preparation of gluten-free pasta. **Food Chemistry**, 2016, 191, 147–151.

FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, **World Health Organization WHO, 1998.** Carbohydrates in human nutrition. Geneva.

FDA, Food Labeling: Specific Requirements for Nutrient Content Claims, Nutrient content claims for “good source”, “high”, “more”, and “high potency”, 2019. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=101.54>

FOSCHIA, M.; HORSTMANN, S.; ARENDT, E.K.; ZANNINI, E. Nutritional therapy – facing the gap between coeliac disease and gluten-free food. **Int J Food Microbiol.**, 2016; 239:113–124. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.014.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circ Res** 2010; 107.

GILLIES, C.L.; ABRAMS, K.R.; LAMBERT, P.C.; et al. Pharmacological and lifestyle interventions to prevent or delay type 2 diabetes in people with impaired glucose tolerance: Systematic review and meta-analysis. **BMJ**, 2007; 334(7588):299.

GIUGLIANO, D.; MAIORINO, M.I.; BELLASTELLA, G.; ESPOSITO, K. More sugar? No, thank you! The elusive nature of low carbohydrate diets. **Endocrine**, 2018, 61:383–387.

GONZÁLEZ, A. J. P. **Specialty sorghums in effects of resistant starches on fecal bulk, short direct-expansion extrusion**. 2005. 103 f. chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. Dissertação (Mestrado) - Texas A & M University, Journal of the American College of Nutrition, College Station.

GOODALL, M.; CAMPANELLA, O.; EJETA, G.; HAMAKER, B. Grain of high digestible, high lysine (HDHL) sorghum contains kafirins which enhance the protein network of composite dough and bread. **J Cereal Sci**, 2012; 56: 352-357.

GUARIGUATA, L.; WHITING, D.R.; HAMBLETON, I.; BEAGLEY, J.; LINNENKAMP, U.; SHAW, J. E. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2014; 103(2), 137–149.

HADDAD, E.H.; GABAN-CHONG, N.; ODA, K.; SABAT_E, J. Effect of a walnut meal on postprandial oxidative stress and antioxidants in healthy individuals. **Nutr J** 2014; 13.

HAGER, A.-S.; WOLTER, A.; JACOB, F.; ZANNINI, E.; ARENDT, E.K. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from diferente botanical sources compared to wheat flours. **Journal of Cereal Science**, 2012; 56, 239–247.

HAINES, M.L.; ANDERSON, R.P.; GIBSON, P.R. Systematic review: The evidence base for long-term management of coeliac disease. **Aliment Pharmacol Ther**, 2008; 28: 1042-1066.

HAMMES, W.P.; BRANDT, M.J.; ROSENHEIM, F.J.; SEITTER, M.F.H.; VOGELMANN, A.S. Microbial ecology of cereal fermentations. **Trends in Food Science & Technology**, 2005; 16, 4–11.

HARIPRASANNA, K. et al. Anti-Nutritional Factors and Antioxidant Capacity in Selected Genotypes of Sorghum [*Sorghum bicolor* L. (Moench)], **International Journal of Agriculture Sciences**, 2015. ISSN: 0975-3710 & E-ISSN: 0975-9107, Volume 7, Issue 8, pp.-620-625.

HARLAN, J.R.; DE WET, J.M.J. A simplified classification of cultivated sorghum. **Crop Sci**, 1972; 12: 172-176.

HENLEY, E.C. Sorghum: An Ancient, Healthy and Nutritious Old World Cereal. **United Sorghum Checkoff Program**, 2010.

HENRY, J.B. **Clinical Diagnosis and Management by laboratory methods**. 21th edition, 2007.

HERMSDORFF, H. et al. Vitamin C and fibre consumption from fruits and vegetables improves oxidative stress markers in healthy young adults. **Br J Nutr** 2012; 107.

HUDTHAGOSOL, C.; HADDAD, E.H.; MCCARTHY, K.; WANG, P.; ODA, K.; SABAT, E.J. Pecans acutely increase plasma postprandial antioxidant capacity and catechins and decrease LDL oxidation in humans. **J Nutr** 2011; 141.

HUSBY, S. et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, 2012;54:136–160.

INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Proceedings of the Workshop on Chemical Aspects of Rice Grain Quality**. Los Baños, Laguna, Philippines, 1979.

JENKINS, D.J.; KENDALL, C.W.; AUGUSTIN, L.S.; FRANCESCHI, S.; HAMIDI, M.; MARCHIE, A. et al. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr* 2002;76(1):266S-73S.

KHAN, I. et al. Effect of sorghum flour addition on in vitro starch digestibility, cooking quality, and consumer acceptability of durum wheat pasta. **J Food Sci.**, 2014; 79:S1560–S1567.

KIM, J.; PARK, Y. Anti-diabetic effect of sorghum extract on hepatic gluconeogenesis of streptozotocin-induced diabetic rats. **Nutrition and Metabolism**, 2012, 9(1), 106–112.

KORUS, J.; WITCZAK, M.; ZIOBRO, R.; JUSZCZAK, L. The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. **Food Hydrocolloids**, 2009; 23(3), 988–995. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.07.010.

KRAUSS, R.M.; BLANCHE, P.J.; RAWLINGS, R.S.; FERNSTROM, H.S.; WILLIAMS, P.T. Separate effects of reduced carbohydrate intake and weight loss on atherogenic dyslipidemia. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 2006; 83(5):1025-31.

- KUREK, M. A.; WYRWISZ, J., KARP, S.; WIERZBICKA, A. Effect of fiber sources on fatty acids profile, glycemic index, and phenolic compound content of in vitro digested fortified wheat bread. **Journal of Food Science and Technology**, 2018; 55(5), 1632–1640. doi:10.1007/s13197-018-3061-x.
- LAKENS, D. Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for *t*-tests and ANOVAs. **Front. Psychol.**, 2013; 4:863. doi: 10.3389/fpsyg.2013.00863.
- LAKSHMI, K.B.; VIMALA, V. Hypoglycemic effect of selected sorghum recipes. **Nutr Res**, 16, 1996, 1651-8.
- LE BOURVELLEC, C.; RENARD, C. M. G. C. Interactions between Polyphenols and Macromolecules: Quantification Methods and Mechanisms. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2012, 52(3), 213–248. doi: 10.1080/10408398.2010.499808
- LEE, B. H.; CARR, T. P.; WELLER, C. L.; CUPPETT, S.; DWEIKAT, I. M.; SCHLEGEL, V. GS whole kernel oil lowers plasma and liver cholesterol in male hamsters with minimal wax involvement. **Journal of Functional Foods**, 2014, 7, 709–718.
- LEE, S.H., CHUNG, I.M., CHA, Y.S., PARK, Y. Millet consumption decreased serum concentration of triglyceride and C-reactive protein but not oxidative status in hyperlipidemic rats. **Nutr Res**, 2010, 30:290-6.
- LEMLIOGLU-AUSTIN, D.; TURNER, N.D.; MCDONOUGH, C.M.; ROONEY, L.W. Effects of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] crude extracts on starch digestibility, estimated glycemic index (EGI), and resistant starch (RS) contents of porridges. **Molecules**, 2012; 17(9), 11124–11138.
- LI, N et al. Almond consumption reduces oxidative DNA damage and lipid peroxidation in male smokers. **J Nutr** 2007; 137.
- LIONETTI, E.; CATASSI, C. New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. **Int Rev Immunol**, 2011; 30:219–231.
- LIU, L; HERALD, TJ; WANG, D; WILSON, JD; BEAN, SR; ARAMOUNI, FM. Characterization of sorghum grain and evaluation of sorghum flour in a Chinese egg noodle system. **Journal of Cereal Science**, 2012, 55: 31–36.

LUKASKI, HC; JOHNSON, PE; BOLONCHUK, WW; LYKKEN, GI. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of human body. **Am J Clin Nutr** 1985; 41:810-7.

MARTINO, H.S.D.; TOMAZ, P.A.; MORAES, E.A.; CONCEIÇÃO, L.L. et al. Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption. **Rev Inst Adolfo Lutz**. 2012; 71(2):337-44.

MATOS SEGURA, M.E.; ROSELL, C.M. Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads. **Plant Foods Hum Nutr**, 2011, 66:224–230.

MCAULEY, K.A.; HOPKINS, C.M.; SMITH, K.J.; MCLAY, R.T.; et al. Comparison of high-fat and high-protein diets with a high-carbohydrate diet in insulin-resistant obese women. **Diabetologia**, 2005; 48(1):8-16.

MCCLEARY, B.V.; MCNALLY, M.; ROSSITER, P. J. **AOAC International**, 2002, 85, 103-1111.

MKANDAWIRE, N.L.; KAUFMAN, R.C.; BEAN, S.R.; WELLER, C.L.; JACKSON, D.S.; ROSE, D.J. Effects of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) tannins on α -amylase activity and in vitro digestibility of starch in raw and processed flours. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2013; 61(18), 4448–4454.

MOHAMMED, M. A.; MAKKI, H. M. M.; MUSTAFA, A. I. Production of cereal-based infant food from sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) and Pigeon Pea (*Cajanus cajan*). **Pakistan Journal of Nutrition**, 2011, 10(10), 910–913.

MORAES, E.A. et al. Sorghum flour fractions: Correlations among polysaccharides, phenolic compounds, antioxidant activity and glycemic index. **Food Chemistry**, 2015; 180, 116–123.

MORAES, E.A. et al. Sorghum genotype may reduce low-grade inflammatory response and oxidative stress and maintains jejunum morphology of rats fed a hyperlipidic diet. **Food Res Int** 2012; 49.

MOSKAUG, J.O.; CARLSEN, H.; MYHRSTAD, M.C.; BLOMHOFF, R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. **Am J Clin Nutr** 2005; 81.

MOZAFFARIAN, D. **Dietary and policy priorities for cardiovascular disease, diabetes, and obesity. A comprehensive review.** *Circulation* 133, 2016, 187–225.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, 2004; 1054, 95–111.

NEPA – UNICAMP. 4^a. ed. revisada e ampliada. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

NILAND, B.; CASH, B.D. Health Benefits and Adverse Effects of a Gluten-Free Diet in Non-Celiac Disease Patients. *Gastroenterology & Hepatology*, 2018; Volume 14, Issue 2, 82-91.

OLIVEIRA, G.T.; PINELI, L.L.O.; FIGUEIREDO, L.F.A. Dissertação de mestrado, Caracterização de farinhas de diferentes genótipos de sorgo e efeito da panificação nos teores de amido resistente e antioxidantes, Universidade de Brasília, 2016.

PARK, J.H.; LEE, S.H.; CHUNG, I.M.; PARK, Y. Sorghum extract exerts an anti-diabetic effect by improving insulin sensitivity via PPAR- γ in mice fed a high-fat diet. **Nutrition Research and Practice** (*Nutr Res Pract*), 2012, 6(4):322-327.

PEDREIRA, M.S.; REIS, R.A.; BERCHIELLI, T.T.; MOREIRA, A.L.; COAN, R.M. Características agronômicas e composição química de oito híbridos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **R. Bras. Zootec.**, 2003; v.32, n.5, p. 1083-1092.

PINELI, L.L.O.; ZANDONADI, R.P.; BOTELHO, R.B.A.; OLIVEIRA, V.R.; FIGUEIREDO, L.F.A. A systematic review. **Journal of Advanced Nutrition and Human Metabolism**, 2015; 2: e944. doi: 10.14800/janhm.944.

POMERANZ, Y. Research and development regarding enzyme resistant starch (RS) in the USA: a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, 1992, v.46, Sppl 2, p. S63 S68.

POQUETTE, N.M.; GU, X.; LEE, S.O. Grain sorghum muffin reduces glucose and insulin responses in men. **Food & Function**, 2014; 5, 894–899.

PRASAD, MPR et al. Glycaemic index and glycaemic load of sorghum products. **J Sci Food Agric**. 2015; 95:1626–1630.

PRICE, R.K. et al. Evaluation of the effect of wheat aleurone-rich foods on markers of antioxidante status, inflammation and endothelial function in apparently healthy men and women. **Br J Nutr** 2012; 108.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. Supplements, Easton, v. 53, p. 4290-4302, 2005.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

QUEIROZ, V.A.V.; CORREIA, V.T. da V.; MENEZES, C.B. de; MIGUEL, R. de A.; CONCEIÇÃO, R.R.P. da; PAIVA, C.L.; FIGUEIREDO, J.E.F. Retention of phenolic compounds and acceptability of gluten-free churros made with tannin or tannin-free sorghum flour. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.55, e02288, 2020.

QUEIROZ, V.A.V.; GONÇALVES, A.C.A.; RODRIGUES, J.A.S.; SCHAFFERT, R.E. **Como utilizar grãos de sorgo no preparo de produtos caseiros**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, Comunicado Técnico, 190, 2011.

QUEIROZ, V.A.V.; MENEZES, C.B.; DE BARROS, F.A.R.; MARTINO, H.S.D. **O sorgo na alimentação humana**. Embrapa Milho e Sorgo – Capítulo em livro científico (ALICE), 2015.

QUEIROZ, V.A.V.; VIZZOTTO, M.; CARVALHO, C.W.P de; MARTINO, H.S.D. **O sorgo na alimentação humana**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 133, pg.7, 2009.

RAGAEI, S., ABDEL-AAL, E. -S. M., & NOAMAN, M. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. **Food Chemistry**, 2006, 98(1), 32–38.

RAMPERTAB, SD; POORAN, N; BRAR, P; SINGH, P; GREEN, PH. Trends in the presentation of celiac disease. **Am J Med**, 2006; 119: 355.e9-355.14

RAY, T.K.; MANSELL, K.M.; KNIGHT, L.C.; MALMUD, L.S.; OWEN, O.E.; BODEN, G. Long-term effects of dietary fiber on glucose tolerance and gastric emptying in noninsulin-dependent diabetic patients. **Am J Clin Nutr**, 37, 1983, 376-81.
RHODES, D. H.; HOFFMANN, L.; JR., ROONEY, W. L.; RAMU, P.; MORRIS, G. P.; KRESOVICH, S. Genome-wide association study of grain polyphenol concentrations in global sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] germplasm. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62, 2014, 10916–10927.

ROBIN, F.; PALZER, S. Texture of breakfast cereals and extruded product. In Jianshe. Chen & Andrew. Rosenthal (Eds.), **Modifying food texture: Novel ingredient and processing techniques** (pp. 201–230). 2015. Cambridge: Woodhead.

ROMÃO, B.; BOTELHO, R.B.A.; ALENCAR, E.R.; DA SILVA, V.S.N.; PACHECO, M.T.B.; ZANDONADI, R.P. Chemical Composition and Glycemic Index of Gluten-Free Bread Commercialized in Brazil. **Nutrients**, 12, 2020, 2234. doi: 10.3390/nu12082234

ROONEY, L.; WANISKA, R. D. Sorghum food and industrial utilization. **Sorghum: Origin, History, Technology, and Production**. C. W. Smith and R. A. Frederiksen, Eds. John Wiley & Sons, Inc. New York, 2000. pp 689-750.

ROSELL, C.M.; MARCO, C. Rice. In: **Gluten-free cereal products and beverages**. Ed. E.K. Arendt & F. dal Bello. Elsevier Science, UK, 2008. ISBN 978-0-12-373739-7. pp 81-100.

ROSÉN, L.A.H., et al. Postprandial Glycemia, Insulinemia, and Satiety Responses in Healthy Subjects after Whole Grain Rye Bread Made from Different Rye Varieties. **J. Agric. Food Chem.**, 59, 2011, 12139–12148.

SANTOS, F.G.; AGUIAR, F.V.; CAPRILES, V.D. Analysis of ingredient and nutritional labeling of commercially available gluten-free bread in Brazil, **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 2019. doi: 10.1080/09637486.2018.1551336

SAPONE, A. et al. Spectrum of gluten disorders: consensus on new nomenclature and classification. **BMC Med**, 2012, 10, p. 13.

SCHAFFER-LEQUART, C.; LEHMANN, U.; ROSS, A.B.; ROGER, O.; ELDRIDGE, A.L.; ANANTA, E.; ROBIN, F. Whole grain in manufactured foods: Current use, challenges and the way forward. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2015.

SCHAFFERT, R. E. Desenvolvimento de cultivares de sorgo para o uso na alimentação humana. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n. 144, p.13-14, 1986.

SCHOBBER, TJ; BEAN, SR; BOYLE, DL. Gluten-free sorghum bread improved by sourdough fermentation: Biochemical, rheological, and microstructural background. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 2007, 55: 5137–5146.

SCHOBBER, TJ; MESSERSCHMIDT, M.; BEAN, SR, PARK, SH; ARENDT, EK. Gluten-free bread from sorghum: Quality differences among hybrids. **Cereal Chemistry**, 2005, 82: 394–404.

SCHUSTER, J.; OLIVEIRA, A.M.; DAL BOSCO, S.M. O papel da nutrição na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares e metabólicas. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio Grande do Sul**, 2015; Número 28.

SHEN, R.L., et al. Sorghum resistant starch reduces adiposity in high-fat diet-induced overweight and obese rats via mechanisms involving adipokines and intestinal flora. **Food and Agricultural Immunology**, 2015; v.26, p. 120-130.

SHIM, T. J.; KIM, T. M.; JANG, K. C.; KO, J. Y.; KIM, D. J. Toxicological evaluation and anti-inflammatory activity of a golden gelatinous sorghum bran extract. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 2013, 77(4), 697–705.

SIMNADIS, T.G.; TAPSELL, L.C.; BECK, E.J. Effect of sorghum consumption on health outcomes: a systematic review. **Nutrition Reviews**, 2016, Vol. 0(0):1–18.

SINGH, P. et al. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, 2018, 16(6), 823-836.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144-158, 1965.

SOARES, R.R.A.; VASCONCELOS, C.M.; OLIVEIRA, M.V. de; MINIM, V.P.R.; QUEIROZ, V.A.V.; BARROS, F. Starch digestibility and sensory acceptance of gluten-free foods prepared with tannin sorghum flour. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2019, v.54, e01205.

SRICHUWONG, S.; CURTI, D.; AUSTIN, S.; KING, R.; LAMOTHE, L.; GLORIA-HERNANDEZ, H. Physicochemical properties and starch digestibility of whole grain sorghums, millets, quinoa and amaranth flours, as affected by starch and non-starch constituents. **Food Chemistry**, 2017; 233, 1–10.

STEFOSKA-NEEDHAM, A.; BECK, E.J.; JOHNSON, S.K.; TAPSELL, L.C. Sorghum: An underutilized cereal whole grain with the potential to assist in the prevention of chronic disease. **Food Reviews International**, 2015; 31, 401–437.

STROBEL, N.A.; FASSETT, R.G.; MARSH, S.A.; COOMBES, J.S. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. **Int J Cardiol** 2011; 147.

SUGANYADEVI, P. P.; SARAVANAKUMAR, K. M.; MOHANDAS, S. S. The antiproliferative activity of 3-deoxyanthocyanins extracted from red sorghum (Sorghum

bicolor) bran through P53-dependent and Bcl-2 gene expression in breast cancer cell line. **Life Sciences**, 2013, 92(6/7), 379–382.

TAHIR, R.; ELLIS, P. R.; BUTTERWORTH, P. J. The relation of physical properties of native starch granules to the kinetics of amylolysis catalyzed by porcine pancreatic α -amylase. **Carbohydrate Polymers**, 2010; 81, 57–62.

TALEON, V.; DYKES, L.; ROONEY, W.; ROONEY, L. Environmental effect on flavonoid concentrations and profiles of red and lemon-yellow sorghum grains. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2014, 34, 178–185.

TAYLOR, J.; BELTON, P.S.; BETA, T.; DUODU, K.G. Increasing the utilisation of sorghum, millets and pseudocereals developments in the science of their phenolic phytochemicals, biofortification and protein functionality. **Journal of Cereal Science**, 2013.

TAYLOR, J.R.N.; BELTON, P.S. **Pseudocereals and less common cereals. Grain properties and utilization potential.** In Sorghum. Edited by. Berlin: Springer; 2002: 25-91.

TAYLOR, JRN; DUODU, KG. Effects of processing sorghum and millets on their phenolic phytochemicals and the implications of this to the health-enhancing properties of sorghum and millet food and beverage products. **J Sci Food Agric.**, 2015; 95:225–237.

TAYLOR, J.R.N.; EMMAMBUX, M.N. Products containing other speciality grains: sorghum, the millets and pseudocereals. In Bruce R. Hamaker (Ed.), **Technology of functional cereal products**, 2008 (pp. 281–336). Cambridge: Woodhead.

TAYLOR, J. R.; SCHOBER, T. J.; BEAN, S. R. Novel and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science**, 2006, 44(3), 252–271.

THOMPSON, T. Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet. **J Am Diet Assoc**, 2000; 100:1389–1396.

TORABIAN, S.; HADDAD, E.; RAJARAM, S.; BANTA, J.; SABATE, J. Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. **J Hum Nutr Diet** 2009; 22.

TOSH SM. Review of human studies investigating the post-prandial blood-glucose lowering ability of oat and barley food products. **Eur J Clin Nutr.**, 2013; 67:310–317.

TRAPPEY, E.F.; KHOURYIEH, H.; ARAMOUNI, F.; HERALD, T. Effect of sorghum flour composition and particle size on quality properties of gluten-free bread. **Food Science and Technology International**, 2015; 21(3):188-202.

TURSI, A; BRANDIMARTE, G; GIORGETTI, G; GIGLIOBIANCO, A; LOMBARDI, D; GASBARRINI, G. Low prevalence of antigliadin and anti-endomysium antibodies in subclinical/silent celiac disease. **Am J Gastroenterol**, 2001; 96: 1507-1510

USDA-Foreign Agricultural Service. **Grain: World markets and trade**, 2021.

USDA- Foreign Agricultural Service. National nutrient database for standard reference. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods>>.

VERDU, E.F.; ARMSTRONG, D.; MURRAY, J.A. Between celiac disease and irritable bowel syndrome: the “no man's land” of gluten sensitivity. **Am J Gastroenterol**, 2009, 104, pp. 1587-1594.

VIEIRA, F.G.; DI PIETRO, P.F.; DA SILVA, E.L.; BORGES, G.S.; NUNES, E.C.; FETT, R. Improvement of serum antioxidant status in humans after the acute intake of apple juices. **Nutr Res** 2012; 32.

VOLTA, U.; BARDELLA, M.T.; CALABRÒ, A.; TRONCONE, R.; CORAZZA, G.R. Study group for non-celiac gluten sensitivity. An Italian prospective multicenter survey on patients suspected of having non-celiac gluten sensitivity. **BMC Med**, 2014. Doi: v10.1186/1741-7015-12-85

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, p. 304-309, 1997.

WANG, S. et al. How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. **Food Res Int.**, 2011; 44:14–22.

WEE, M.S.M; HENRY, C.J. Reducing the glycemic impact of carbohydrates on foods and meals: Strategies for the food industry and consumers with special focus on Asia. **Compr Rev Food Sci Food Saf.**, 2020; 19:670–702.

WEICKERT, M.O.; PFEIFFER, A.F. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. **J Nutr**, 2008; 138(3):439–42.

WESTMAN, E.C.; YANCY JR, W.S.; MAVROPOULUS, J.C.; MARQUART, M.; MCDUFFIE, J.R. The effect of a low-carbohydrate, ketogenic diet versus a low-

glycemic index diet on glycemic control in type 2 diabetes mellitus. **Nutr Metab (Lond)**, 2008, 5:36. doi:10.1186/1743-7075-5-36.

WGO, WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION GLOBAL GUIDELINES. **Celiac Disease**, 2016.

WOLEVER, T.M.S; JEKINS, D.J.A; JEKINS, A.L.; JOSSE, R.G. The glycemic index: methodology and clinical implications. *Am J Nutr*, 1991;54:946-54.

WOLTER, A., HAGER, A.S., ZANNINI, E., ARENDT, E.K. Influence of sourdough on in vitro starch digestibility and predicted glycemic indices of gluten-free breads. **Food Funct.**, 2014; 5: 564–572. doi: 10.1039/c3fo60505a

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic: Report of a WHO Consultation. **Technical Report Series**, 2000; no. 894, pp. 241–243. Geneva: WHO. ISBN: 92 4 120894 5.

WU, G.; JOHNSON, S. K.; BORNMAN, J. F.; BENNETT, S. J.; FANG, Z. Changes in whole grain polyphenols and antioxidant activity of six sorghum genotypes under different irrigation treatments. **Food Chemistry**, 2017, 214, 199–207.

WU, G.; JOHNSON, S. K.; BORNMAN, J. F.; BENNETT, S. J.; SINGH, V.; SIMIC, A.; FANG, Z. Effects of genotype and growth temperature on the contents of tannin, phytate and in vitro iron availability of sorghum grains. **PloS One**, 2016, 11, e0148712.

YANG, L.; DYKES, L.; AWIKA, J.M. Thermal stability of 3-deoxyanthocyanidin pigments. **Food Chemistry**, 2014; 160, 246-254.

YANG, M.; CHUNG, S-J; FLOEGEL, A.; SONG, W.O.; KOO, S.I.; CHUN, O.K. Dietary antioxidant capacity is associated with improved serum antioxidant status and decreased serum C-reactive protein and plasma homocysteine concentrations. **Eur J Nutr** 2013; 52.

YOUSIF, A; NHEPERA, D; JOHNSON, S. Influence of sorghum flour addition on flat bread in vitro starch digestibility, antioxidant capacity and consumer acceptability. **Food Chem.**, 2012; 134:880–887.

ANEXO 1 – Ficha Técnica de Preparação dos pães controle e de sorgo

Ingredientes	PB (g)	PL (g)	FC	Modo de Preparo
Farinha de arroz ou sorgo	200,0	200,0	1,00	Regenerar o fermento biológico seco por 10 minutos para pré-fermentação na temperatura de 37°C a 43°C em água morna e açúcar. Misturar os ingredientes secos. Adicionar a água morna junto com o óleo, depois o ovo inteiro e a clara e misturar. Por último adicionar o fermento levedado. Quando a mistura ficar homogênea colocar nas formas, previamente untadas, e deixar fermentar por 25 minutos (até dobrar de volume). Assar o pão em forno préaquecido a 190°C por aproximadamente 45 minutos. Deixar esfriar, desenformar e servir.
Fécula de batata	90,0	90,0	1,00	
Polvilho doce	37,0	37,0	1,00	
Goma xantana	3,5	3,5	1,00	
Açúcar mascavo	25,0	25,0	1,00	
Sal	5,0	5,0	1,00	
Água	280,0	280,0	1,00	
Óleo vegetal	48,0	48,0	1,00	
Ovo	60,0	54,0	1,11	
Clara de ovo	33,0	33,0	1,00	
Fermento biológico seco	10,0	10,0	1,00	
Açúcar mascavo	9,0	9,0	1,00	
Água morna	100,0	100,0	1,00	

Valor energético total (VET): 1769kcal

VET individual: 59kcal

PTN: 36g 144kcal 8%
LIP: 57g 513kcal 29%
CHO: 278g 1112kcal 63%

Fator de Cocção: 0,70

Rendimento: 667g (2 pães)

Porção: 1 fatia de 22g

ANEXO 2 – Protocolo de Determinação de Umidade

Materiais:

- Cadinhos de porcelana
- Balança analítica
- Estufa
- Dessecador com sílica gel
- Pinça
- Espátula
- Almofariz
- Pistilo

Procedimento:

1. Pesar cada cadinho individualmente (P1).
2. Em um almofariz colocar um pedaço de cada amostra e macerar com o pistilo até que esteja bem homogêneo.
3. Com a espátula, pesar aproximadamente 1,5g de cada amostra nos cadinhos e anotar o peso (P2).
4. Levar à estufa a 105°C por 5 horas.
5. Retirar da estufa com pinça e resfriar no dessecador até atingir a temperatura ambiente (aproximadamente 30 minutos).
6. Retirar do dessecador, pesar (P3) e calcular o percentual de umidade de cada amostra.

O valor de umidade foi encontrado a partir da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Umidade} = \frac{P3 - P1 \times 100}{P2}$$

P1: Peso do cadinho

P2: Peso inicial da amostra

P3: Peso da matéria seca

ANEXO 3 – Protocolo de Determinação de Cinzas

Materiais:

- Cadinhos de porcelana
- Balança analítica
- Mufla
- Dessecador com sílica gel
- Pinça
- Espátula
- Almofariz
- Pistilo

Procedimento:

1. Pesar cada cadinho individualmente (P1).
2. Em um almofariz colocar um pedaço de cada amostra e macerar com o pistilo até que esteja bem homogêneo.
3. Com a espátula, pesar aproximadamente 5g de cada amostra (P2) em um cadinho e anotar o peso.
4. Levar à mufla a 550°C por 4 horas.
5. Retirar da mufla e resfriar no dessecador até atingir a temperatura ambiente (aproximadamente 1 hora).
6. Retirar do dessecador, pesar a amostra (P3) e calcular o percentual de umidade de cada amostra.

O valor das cinzas é encontrado a partir da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{P3 - P1 \times 100}{P2}$$

P1: Peso do cadinho

P2: Peso inicial da amostra

P3: Peso das cinzas

ANEXO 4 – Protocolo de Determinação de Proteínas

Materiais:

- Balança analítica
- Béqueres
- Tubos de ensaio
- Suporte para tubos de ensaio
- Bureta de 25mL
- Pipeta graduada de 25mL
- Chapa elétrica ou manta aquecedora
- Bailarina
- Espátula
- Destilador de Kjeldhal
- Capela de exaustão

Reagentes:

- Ácido bórico 4%
- Ácido clorídrico 0,1N
- Ácido sulfúrico 0,05 M
- Vermelho de metila a 1% m/v
- Azul de metileno
- Hidróxido de sódio a 40% m/v

Procedimento:

1. Em um almofariz colocar um pedaço de cada amostra e macerar com o pistilo até que esteja bem homogêneo.
2. Com a espátula, pesar aproximadamente 0,3g de cada amostra em sextuplicata em um papel e anotar o peso.
3. Transferir as amostras para tubos de ensaio e adicionar 1g da mistura digestora e 3,5mL de H₂SO₄.
4. Aquecer numa chapa elétrica ou manta aquecedora na capela de exaustão por aproximadamente 4 horas, até que a solução atinja 450°C e se torne azul-esverdeada.
5. Após resfriamento, adicionar às amostras 10mL de água destilada e submetê-las ao destilador de nitrogênio neutralizadas com 10,5mL de NaOH 40%.
6. O NH₃ condensado será recolhido reagindo numa solução de 7,5mL de H₃BO₃ 4%. O NH₃ será titulado com HCl 0,1N e indicador vermelho de metila e azul de metileno em bureta graduada até o ponto de viragem.

O cálculo do teor de nitrogênio será calculado pela seguinte fórmula:

$$\%N = \frac{V \times N \times f \times 14 \times 100}{P}$$

Em que:

V = Volume gasto de HCl

N = Normalidade do HCl

F = fator de correção do HCl

P = Peso da amostra (mg)

O cálculo para obtenção de proteína bruta foi determinado pelo fator de conversão de nitrogênio (% N) de 6,25, baseando-se no fato de que o teor de proteína possui cerca de 16% de nitrogênio, calcula-se o teor proteico com a seguinte fórmula:

$$\% \textit{ Proteína} = \% N \times 6,25$$

ANEXO 5 – Protocolo de Determinação de Lipídios

Materiais:

- Balança analítica
- Sachês de TNT
- Seladora
- Estufa
- Dessecador com sílica gel
- Extrator de gordura
- Pinça

Reagente:

- Éter de petróleo

Procedimento:

1. Em um almofariz colocar um pedaço de cada amostra e macerar com o pistilo até que esteja bem homogêneo.
2. Com a espátula, pesar aproximadamente 1,5g de cada amostra (P1) em sachês devidamente identificados e selados.
3. Levar à estufa a 105°C por 2 horas.
4. Retirar da estufa e levar ao dessecador para resfriamento e pesagem (P2).
5. Depois dessa etapa, levar os sachês ao extrator de gordura da marca ANKOM® (Modelo XT10) com solvente éter de Petróleo durante 1 hora, pela extração por arraste, sob pressão.
6. Retirar as amostras com uma pinça e levar à estufa a 105°C para finalizar a evaporação do solvente.
7. Levar ao dessecador até atingirem temperatura ambiente (aproximadamente 30 minutos) e pesar (P3).

O teor de lipídios será calculado a partir da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Lipídeos} = \frac{P2 - P3 \times 100}{P1}$$

P1: Peso inicial da amostra

P2: Peso após a estufa

P3: Peso após final

ANEXO 6 – Protocolo de Determinação de Amido Resistente

Materiais:

- Béqueres
- Balão volumétrico de 1L
- Balão volumétrico de 2L
- Erlenmeyer
- Tubos de Falcon para centrífuga
- Frascos de vidro
- Frascos de vidro âmbar
- Papel alumínio
- Shaker ou vórtex
- Barra magnética
- Pipeta
- Medidor de pH
- Centrífuga
- Banho-maria com rotação

Preparo das soluções:

- Tampão maleato de sódio:** dissolver 23.2g de ácido maleico em 1600mL de água destilada e ajustar o pH para 6,0 com 4M (160g/L) de hidróxido de sódio. Adicionar 1.47g de cloreto de cálcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e 0,4g de azida de sódio e dissolver. Ajustar o volume para 2L. Armazenar a 4°C por até 12 meses.
- Tampão acetato de sódio (1,2M pH 3,8):** Adicionar 69,6mL de ácido acético glacial (1,05g/mL) a 800mL de água destilada e ajustar para pH 3,8 usando 4M hidróxido de sódio. Ajustar o volume para 1L com água destilada. Armazenar em temperatura ambiente por até 12 meses.
- Tampão acetato de sódio (0,1M pH 4,5):** Adicionar 5,8mL de ácido acético glacial a 900mL de água destilada e ajustar ao pH 4,5 usando 4M hidróxido de sódio. Ajustar o volume para 1L com água destilada. Armazenar a 4°C por até 2 meses.
- Solução de hidróxido de potássio (2 M):** Adicionar 112,2g de KOH a 900mL de água deionizada e dissolver mexendo. Ajustar o volume para 1L. Armazenar em frasco bem vedado à temperatura ambiente.
- Etanol aquoso (aprox. 50% v/v):** Adicionar 500mL de etanol (95% v/v ou 99% v/v) a 500mL de água. Armazenar em frasco bem vedado à temperatura ambiente.
- Diluição da AMG:** diluir 2mL de AMG em 22 mL de tampão maleato de sódio (0,1M; pH 6,0; reagente 1).

- g) **Solução 2:** Imediatamente antes do uso suspender 1g de (α -amilase pancreática) em 100mL de tampão maleato de sódio (0,1M; pH 6,0; reagente 1) e misturar por 5 minutos. Adicionar 1mL de AMG diluída e misturar bem. Centrifugar a 1500g por 10 minutos e decantar com cuidado o sobrenadante.
- h) **Solução 3:** Diluir o conteúdo do GOPOD Reagent Buffer em 1L de água destilada.
- i) **GOPOD Reagent:** Dissolver o conteúdo do GOPOD Reagent Enzymes em 20mL da solução 3. Cobrir o frasco com papel alumínio para proteger da luminosidade.

Procedimento:

Antes de começar o experimento, ligar o espectrofotômetro, pegar gelo, colocar os reagentes na temperatura ambiente (exceto álcoois), ajustar o banho-maria para 37°C e descongelar o GOPOD e a enzima AMG.

1ª etapa: Hidrólise e solubilização do amido não resistente

1. Pesar 100 ± 5 mg de amostra em erlenmeyer de 250mL.
2. Adicionar 4,0 mL da solução 2 (α -amilase pancreática - 10mg/ml - contendo AMG).
3. Tampar bem com parafilme, agitar no shaker e colocar no banho-maria com agitação a 37°C por 16 horas a 200 rpm.
4. Retirar os erlenmeyers do banho-maria. Remover o parafilme, adicionar 4mL de etanol (99%) gelado e agitar no shaker por 1 min.
5. Transferir o conteúdo de cada erlenmeyer para tubos de falcon específicos de centrífuga previamente identificados. Centrifugar os tubos a 1500g por 10 minutos a 4°C.
6. Separar cuidadosamente os sobrenantes (em um novo tubo de falcon de 50mL identificado) e re-suspender os precipitados em 2mL de etanol 50% gelado com agitação vigorosa no vórtex durante 10 segundos.
7. Adicionar mais 6mL de etanol 50% gelado, agitar no vórtex por 10 segundos e centrifugar novamente a 1500g por 10 minutos a 4°C.
8. Repetir os passos 6 e 7 anteriores.
9. Separar cuidadosamente os sobrenadantes (nos tubos de falcon identificados). Aguardar por 5 minutos na capela de exaustão até todo o álcool residual evaporar.

2ª etapa: Quantificação do amido resistente

1. Adicionar barra magnética nos tubos de falcon e submeter à agitação por 20 minutos em um banho de gelo (béquer de 500mL com 1/3 de gelo com água) sobre um agitador magnético (velocidade 7 de agitação). Após 1 minuto de agitação, adicionar 2mL de KOH 2M nos tubos.

2. Adicionar 7mL de tampão de acetato de sódio 1,2M (pH 3,8) em cada tubo sob agitação, ainda no banho de gelo. Adicionar mais 1mL desta solução, no momento de retirar as barras magnéticas subindo o ímã nas paredes dos tubos, limpando-os.
3. Colocar os tubos no banho-maria com agitação a 50°C. Depois de 5 minutos, adicionar 0,1mL da AMG concentrada e vedá-los com parafilme. Ligar a agitação a 200 rpm por 30 minutos.
4. Transferir o conteúdo de cada tubo para um balão volumétrico de 100mL, lavando com água destilada. Ajustar o volume para 100mL, tampar e agitar bem por 1 minuto. Voltar o conteúdo para os tubos de falcon e centrifugar uma alíquota desta solução a 1500g por 10 minutos a 4°C.
5. Transferir alíquotas de 0,1mL (em duplicata) do sobrenadante para tubos de vidro identificados, adicionar 3mL da solução 4 (GOPOD), tampar com parafilme e agitar. Preparar os padrões de D-glicose (em quadruplicatas) misturando 0,1mL de D-glicose (solução 5), 3mL de reagente GOPOD, tampar e agitar. Fazer o branco com 0,1mL de tampão de acetato de sódio pH 4,5, 3mL de GOPOD, tampar e agitar. Em seguida colocar todos os tubos no banho-maria com agitação a 50°C por 20 minutos a 200 rpm dentro de béqueres com água a 50°C.
6. Medir a absorvância de cada solução a 510nm.

ANEXO 7 – Protocolo de Análise de Atividade Antioxidante pelo Método de ORAC

EXTRATO

Materiais:

- Béqueres
- Tubos falcon de 15mL
- Tubos falcon de 50mL
- Balão volumétrico de 50mL
- Funil
- Frascos de vidro de 1L
- Frascos de vidro âmbar de 50mL
- Pipetas
- Lã de vidro
- Centrífuga
- Mesa agitadora
- Balança analítica

Preparo dos Extratos:

a) Solução metanol 70% acidificado com 1% HCl

Em balão volumétrico de 1L, adicionar 690mL de álcool metílico e 100mL de água destilada, depois adicionar 10mL de ácido clorídrico e completar o volume para 1L com água destilada. Homogeneizar e transferir para um frasco de vidro. Armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

b) Solução acetona 70%

Em balão volumétrico de 1L, adicionar 700mL de acetona e completar o volume para 1L com água destilada. Homogeneizar e transferir para um frasco de vidro. Armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

Procedimento:

1. Em um tubo de falcon de 15mL, pesar 0,5 g de amostra. Anotar o peso exato.
2. Adicionar 10mL de metanol 70% 1%HCl, homogeneizar em mesa agitadora por 2 horas e manter em repouso overnight.
3. No dia seguinte, centrifugar a 4000 rpm por 10 minutos.
4. Recolher o sobrenadante para um tubo de falcon de 50mL.
5. Adicionar 10mL de metanol 70% 1%HCl ao resíduo da primeira extração (no tubo de falcon de 15mL).
6. Homogeneizar em mesa agitadora por 30 minutos.
7. Centrifugar a 4000 rpm por 10 minutos e recolher o sobrenadante para o tubo de falcon de 50mL.
8. Repetir a extração com 10mL de acetona 70% duas vezes, totalizando quatro extrações.
9. Transferir o conteúdo do tubo de falcon de 50mL para um balão volumétrico de 50mL com auxílio de um funil. Completar o volume com água destilada.
10. Transferir o conteúdo do balão para vidro âmbar com o auxílio de um funil, filtrando o extrato com lã de vidro.
11. Manter o extrato congelado a -80°C até o momento das análises.

ANÁLISE

Materiais:

- Béqueres
- Balão volumétrico de 10mL
- Balão volumétrico de 100mL
- Balão volumétrico de 1L
- Frasco de vidro
- Frasco de vidro âmbar
- Balança analítica
- Papel alumínio
- Fluorímetro
- Placa de fluorescência

- Pipetas automáticas
- Medidor de pH

Preparo das Soluções:

a) Tampão fosfato pH 7,4

Solução A: 2,40 g de NaH_2PO_4 em 100mL de água destilada em balão volumétrico.

Solução B: 26,81g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em 500mL de H_2O em balão volumétrico.

Misturar 71mL da solução A e 304mL da solução B em balão volumétrico de 1L, completar o volume com água deionizada. Se necessário ajustar o pH para 7,4.

b) Fluoresceína 16,371.10-8mol/L em tampão fosfato

Solução Mãe (SM): 10mg de fluoresceína em 50mL de tampão fosfato (53,15mmol/L).

Solução de trabalho: 15,4 μL de SM em 50mL de tampão fosfato.

Observações: a solução mãe pode ser preparada e mantida sob refrigeração por 30 dias em frasco âmbar, já a solução de trabalho deve ser preparada no mesmo dia da análise.

c) Solução de AAPH 178 mmol/L em tampão fosfato

Solução de trabalho: 241,3mg em 5mL de tampão fosfato.

Observação: A solução de AAPH deve ser preparada no mesmo dia da análise e mantida sob refrigeração até o momento da análise e protegida da luz (envolver o balão volumétrico com papel alumínio).

d) Solução de trolox Solução Mãe (SM): 20,51mg em 10mL de tampão fosfato

Devido a sua baixa solubilidade em água, o trolox deve ser adicionado a etanol (aproximadamente 1mL) até a dissolução total do sólido e só então o tampão fosfato é adicionado.

Solução 1: Diluir uma alíquota de 500 μL da SM em 50mL de tampão fosfato.

Soluções de trabalho: são preparadas 6 soluções em balões volumétricos de 10mL segundo a tabela 2.

Tabela 2 – Diluições do padrão (Trolox) para a construção da curva de calibração.

Diluições	Concentração ($\mu\text{mol/L}$)	Volume de Solução 1 (mL)
1	40	5,00
2	30	3,75
3	20	2,50
4	10	1,25
6	branco	0,00

Procedimento:

1. Adicionar 1,50mL de solução de trabalho de fluoresceína (concentração final 63mmol/L) a 0,75mL de tampão (branco), trolox (padrão) ou amostra e deixar a 37°C por 10 minutos.
2. Adicionar 0,75mL de solução de trabalho de AAPH e fazer leitura da fluorescência (485nm e 520nm) a cada minuto. O pico de absorção da fluoresceína está entre 450 e 500nm e o de emissão entre 510 e 550nm.
3. Determinar a área sob a curva (AAC_{bruta}) de cada padrão e subtrair a bruta área sob a curva do branco encontrando a área líquida ($AAC_{líquida} = AAC_{bruta} - AAC_{branco}$).
4. Construir um gráfico de $AAC_{líquida}$ por concentração de trolox (μM).
5. Calcular a área líquida ($AAC_{líquida} = AAC_{amostra} - AAC_{branco}$) para cada concentração da amostra.
6. Interpolar o resultado ao gráfico do padrão (trolox).
7. Fazer as correções dos fatores de diluição a fim de encontrar um resultado expresso em $\mu\text{mol/L}$ Trolox equivalente por grama de matéria seca ou por mL de solução.

ANEXO 8 – Protocolo de Análise de Capacidade Antioxidante pelo Método FRAP

Materiais:

- Béqueres
- Balão volumétrico de 50mL
- Balão volumétrico de 100mL
- Balão volumétrico de 1L
- Tubos de Eppendorf
- Estante para tubos de Eppendorf
- Pipetas
- Ponteiras para pipeta automática
- Frascos de vidro
- Frascos de vidro âmbar
- Balança analítica
- Banho-maria
- Medidor de pH
- Espectrofotômetro
- Cubetas para espectrofotômetro
- Piceta com água MilliQ
- Papel para limpar cubetas
- Parafilme

Preparo das soluções:

a) Tampão acetato 0,3M pH 3,6

Em um béquer de 1000mL, dissolver 40,8g de acetato de sódio em 16mL de ácido acético glacial. Adicionar 800mL de água destilada e verificar o pH usando o medidor de pH. Se necessário, ajustar pH com solução HCl 40mM. Transferir para um balão volumétrico de 1L e completar o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sobre refrigeração por tempo indeterminado.

b) Solução de HCl 40mmol/L

Adicionar 3,34mL de HCl concentrado em balão volumétrico de 1L e completar o volume com água destilada. Homogeneizar e armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

c) Solução de TPTZ 10mM

Pesar 3,12g de TPTZ e adicionar 5mL de HCl 40mM. Transferir para um balão volumétrico de 1L e completar o volume com água destilada. Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 30 dias.

d) Solução de Cloreto Férrico 20mM

No dia da análise, dissolver 0,54g de cloreto férrico em água destilada. Transferir para um balão volumétrico de 100mL e completar até o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sob refrigeração.

e) Solução padrão de Sulfato Ferroso

Pesar 0,0556g de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em béquer de 10mL. Transferir quantitativamente (lavar o béquer com água MilliQ 3 vezes) para balão volumétrico de 50mL e completar o volume com água MilliQ. Esta é a solução Mãe. Diluir a solução mãe para obter as concentrações da Tabela 3.

Tabela 3 – Curva padrão de Sulfato Ferroso

Concentração μM	Solução de Sulfato Ferroso (μL)	Água MilliQ (μL)
0	0	1000
100	50	950
250	125	875
500	250	750
1000	500	500
1500	750	250
2000	1000	0

Procedimento:

1. Ligar o banho-maria a 37°C.
2. Preparar o reagente FRAP misturando em um frasco de vidro âmbar:
 - 25mL de tampão acetato 0,3M pH 3,6
 - 2,5mL de solução de TPTZ 10mM
 - 2,5mL de solução de cloreto férrico 20mM
3. Quando o banho-maria estiver na temperatura correta, encubar o reagente FRAP por 30 minutos.

CURVA PADRÃO

1. Enquanto o reagente FRAP estiver encubado, preparar os tubos de Eppendorf da curva padrão de sulfato ferroso. Para isso, transferir, em triplicata, uma alíquota de 30 μL de cada concentração de sulfato ferroso para tubos de Eppendorf.

2. Depois acrescentar 90 μ L de água MilliQ e homogeneizar.
3. No espectrofotômetro, inserir uma cubeta com água MilliQ para fazer a calibração.
4. Após os 30 minutos de encubação do reagente FRAP, transferir o conteúdo do tubo de Eppendorf para uma cubeta do espectrofotômetro.
5. Adicionar 900 μ L do reagente FRAP, homogeneizar rapidamente tampando a cubeta com parafilme e fazer a leitura no espectrofotômetro a 593nm.
6. Fazer isso com cada tubo de Eppendorf e anotar os dados para construir a curva padrão. As concentrações de sulfato ferroso são plotadas no eixo X, e as respectivas absorbâncias no eixo Y para calcular a equação da reta.

Observações:

Manter sempre o reagente FRAP dentro do banho-maria para não perder temperatura. Começar a leitura do espectrofotômetro pelas menores concentrações de sulfato ferroso.

ANÁLISE DAS AMOSTRAS

1. Retirar as amostras que serão analisadas do freezer no mínimo 10 minutos antes da análise.
2. Transferir, em triplicata, uma alíquota de 30 μ L de cada amostra para tubos de Eppendorf.
3. Depois acrescentar 90 μ L de água MilliQ e homogeneizar.
4. No espectrofotômetro, inserir uma cubeta com água MilliQ para fazer a calibração.
5. Após os 30 minutos de encubação do reagente FRAP, transferir o conteúdo do tubo de Eppendorf para uma cubeta do espectrofotômetro.
6. Adicionar 900 μ L do reagente FRAP, homogeneizar rapidamente tampando a cubeta com parafilme e fazer a leitura no espectrofotômetro a 593nm.
7. Cronometrar 4 minutos e fazer a segunda leitura, deixando o espectrofotômetro sempre fechado nesse período.
8. Descartar o conteúdo da cubeta e lavá-la com água MilliQ. Deixar secando antes de fazer a leitura da próxima amostra.

9. Repetir o processo com todas as amostras e anotar os resultados das leituras de absorvância para colocá-los na curva padrão.
10. O resultado que deve ser colocado na curva padrão é a diferença entre a segunda leitura e a primeira ($\Delta 4 - \Delta 0$).

Observações:

Manter sempre o reagente FRAP dentro do banho-maria para não perder temperatura.

Escolher um ponto da curva padrão para realizar leitura toda vez que fizer análise de amostras.

APÊNDICE 1 – Questionário de saúde



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Laboratório de Técnica Dietética
Laboratório de Bioquímica da Nutrição

Efeito no controle glicêmico e de antioxidante in vivo de pães de sorgo rico em tanino e amido resistente

Coordenadora: Prof^a. Dra. Raquel Braz Assunção Botelho

Pesquisadores: Prof. Dr. Caio Eduardo Gonçalves Reis

Pós-graduanda: Lorenza Rodrigues dos Reis Gallo (Doutorado)

Colaboradores: Débora Alencar, Gabrielle Porto e Joyce Brenda

Convidamos o Senhor a participar do projeto de pesquisa “Efeito no controle glicêmico e de antioxidante in vivo de pães de sorgo rico em tanino e amido resistente”, sob a responsabilidade da pesquisadora Lorenza Gallo. O objetivo desta pesquisa é verificar a resposta metabólica após o consumo de pão de sorgo.

A sua participação se dará por meio do consumo de pães e posterior coleta de sangue, totalizando 5 sessões com duração de 3 horas cada. Serão realizadas coletas de 4mL de sangue para realização de exames de glicemia e insulina nos tempos determinados (0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 e 180 minutos) após o consumo do pão. Já nos tempos 0, 60, 120 e 180 minutos após o consumo do pão serão coletados 2mL de sangue para avaliação da capacidade antioxidante do plasma sanguíneo. A glicemia capilar de jejum será aferida por punção digital, utilizando glicosímetro e fita reagente. Em 4 sessões você deverá comparecer à Faculdade de Ciências da Saúde e em 1 sessão ao Laboratório Sabin para realização dos testes. Para a coleta de sangue das 4 sessões o senhor deverá comparecer ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição (Núcleo de Nutrição, Universidade de Brasília) entre 7 – 8 horas da manhã (data e horário previamente agendados), em jejum de 12h para a realização dos experimentos. A coleta realizada no Laboratório Sabin será previamente agendada, podendo ser realizada inclusive no sábado ou domingo. Nenhum dos experimentos terá qualquer custo para o voluntário.

QUESTIONÁRIO DE TRIAGEM

I) Dados pessoais:

Data: ____/____/____

Nome: _____

Endereço:

Celular: _____ Tel. Residencial: _____ Trabalho: _____ Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Estado Civil: _____

Escolaridade: _____ Profissão: _____ Ocupação: _____

E-mail: _____

Marque o dia e horário disponível para coleta de sangue no Laboratório da UnB:

Segunda-feira	Terça-feira	Quinta-feira	Sexta-feira
<input type="checkbox"/> 7h às 10h	<input type="checkbox"/> 7h às 10h	<input type="checkbox"/> 7h às 10h	<input type="checkbox"/> 7h às 10h
<input type="checkbox"/> 7h30 às 10h30	<input type="checkbox"/> 7h30 às 10h30	<input type="checkbox"/> 7h30 às 10h30	<input type="checkbox"/> 7h30 às 10h30
<input type="checkbox"/> 8h às 11h	<input type="checkbox"/> 8h às 11h	<input type="checkbox"/> 8h às 11h	<input type="checkbox"/> 8h às 11h

II) História médica

História patológica progressa

Você tem alguma doença diagnosticada?

<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Obesidade	<input type="checkbox"/> Resistência à Insulina	<input type="checkbox"/> Diabetes Mellitus
<input type="checkbox"/> Hipotireoidismo	<input type="checkbox"/> Hipertireoidismo	<input type="checkbox"/> Hipertensão	<input type="checkbox"/> Doença cardiovascular
<input type="checkbox"/> Problema gastrointestinal	<input type="checkbox"/> Dislipidemia*	<input type="checkbox"/> Asma	<input type="checkbox"/> Outra. Qual?

*Colesterol total/LDL/Triglicerídeos aumentado e/ou HDL abaixo do normal

História Familiar de doença metabólica:

Pai: Obesidade Diabetes Mellitus Hipertensão Dislipidemia

Mãe: Obesidade Diabetes Mellitus Hipertensão Dislipidemia

Irmãos: Obesidade Diabetes Mellitus Hipertensão Dislipidemia

Avós: Obesidade Diabetes Mellitus Hipertensão Dislipidemia

III) Outras informações

Seu peso variou em mais de 5 kg nos últimos 3 meses?

() Sim () Não

Faz dieta ou participa de algum programa de controle de peso?

() Sim () Não

Você faz uso de algum remédio ou suplemento alimentar (vitaminas, minerais, proteínas...)?

() Sim () Não Qual(is)?

Você tem alguma alergia a remédios, alimentos ou outras substâncias?

() Sim () Não Qual(is)?

Sintomas:

Você fuma ou usa outro tipo de fumo?

() Sim () Não Qual(is)? _____

Quantos cigarros (ou outro tipo de fumo) por dia?

Você consome bebida alcoólica?

() Sim () Não Qual(is)? _____

Quantidade por semana: _____

Você pratica exercícios físicos regulares?

() Sim () Não Qual(is)?

Tempo por dia: _____

Dias por semana: _____

Você tem distúrbio do sono ou faz uso de medicação para dormir?

() Sim () Não Qual(is)?

Você doou sangue nos últimos nos últimos três meses ou planeja doar nos próximos três meses?

() Sim () Não () Planeja Doar

O questionário pode ser encaminhado por e-mail (lorenzagallo23@gmail.com) ou entregue no Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Núcleo de Nutrição, Universidade de Brasília – Asa Norte, entre 8h e 17h, de segunda-feira à sexta-feira.

Em caso de dúvida entre em contato com a pesquisadora responsável:

Lorenza Rodrigues dos Reis Gallo

Telefone: (61) 99986-4501

E-mail: lorenzagallo23@gmail.com

APÊNDICE 2 – Artigo publicado

<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/10/2256>