

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ADRIANA DE SOUSA LIMA

FORTIFICAÇÃO DE PÃO DE FORMA COM CÁLCIO E
AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR DESTE
NUTRIENTE EM MULHERES ADULTAS

JOÃO PESSOA-PB

2014

Adriana de Sousa Lima

FORTIFICAÇÃO DE PÃO DE FORMA COM CÁLCIO E
AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR DESTE
NUTRIENTE EM MULHERES ADULTAS

JOÃO PESSOA-PB

2014

Adriana de Sousa Lima

FORTIFICAÇÃO DE PÃO DE FORMA COM CÁLCIO E
AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR DESTE
NUTRIENTE EM MULHERES ADULTAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador(a): Prof^a Dr^a Janeeyre Ferreira Maciel

JOÃO PESSOA-PB
2014

L732f Lima, Adriana de Sousa.
 *Fortificação de pão de forma com cálcio e
 avaliação do consumo alimentar deste nutriente em
 mulheres adultas / Adriana de Sousa Lima.-- João
 Pessoa, 2014.*
 135f.
 Orientadora: Janeeyre Ferreira Maciel
 Tese (Doutorado) – UFPB/CT
 1. Tecnologia de alimentos. 2. Panificação –
 fortificação. 3. Carbonato de cálcio. 4. Leite em pó –
 soro. 5. Mulheres adultas – climatério – osteoporose -
 cálcio dietético.

UFPB/BC

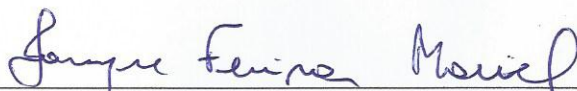
CDU:664(043)

Adriana de Sousa Lima

Fortificação de pão de forma com cálcio e avaliação do consumo alimentar deste nutriente
em mulheres adultas

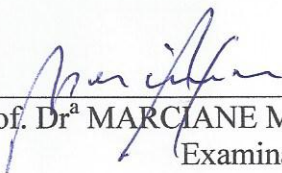
Tese Aprovada em 17 / 03 / 2014

BANCA EXAMINADORA

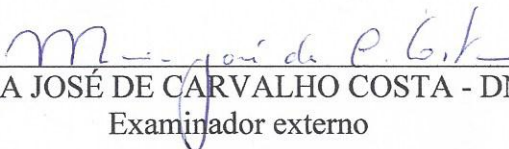


Prof^a Dr^a JANEYRE FERREIRA MACIEL - DEA/CT/UFPB
Coordenadora da Banca Examinadora

Prof.Dr. FLÁVIO LUIZ HONORATO DA SILVA - DEQ/CT/UFPB
Examinador interno



Prof. Dr^a MARCIANE MAGNANI - DEA/CT/UFPB
Examinador interno



Prof^a Dr^a MARIA JOSÉ DE CARVALHO COSTA - DN/CCS/UFPB
Examinador externo



Prof^a Dr^a MARIA DA CONCEIÇÃO RODRIGUES GONÇALVES - DN/CCS/UFPB
Examinador externo

Aos meus avós, Francisca e Moacir (*in memoriam*),

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos:

à Deus, fonte de inspiração, força e luz. Sem ele nada seria possível.

à minha família, especialmente aos meus avós Francisca e Moacir (*in memorian*), por todo incentivo e investimento na minha educação e por acreditarem no meu potencial. aos meus pais, especialmente minha mãe (Lúcia) pelo carinho, cuidado e força nos momentos em que a saudade de casa apertava e a vontade de desistir me abatia.

aos meus irmãos, Francisco (*in memorian*), Lidiane e Luciana, ao cunhado Leonardo e meus queridos sobrinhos Luã, Luiza Gabriele e Maria Eduarda. Obrigada pelo carinho, força e amparo nos momentos mais difíceis dessa caminhada.

ao meu amado Antônio Nereu Cavalcanti Filho, obrigada por toda força, companheirismo, amor, torcida e por ter caminhado junto comigo e me amparado nas horas boas e ruins dessa jornada, como também agradeço a toda sua família que sempre apoiaram e me acolheram com imenso carinho. Meu agradecimento especial à Dr^a Marize Marcia D'Araújo por todas as contribuições e apoio em relação à etapa de realização dos exames de densitometria óssea e demais dúvidas sobre a osteoporose.

à CAPES (Coordenação de Apoio à Pesquisa) pela bolsa de estudo concedida.

à Coordenação do PPGCTA (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) aqui representada pelas professoras queridas Dr^a Marta Madruga (coordenadora) e Dr^a Marciane Magnani (vice-coordenadora) por todo apoio, confiança e disponibilidade em sempre atender seus alunos, juntamente com a secretária Lindalva Nóbrega pela simpatia e presteza. Muito Obrigada!

à minha querida orientadora, prof^a Dr^a Janeeyre Ferreira Maciel pela confiança, credibilidade e por todos os conhecimentos doados ao longo desses anos de dedicação.

à banca de qualificação e defesa (professores doutores: Marciane Magnani, Maria José de C. Costa, Maria da Conceição R. Gonçalves, Flávio Luiz Honorato e Ricardo Targino) por todas as contribuições apresentadas a fim de melhorar o nosso trabalho.

aos professores do PPGCTA, obrigada pelos ensinamentos desde o mestrado e durante todo o curso de doutorado.

à querida mestre prof^a Dr^a Regilda Saraiva dos Reis Moreira Araújo, meu referencial desde a graduação e minha incentivadora desde os tempos de PIBIC, como sua aluna de iniciação científica. Você foi uma das responsáveis por eu ter escolhido seguir a área da pesquisa, por isso digo que o pouco da pesquisadora que trago em mim foi a senhora que me ensinou/doou.

aos mestres que me ensinaram muito sobre estatística prof. Dr. Ânoar Habbas , prof. Dr. Flávio Honorato, Prof. Marcos Araújo, prof. Dr. Rodrigo como também às queridas alunas Raquel Ataíde (doutoranda), Débora (mestre e amiga), Jacinete (mestre e amiga) e Maristela (doutoranda). Muito obrigada a todos!

às professoras do Departamento de Nutrição, Dr^a Maria José e Dr^a Maria da Conceição pelos ensinamentos e disponibilidade em me ajudar, esclarecendo todas as dúvidas sobre o estudo de consumo alimentar, bem como à professora Dr^a Poliana Cabral (UFPE) que me ensinou muito durante a disciplina de consumo alimentar.

aos meus bolsistas e colaboradores. Muito obrigada, sem a ajuda de vocês eu não teria conseguido.

à todas as mulheres que foram voluntárias neste estudo, sem vocês uma parte dessa pesquisa não seria possível. Muito obrigada.

Às colegas da turma de doutorado: Katiúscia, Ana Karla, Michele, Érica, Poliana, Josilene e Cybelle. Obrigada por todo aprendizado compartilhados, amizade e carinho.

aos técnicos de laboratório: June Ane, Claudionor, Gildo, Gilvandro, Eunice, Herbert, Larissa Farias, Aline Gouveia, Katarina, Wilma, Chico, Rafael, enfim todos me ensinaram alguma coisa.

à Pró-Reitoria de Pós-Graduação (PRPG) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pela colaboração com a tradução do artigo para a língua inglesa. Muito obrigada!

à Caroline Leal Albuquerque. Obrigada pela revisão e tradução do artigo para a língua inglesa. Agradecimento especial a amiga Camila Leal pelas palavras positivas, ajuda na formatação do trabalho, carinho e amizade que construímos.

à Débora Cavalcanti, obrigada por todos os ensinamentos sobre consumo alimentar, pela análise estatística e pela sua amizade.

às amigas queridas: Ana Paula, Wilma Karla, June Ane, Julianne, Manoela, Thayze, Gabriele Gruska, Juliana, Jacinete. Obrigada pelo incentivo, ombro amigo e carinho que independente da distância e do tempo que passamos sem nos comunicar sei que quando precisar estarão prontas para me ajudar. Obrigada amigas!

**OBRIGADA A TODOS QUE CONTRIBUIRAM PARA A REALIZAÇÃO DESSE
TRABALHO!**

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a fortificação de pão de forma com soro de leite em pó e carbonato de cálcio e os efeitos da adição desses ingredientes sobre as características físico-químicas e sensoriais dos produtos obtidos. Ainda, foi realizado um estudo transversal com mulheres adultas ($n=50$) a fim de avaliar a ingestão dietética de cálcio e verificar a sua relação com a densidade mineral óssea. Os ingredientes adicionados ao pão de forma foram testados individualmente e combinados, segundo um delineamento fatorial completo do tipo 2^2 , totalizando sete ensaios. Os parâmetros avaliados foram pH, acidez, volume específico, teor de umidade, atividade de água e conteúdo de cálcio. Posteriormente, foi aplicado um teste de aceitação sensorial para avaliar a aparência do pão inteiro, aparência da fatia, cor da casca, cor do miolo, aroma, sabor, umidade, maciez do miolo e aceitação global, utilizando escala hedônica de nove pontos. A ingestão habitual de cálcio e o consumo de alimentos fontes desse nutriente foram avaliados por meio de três recordatórios de 24 horas e questionário de frequência de consumo alimentar, respectivamente. A densidade mineral óssea da coluna e do fêmur foi determinada por absorciometria de energia dupla de raios X. O método da adequação aparente avaliou as necessidades individuais de ingestão de cálcio e o teste qui-quadrado verificou as associações entre a densidade mineral óssea com a idade e com o consumo de cálcio. A adição do carbonato de cálcio, de forma isolada, promoveu elevação no pH e redução na acidez do produto final (ensaio 3), enquanto a adição individual do soro de leite em pó promoveu redução no teor de umidade e atividade de água no pão do ensaio 2. Quando esses dois ingredientes foram combinados, em sua máxima concentração, foi verificada redução no volume específico do pão (ensaio 4). Ambos elevaram o teor de cálcio, que variou de 31,9 mg a 723,3 mg/100g pão. Com relação à análise sensorial, todas as formulações testadas foram aceitas, apresentando escores variando de 6,72 a 8,07, entretanto o pão adicionado somente de carbonato de cálcio apresentou menor aceitação, indicando que a associação deste ingrediente com o soro de leite em pó foi melhor aceita. A ingestão dietética de cálcio foi, em média, $854,89 \pm 697,30$ mg/dia, estando abaixo do recomendado para o grupo >50 anos de idade e o percentual de adequação aparente foi $< 50\%$, dentro das faixas de idade e renda estudados. O consumo médio diário de alimentos pertencentes ao grupo de leite e derivados foi 1,35 porções. As relações cálcio/proteína e cálcio/fósforo foram 7,7:1 e 1:1,3, respectivamente. A presença de osteopenia/osteoporose foi verificada em 60 % das participantes, estando estatisticamente associada com a idade. Os resultados sugerem que a fortificação do pão de forma com cálcio pode ser uma alternativa para elevar o aporte de cálcio em mulheres adultas ao longo da vida.

Palavras-chave: Panificação. Fortificação. Carbonato de cálcio. Soro de leite em pó. Cálcio dietético. Climatério. Osteoporose.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the fortification of white pan bread with whey powder and calcium carbonate and the effects of the addition of these ingredients on the physico-chemical and sensory characteristics of the products obtained. A cross-sectional study with adult women (n = 50) was also conducted, in order to assess the dietary intake of calcium and verify its relationship with bone mineral density. The ingredients added to the white pan bread were tested individually and combined, according to a 2² full factorial design, resulting in seven assays. The parameters pH, acidity, specific volume, moisture content, water activity and calcium content were evaluated. Additionally, a consumer acceptance testing was carried for the sensory attributes appearance of the slice and loaf bread, color, flavor, taste and crumb softness, beyond of the overall acceptability on a 9-point hedonic scale. The habitual dietary calcium intake and the consumption of food groups and sources of calcium were evaluated through three 24-hour recalls and food frequency questionnaire, respectively. The bone mineral density of the spine and femur was determined by dual energy absorptiometry X-ray. The method of the apparent adequacy evaluated individual needs of calcium intake and the chi-square test verified associations between bone mineral density and age and calcium intake. The addition of calcium carbonate, in isolated form, promoted an increase in pH and a reduction in the acidity to the final product (assay 3), while the addition individually of whey powder caused a decrease in the moisture content and water activity in bread of the assay 2. When these two ingredients were combined in the maximum concentration, a reduction in the specific volume of bread (assay 4) was observed. Both calcium carbonate and whey powder increased the calcium content, which ranged from 31.9 mg to 723.3 mg/100g bread. Concerning to the sensory analysis, all the formulations tested were accepted with scores ranging from 6.72 to 8.07. However the bread added with calcium carbonate alone showed a lower acceptance, indicating that the association of this ingredient with whey powder was better accepted. The mean dietary calcium intake was 854.89 ± 697.30 mg/day, lower than recommended for the group >50 years of age and the percentage of apparent adequacy was < 50%, within of the age group and income studied. The consumption daily of the milk and dairy products was an average 1.35 servings. The calcium/protein and calcium/phosphorus ratios were 7,7:1 and 1:1.3, respectively. The presence of osteopenia or osteoporosis was found in 60% of participants, and was associated statistically with age. The results suggest that the fortification of the white pan bread with calcium can be an alternative to increase the calcium intake for adult women over a lifetime.

Keywords: Bakery. Fortification. Calcium Carbonate. Whey Powder. Dietary Calcium. Menopause. Osteoporosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1

- Figura 1** Response surfaces for pH (**a**) and TTA (**b**) according to the addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO_3) to the breads..... 68
- Figura 2** Response surface for water activity according to the addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO_3) to the breads..... 69
- Figura 3** Response surface for the calcium content according to the addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO_3) to the breads..... 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Diagnóstico de osteoporose, de acordo com o T-score e a Densidade Mineral Óssea (DMO).....	22
Tabela 2	Recomendações de ingestão dietética de cálcio por estágio de vida.....	27
Tabela 3	Variáveis e níveis reais e codificados do delineamento fatorial 2 ²	39

Artigo 1

Table 1	Variables and levels of the full factorial 2 ² design.....	63
Table 2	Effect of addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO ₃) on the physico-chemical characteristics (pH, TTA, specific volume, moisture, water activity and calcium content) of white pan breads.....	66
Table 3	Coded mathematical models for the evaluated responses.....	68
Table 4	Average scores of the sensory acceptance test of white pan breads.....	71

Artigo 2

Tabela 1	Características socioeconômicas de mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.....	95
Tabela 2	Ingestão dietética de cálcio e percentual de adequação aparente em relação às faixas de idade e renda familiar de mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.....	96
Tabela 3	Consumo alimentar habitual de grupos de alimentos por mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.....	97
Tabela 4	Frequência de consumo diário habitual de mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.....	98
Tabela 5	Associação entre a Densidade Mineral Óssea (DMO) e a idade das mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba. Brasil, 2011-2012.....	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AI *Adequate Intake*

ATT Acidez Total Titulável

AACC *American Association of Cereal Chemists*

Aa Atividade de água

AOAC *Association of Official Analytical Chemists*

AMDR *Acceptable Macronutrient Distribution Ranges*

ANOVA Análise de Variância

BMC *Bone Mineral Content*

BMD *Bone Mineral Density*

CaCO₃ Carbonato de Cálcio

CT Centro de Tecnologia

CV Coeficiente de Variação

DMO Densidade Mineral Óssea

DP Desvio Padrão

DEXA Absorciometria de Energia dupla de raios X

DRI *Dietary Reference Intakes*

DEA Departamento de Engenharia de Alimentos

EAR *Estimated Average Requirement*

FAO Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IOM *Institute of Medicine*

IOF *International Osteoporosis Foundation*

IDR: Ingestão Diária Recomendada

L2-L4 Coluna Lombar 2 e 4

NIH *National Institute of Health*

OMS Organização Mundial de Saúde

POF Pesquisa de Orçamentos Familiares

PTH Paratormônio

QQFCA Questionário Quantitativo de Frequência de Consumo Alimentar

RDA *Recommended Dietary Allowance*

R24h Recordatórios de 24 horas

RMF Resíduo Mineral Fixo

R² Coeficiente de determinação

SLP Soro de Leite em Pó

SPSS *Statistical Package for the Social Sciences* -

UL *Tolerable Upper Intake Level*

UFPB Universidade Federal da Paraíba

WHO *World Health Organization*

LISTA DE SÍMBOLOS

mg/dia Miligramas por dia

% Percentual

mg Miligramas

> Maior que

< Menor que

$\geq$ Maior que e igual

mg/kg Miligramas por quilograma

mL Mililitros

Kg Quilograma

cm³/g Centímetros cúbicos por grama

n° Número

g/100g Grama por 100 gramas

°C Graus Celsius

cm Centímetros

NaOH Hidróxido de sódio

mol/L Molaridade por litro

cm³ Centímetros cúbicos

g Grama

h Hora

p Probabilidade

Y Variável dependente ou resposta

β_0 Constante da média geral

β_1 Coeficiente do efeito principal em relação a variável x1

x₁ Variável independente 1

β_2 Coeficiente do efeito principal em relação a variável x2

x₂ Variável independente 2

β_3 Coeficiente dos efeitos de interação

Z Escore

D/DP_D Razão entre os desvios-padrão

$\bar{y}$ Média

V_{nec} Variância da necessidade

V_{int} Variância intrapessoal

dp_{nec} Desvio padrão da necessidade

dp_{int} Desvio padrão intrapessoal

n Número de dias do consumo alimentar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1 OSTEOPOROSE: EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO.....	21
2.2 DEFICIÊNCIAS NO CONSUMO DE CÁLCIO.....	24
2.3 INGESTÃO DIETÉTICA DE CÁLCIO: RECOMENDAÇÕES E AVALIAÇÃO.....	25
2.3.1 Avaliação da ingestão dietética de cálcio.....	27
2.4 RELAÇÃO ENTRE INGESTÃO DIETÉTICA DE CÁLCIO E MASSA ÓSSEA.....	29
2.5 FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS COM CÁLCIO.....	31
2.6 PÃO DE FORMA.....	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
3.1 ESTUDO 1: FORTIFICAÇÃO DOS PÃES DE FORMA COM CÁLCIO.....	37
3.1.1 Ingredientes.....	37
3.1.2 Formulação e procedimentos para elaboração dos pães.....	37
3.1.3 Análises físico-químicas dos pães.....	38
3.1.3.1 pH e Acidez total titulável (ATT).....	38
3.1.3.2 Volume específico.....	39
3.1.3.3 Conteúdo de umidade do miolo dos pães.....	39
3.1.3.4 Atividade de água (Aa).....	39
3.1.3.5 Teor de cálcio dos pães.....	39
3.1.4 Avaliação Sensorial.....	39
3.1.5 Análise Estatística.....	40
3.2 ESTUDO 2: AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DIETÉTICA DE CÁLCIO EM MULHERES ADULTAS.....	40
3.2.1 Desenho do estudo e Sujeitos da Pesquisa.....	40
3.2.2 Avaliação Dietética.....	41
3.2.3 Avaliação da Densidade Mineral Óssea.....	42
3.2.4 Análise Estatística.....	42
REFERÊNCIAS.....	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4.1 ARTIGO 1.....	58
4.2 ARTIGO 2.....	82

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	102
APÊNDICES.....	103
ANEXOS.....	127

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o padrão alimentar da população brasileira vem passando por um processo de transição, que tem se refletido em inadequações dietéticas, especialmente em relação a vitaminas e minerais. Dados de consumo alimentar da população brasileira obtidos na Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009 revelaram inadequações quanto às vitaminas D e E aos minerais cálcio e magnésio (IBGE, 2011).

No Brasil, estudo conduzido por Pinheiro et al. (2009) revelou baixa ingestão dietética de cálcio em mulheres com mais de 40 anos de idade, sendo observado valores de 400 mg/dia, em média, que corresponde a 40% do recomendado para essa faixa etária, segundo o *Institute of Medicine* (IOM, 2011). Esse problema tem sido notificado em outros países como Estados Unidos e Espanha, cujas médias de ingestão de cálcio encontradas foram 670 mg e 916 mg/dia, respectivamente, em mulheres adultas (MANGANO et al., 2011; ESTAIRE et al., 2012). Crianças e adolescentes também estão envolvidos nos casos de deficiência de cálcio, fato preocupante, pois para obter bons resultados na massa óssea de indivíduos adultos é necessário manter uma dieta adequada em cálcio durante esses estágios de vida (PRIORE et al., 2009).

A deficiência de cálcio ao longo da vida afeta a saúde óssea, contribuindo para o desenvolvimento da osteoporose, doença crônica multifatorial, que tem gerado impactos econômicos significativos para o país.

A opção preferencial para se alcançar as necessidades de cálcio é através de uma dieta balanceada, em quantidade e variedade de alimentos ricos nesse mineral (leite e derivados, vegetais de folhas verdes escuras, nozes e peixes). No entanto, mudanças nos hábitos alimentares da população, especialmente naquelas que residem em áreas urbanas têm revelado redução na disponibilidade desses alimentos, o que pode ser explicado pelo elevado custo, hábitos culturais e alimentares, como também pela omissão do café da manhã, realização de refeições fora de casa e substituição do leite por refrigerantes (IBGE, 2011).

Quando a ingestão adequada de cálcio não pode ser alcançada via alimentos ricos em cálcio, a fortificação é vista como uma medida alternativa, além do uso de suplementos. Os benefícios da suplementação podem ser limitados pela ocorrência de efeitos adversos à saúde, como náuseas, diarreias e constipação, entre outros, sendo

preferível a adição do cálcio a um produto alimentício, como ocorre na fortificação de alimentos (CASHMAN, 2002; ADU-AFARWUAH et al., 2008).

Na literatura são verificados diversos produtos alimentícios fortificados com cálcio, como leite em pó, sobremesas lácteas, bebidas a base de soja, entre outros, tendo ótima biodisponibilidade e baixo custo (RANHOTRA; GELROTH; LEINEN, 2000). Dentre esses, destacam-se os pães, devido ao amplo consumo por indivíduos de diferentes grupos etários e classes sociais em todo o mundo (BAKKE; VICKERS, 2007).

Um dos ingredientes usados como fontes de cálcio na fortificação de pães são leite e derivados, tendo o soro de leite em pó sido recomendado em substituição ao leite em pó, devido ao baixo custo (MALLIK, KULKARNI, 2009). Ainda, o uso do soro de leite apresenta vantagens do ponto de vista ambiental, por se tratar de um subproduto da indústria de queijos com elevado potencial poluente (JOOYANDEH, MINHAS, AMARJIT KAUR, 2009).

Entretanto, a concentração máxima recomendada de soro de leite em pó (10 g/100 g farinha) na formulação de pão de forma não contribui com quantidades significativas de cálcio (LIMA et al., 2009), sendo necessária a sua associação com outra fonte que permita obter um pão rico nesse mineral. Uma alternativa é a adição de sais de cálcio, sendo preferido o carbonato, por fornecer maior quantidade (40%), melhor biodisponibilidade e apresentar pouco ou nenhum efeito adverso na qualidade dos produtos finais (RANHOTRA, GELROTH, LEINEN, 2000; KAJISHIMA, PUMAR, GERMANI, 2003).

A avaliação dietética, seja de forma qualitativa ou quantitativa, é fundamental para se verificar a relação de causa entre dieta e doença. Portanto, o conhecimento da dieta habitual em relação ao cálcio é essencial para se estabelecer medidas que visem a prevenção de doenças decorrentes da carência de cálcio, como a osteoporose.

Quando os dados dietéticos revelam baixa ingestão de cálcio, mudanças no comportamento alimentar e estilo de vida são recomendados, tais como reeducação alimentar, prática de atividade física, combate ao fumo, exposição ao sol em horários adequados, entre outros. Por outro lado, quando se verifica adequação dietética de cálcio, não necessariamente implica em boa saúde óssea, pois essa condição depende do consumo desse nutriente ao longo de toda a vida. Acredita-se que o pico de massa óssea, nas mulheres, se estabeleça por volta dos 40 anos de idade, após esse período, é verificada uma perda de aproximadamente 0,3% a 0,5% em sua massa de osso cortical

por ano, e após a menopausa, este ritmo acelera para 2% a 3% ao ano (LANZILLOTTI et al., 2003).

Considerando o exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a fortificação de pão de forma com soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO_3) e os efeitos da adição desses ingredientes sobre as características físico-químicas e sensoriais dos produtos obtidos. Também foi realizada avaliação da ingestão dietética de cálcio em mulheres adultas, e verificada a sua relação com a Densidade Mineral Óssea (DMO).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 OSTEOPOROSE: EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO

A osteoporose é definida como um distúrbio esquelético caracterizado por diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com consequente aumento na fragilidade do osso e susceptibilidade a fraturas (WHO, 2000). Segundo o Ministério da Saúde (2005), essa patologia se constitui em um dos maiores problemas de saúde pública, além de ser um problema clínico e social de relevância, com sérias consequências para a saúde dos indivíduos.

Doença que acomete a ambos os sexos, a osteoporose é mais frequente no sexo feminino, pois a deficiência estrogênica verificada a partir dos primeiros anos do período pós-menopausa acelera as perdas ósseas. Nos homens decorre, principalmente, de mecanismos ligados essencialmente ao envelhecimento, como a deficiência de vitamina D, a absorção diminuída de cálcio e o aumento dos níveis de paratormônio (PIETSCHMANN et al., 2009).

A classificação tradicional da osteoporose é dada como primária do tipo I e II ou secundária. A do tipo I, também conhecida como osteoporose na pós-menopausa é caracterizada por perda progressiva da massa óssea, que se inicia na menopausa em função da deficiência de estrógeno, ocasionando maior reabsorção óssea, e estando associada a fraturas nas vértebras e no antebraço distal. A osteoporose primária do tipo II, também conhecida como senil, está relacionada ao envelhecimento e aparece devido à deficiência crônica de cálcio, aumento da atividade do paratormônio e diminuição da formação óssea. Por sua vez, a osteoporose secundária resulta de processos inflamatórios, como artrite reumatóide; alterações endócrinas, hipertireoidismo e desordens adrenais; mieloma múltiplo; por uso de drogas como heparina, álcool, vitamina A e corticoides (NIH, 2000; STEIN; SHANE, 2003).

Os critérios para diagnóstico da osteoporose baseiam-se no conteúdo mineral ósseo ou *Bone Mineral Content* (BMC) e na densidade mineral óssea ou *Bone Mineral Density* (BMD).

Tabela 1- Diagnóstico de osteoporose, de acordo com o T-score e a Densidade Mineral Óssea (DMO).

Diagnóstico	T-score	Densidade Mineral Óssea (DMO)
Normal	> -1	Dentro de 1DP normal para um adulto jovem
Baixa massa óssea	-1 a -2,5	Entre 1e 2,5DP abaixo do normal para um adulto jovem
Osteoporose	<-2,5	>2,5DP abaixo do normal para um adulto jovem
Osteoporose severa	<-2,5 e ≥ 1 presença de fratura	>2,5DP abaixo do normal para um adulto jovem

Fonte: *WHO Technical Report Series* (WHO, 2000).

A gravidade da perda óssea é categorizada em relação à média da densidade mineral óssea (DMO) em mulheres jovens e saudáveis. A medida da massa óssea é usada para determinar a gravidade da perda óssea e o risco de fratura, além de distinguir os pacientes com osteoporose daqueles com osteopenia e densidade mineral óssea normal. A maioria das diretrizes recomenda a absorciometria de energia dupla de raios X (DEXA) como técnica preferida para o diagnóstico da densidade mineral óssea, representando aproximadamente 70% da massa óssea total (CARVALHO; KULAK; BORBA, 2012).

As fraturas por fragilidade óssea são as principais consequências da osteoporose, ocorrendo com mais frequência na coluna, quadril e antebraço distal, embora possam ocorrer ao longo do esqueleto. Na verdade, as fraturas vertebrais são a complicação mais comum da osteoporose, responsável por quase 50% de todas as fraturas osteoporóticas (MASI, 2008).

Nos Estados Unidos, dez milhões de indivíduos são acometidos pela osteoporose e mais de 34 milhões de pessoas são diagnosticadas com baixa massa óssea, estando em risco aumentado para esta patologia. Um milhão de americanos, aproximadamente, sofre de fraturas patológicas a cada ano (IOF, 2012). Além disso, nesse país, o custo direto atribuído à osteoporose é estimado em 38 milhões de dólares por dia (HOLROYD; COOPER; DENNISON, 2008). No Brasil, cerca de 10 milhões de pessoas são vítimas dessa doença (WHO, 2000).

Em mulheres caucasianas com 50 anos de idade, o risco de fraturas ao longo da vida é estimado em proporções de 17,5%, 15,6% e 16% para o quadril, coluna e antebraço, respectivamente; o restante do risco ao longo da vida para qualquer fratura por fragilidade aproxima-se dos 40% em mulheres e 13% em homens (MASI, 2008).

Geralmente, a raça caucasiana é considerada um fator de risco para a osteoporose, mas os indivíduos asiáticos parecem ter um risco semelhante para o desenvolvimento de osteoporose e fraturas osteoporóticas (BOW et al., 2012; CHEUNG et al., 2011).

Nos últimos anos, diversos fatores têm sido identificados como de risco para osteoporose, os quais podem ser relativos à pessoa (individuais) ou ao ambiente em que ela vive (ambientais). Estes, ainda podem ser agrupados em fatores modificáveis (fatores de estilo de vida, como atividade física, tabagismo, álcool e dieta) ou não modificáveis (gênero, idade, genética e etnia). Todos estão associados com a aquisição, manutenção ou perda de massa óssea ao longo da vida (WEAVER, 2000; CASHMAN, 2007).

O fator de risco clínico mais importante para a osteoporose é a idade. Em indivíduos saudáveis, a massa óssea atinge seu pico entre 20 e 29 anos, e diminui lentamente até a idade de 50 anos, quando a perda começa a ser mais pronunciada, principalmente em mulheres na pós-menopausa (PRENTICE, 2004). As mulheres são mais vulneráveis do que os homens, devido a sua baixa densidade mineral óssea, geometria óssea diferente, maior expectativa de vida e um aumento no risco de cair em comparação com os homens (EASTELL et al., 1998).

A diminuição da DMO tanto em homens como em mulheres, está relacionada com o impacto das mudanças hormonais no processo de remodelação óssea. A testosterona e o estrogênio influenciam na absorção intestinal do cálcio, quando eles estiverem diminuídos, as reservas de cálcio do osso esponjoso e cortical são utilizadas para manter os níveis de cálcio sérico desejável (RIGGS; KHOSLA; MELTON, 2002).

Um fator modificável no desenvolvimento dos ossos e prevenção da osteoporose é a atividade física. A manutenção de altos níveis de atividade física ao longo da vida é importante para o aumento do pico de massa óssea durante o desenvolvimento e para otimização durante as fases de remodelação óssea que ocorre na velhice (CECH, 2012).

A dieta também é outro importante fator modificável de estilo de vida na prevenção e tratamento da osteoporose (MORGAN, 2008; TUCKER, 2009). Diversos nutrientes e componentes dos alimentos que fazem parte da dieta, seja a “dieta ocidental” ou outros tipos de dietas (por exemplo, vegetariana ou onívora) afetam a saúde óssea, de forma positiva ou negativa, por vários mecanismos, incluindo alterações na estrutura óssea, taxa de metabolismo ósseo, sistema endócrino e/ou parácrino e homeostase de cálcio.

Os fatores dietéticos promotores da formação da massa óssea incluem cálcio, vitaminas A e K, magnésio, alimentação balanceada e consumo moderado de álcool. Enquanto as relações cálcio/proteína e cálcio/fósforo, ácido fítico, cafeína, ácido oxálico, fibras dietéticas, retinol e sal podem influenciar negativamente na formação da massa óssea (JORGE; RODRIGUES, 2009).

Embora existam muitos aspectos relacionados ao impacto da dieta na massa óssea, estudos têm enfatizado a importância do cálcio e da vitamina D na promoção da saúde óssea (DAWSON-HUGHES et al., 1990; BISCHOFF-FERRARI et al., 2009). Ressaltando-se que estes nutrientes estão entre os que apresentam os maiores níveis de inadequação na dieta, relatados em pesquisas sobre consumo alimentar (LUCAS; COSTA; BARROS, 2005; PINHEIRO et al., 2009; MANGANO et al, 2011).

Algumas das medidas preventivas adotadas para prevenir a osteoporose incluem o incentivo ao consumo de alimentos ricos, fortificados em cálcio e o uso de suplementos (PAIXÃO; BRESSAN, 2010). A forma preferencial para alcançar uma ingestão dietética adequada de cálcio é por meio do consumo de alimentos fontes e/ou ricos nesse mineral.

As fontes alimentares de cálcio em maior quantidade e biodisponibilidade são leite e derivados (leite, iogurte, queijo). No entanto, vegetais verdes escuros (couve e brócolis), leguminosas (feijões) e peixes (sardinha) também contêm quantidades satisfatórias de cálcio embora não tão biodisponíveis quanto as fontes lácteas.

2.2 DEFICIÊNCIAS NO CONSUMO DE CÁLCIO

No Brasil, o cálcio se destaca entre os nutrientes com a maior taxa de inadequação dietética, nos diferentes estágios de vida. Análise laboratorial de minerais dos alimentos presentes na dieta de populações de diferentes regiões do país revelaram que a ingestão de cálcio da população gira em torno de 300 a 500 mg/dia, quando as atuais recomendações das DRIs (*Dietary Reference Intakes*) são de 1.000 mg/dia para adultos (COZOLINO, 2007).

Priore et al. (2007) avaliaram o consumo diário de cálcio em crianças pré-escolares observaram um valor médio de 796,15 mg, considerado próximo a recomendação (800 mg/dia), no entanto, devido a grande variabilidade inter e intraindividual (altos valores de desvios-padrão) constatada no grupo, foi verificado que mais de 50% das crianças não ingeria a quantidade recomendada.

A baixa ingestão de cálcio (878 mg de cálcio/dia) foi notificada por De Paula (2004) em adolescentes de uma escola estadual do município de Guararema, São Paulo. Nesse estudo, as meninas consumiam menor quantidade de cálcio (783,7 mg/dia) que os meninos (981,7 mg/dia), valores abaixo das necessidades recomendadas (1300 mg/dia) para esse grupo populacional (IOM, 2006).

Alguns estudos (MONTILLA, MARUCCI, ALDRIGHI, 2004; PINHEIRO et al., 2009) verificaram esse problema entre mulheres adultas, sendo observados valores médios de ingestão de cálcio de 400 mg/dia e de 624 mg/dia, que correspondem a 40% e 62% das DRIs, respectivamente, para esse grupo populacional.

Ingestão de cálcio menor que a recomendada para a boa saúde óssea também tem sido observada em outros países. Nos Estados Unidos, estudo conduzido por Mangano et al. (2011) reportaram uma mediana de ingestão dietética de cálcio de 636 mg/dia, em mulheres com mais de 51 anos de idade, estando abaixo do preconizado pela *Recommended Dietary Allowance* (RDA) para esta faixa etária.

Os efeitos da dieta e o risco de ocorrência de fraturas osteoporóticas foram verificados em um estudo prospectivo com 34.696 mulheres e homens britânicos (Key et al., 2007). Os pesquisadores demonstraram que o risco de fratura aumentou entre as mulheres com ingestão de cálcio menor que 525 mg/dia.

Portanto, a exposição a uma dieta inadequada em cálcio traz consequências graves a todos os grupos etários, no entanto, em longo prazo, as mulheres se tornam mais vulneráveis em decorrência da perda da função ovariana e do desequilíbrio na produção de seus hormônios esteróides, resultando em perda progressiva de massa óssea, levando a fraturas decorrentes da osteoporose.

2.3 INGESTÃO DIETÉTICA DE CÁLCIO: RECOMENDAÇÕES E AVALIAÇÃO

A ingestão dietética de cálcio ideal é aquela que conduza a um pico de massa óssea adequada e o mantenha independente da faixa etária. Desse modo, as recomendações dietéticas de cálcio foram estabelecidas baseadas em três indicadores: risco de fratura, medidores de massa muscular e retenção máxima de cálcio (BRANCA; VALTUEÑA, 2001).

As recomendações dietéticas são utilizadas por muitos grupos para determinar as escolhas e os planos alimentares das pessoas ao longo da vida, fornecendo um guia para determinar se o uso de suplementos é necessário. No caso do cálcio, elas variam durante

a vida dos indivíduos e são influenciadas pelas etapas de crescimento, como infância, adolescência, gravidez e lactação, e ainda por situações de deficiência e/ou incrementos nas necessidades desse mineral. Quando subestimadas podem comprometer a saúde óssea e aumentar o risco de doenças crônicas (PRENTICE et al., 2004; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2010; ROSS et al., 2011).

A ingestão adequada de cálcio é afetada por muitos fatores, como idade, sexo, atividade física, fatores da dieta, variabilidades genéticas e étnicas. As interações destes fatores impossibilitam a recomendação de uma única ingestão adequada de cálcio para todos os indivíduos (IOM, 2011).

As DRIs envolvem a identificação de "indicadores" ou resultados de saúde, determinado pela *Estimated Average Requirement* (EAR), correspondente a mediana de ingestão de metade da população; RDA, correspondente a 2 DP (desvios-padrão) acima da EAR, ou seja, o nível de ingestão que deverá atender as necessidades de pelo menos 97,5% da população e o nível de ingestão máxima tolerável (UL), a máxima ingestão diária do nutriente que provavelmente não represente nenhum risco. Quando a base de evidências for insuficiente para o desenvolvimento da EAR/RDA, o nível de ingestão adequada (AI) pode ser estimado (ROSS et al., 2011).

É importante ressaltar que as DRIs são desenvolvidas para pessoas saudáveis e são fornecidas separadamente para diversos estágios de vida da população norte-americana, de acordo com idade e gênero. Em 30 de novembro de 2010, as necessidades de ingestão dietética de cálcio e vitamina D do *Institute of Medicine* (IOM, 2011) foram atualizadas (Tabela 1). Para o cálcio, as DRIs atuais foram elaboradas para crianças, indivíduos com idade de 1 a 50 anos e maiores que 50 anos, cujas recomendações foram baseadas no teor de cálcio do leite materno, em estudos de balanço de cálcio e nas evidências de ensaios clínicos e de observação, respectivamente (ROSS et al., 2011).

O *Institute of Medicine* (2011) estabeleceu para o adulto, as necessidades médias diárias (EAR) de cálcio de 800 mg a 1000 mg, dependendo da idade; a RDA entre 1000 mg a 1200 mg e o nível máximo de ingestão tolerável (UL) de 2000 mg a 2500 mg/dia. Ainda foi definida a ingestão adequada (AI) de cálcio em 1.000 mg/dia para os indivíduos com idades entre 19 a 50 anos e 1.200 mg/dia para pessoas com mais de 51 anos (IOM,1997).

Tabela 2- Recomendações de ingestão dietética de cálcio por estágio de vida, de acordo com as DRIs.

Grupos por estágio de vida (idade e gênero)	RDA (mg/dia)^a	EAR (mg/dia)^b	UL (mg/dia)^c
1-3 anos (M+F)	700	500	2500
4-8 anos (M+F)	1000	800	2500
9-13 anos (M+F)	1300	1100	3000
14-18 anos (M+F)	1300	1100	3000
19-30 anos (M+F)	1000	800	2500
31-50 anos (M+F)	1000	800	2500
51-70 anos (M)	1000	800	2000
51-70 anos (F)	1200	1000	2000
>71 anos (M+F)	1200	1000	2000
Gravidez e Lactação			
14-18 anos	1300	1000	3000
19-50 anos	1000	800	2500
Crianças			
0-6 meses (M+F)	-	-	1000
6-12 meses (M+F)	-	-	1500

M=gênero masculino; F=gênero feminino.

^aRDA corresponde ao nível de ingestão que atenda as necessidades de mais de 97,5% da população. Não foram estabelecidos para crianças.

^bEAR corresponde a média do nível de ingestão diária de cálcio estimada para atender às exigências da metade dos indivíduos saudáveis em um grupo. Não foram estabelecidos para crianças.

^cUL indica o nível acima do qual existe o risco de eventos adversos.

2.3.1 Avaliação da ingestão dietética de cálcio

Quando se deseja explorar o estado nutricional e associá-lo ao estado de saúde de uma população, é muito importante estimar com precisão a sua ingestão de alimentos. Os métodos de avaliação do consumo alimentar utilizados em estudos populacionais incluem métodos prospectivos, como registros da dieta e métodos retrospectivos, como os Recordatórios de 24 horas (R24h), Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA) e a história dietética. No entanto, todos os métodos disponíveis para medir o consumo de alimentos têm algumas limitações que devem ser consideradas antes de escolher o que é mais adequado para os objetivos e desenho do estudo (FERNÁNDEZ-BALLART et al., 2010; ARAB et al., 2011).

O recordatório alimentar de 24 horas foi desenvolvido por Burke e é adotado em todo o mundo, sendo utilizado pela primeira vez no Brasil nos anos 30. É aplicado para medir a ingestão de alimentos, de forma individual ou coletiva, sendo mais comum o de três dias, incluindo um dia do final de semana. É considerado uma das técnicas mais empregadas em pesquisas científicas (BUZZARD, 1998; WILLET, 1998).

Trata-se de questionários abertos, cujo objetivo é a obtenção, por meio de entrevistadores devidamente treinados, de informações quantitativas dos alimentos e bebidas consumidos nas 24 horas precedentes ou no dia anterior, da primeira à última refeição do dia, caracterizando o consumo atual. A quantidade de alimentos consumida pode ser obtida por meio de medidas caseiras ou estimada por modelos ou fotos de porções de alimentos (GIBSON, 1990; WILLET, 1998).

As principais vantagens desse método são: estimativa quantitativa e qualitativa do consumo alimentar, rapidez e facilidade na aplicação, baixo custo, não necessita que o entrevistado seja alfabetizado. Já os aspectos negativos são: erros nas estimativas das porções, quase sempre subestimando as quantidades ingeridas, dependência da memória, omissão ou esquecimento no registro de certos alimentos, o que pode às vezes, não representar a ingestão habitual (BUZZARD, 1998).

A grande desvantagem desse método é que um único dia ou poucos dias de coleta não representa a dieta habitual do indivíduo, devido à considerável variabilidade do dia-a-dia na ingestão dietética (BASIoTIS et al., 1987). No entanto, vários dias de recordatório exigem repetidos contatos com os indivíduos, resultando em altos custos com pessoal, podendo induzir a procura de alternativas mais baratas. Recordatórios conduzidos através da internet oferecem essa opção, mas a sua validade ainda está sendo demonstrada (MOSHFEHGH et al., 2008; ARAB et al., 2011).

Outra opção para avaliar o consumo alimentar de cálcio é a aplicação do Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA).

Durante os anos de 1950 e 1960, os nutricionistas começaram a desenvolver questionários para a avaliação da ingestão alimentar habitual, com base em uma lista de alimentos consumidos ao longo de um determinado período de tempo por causa de problemas encontrados com as técnicas de recordatórios de 24 horas e inventários baseados na pesagem dos alimentos. Com o passar dos anos, depois de muito refinamento, revisão e avaliação, esses questionários tornaram-se uma das principais ferramentas de pesquisa em epidemiologia nutricional. No entanto, apesar das vantagens consideráveis em termos de facilidade de administração e análise, o QFCA pode ser

limitado em sua utilidade, podendo não produzir as informações necessárias, seja por má concepção e/ou uso inadequado (CADE et al., 2004).

Nenhum método dietético pode medir o consumo da dieta sem erros, por isso, é importante considerar as fontes de erros. O QFCA é um método relativamente rápido e de baixo custo, que possibilita a classificação conforme níveis de consumo habitual (CINTRA et al., 1997; MARGETTS; NELSON, 1997).

Para que o QFCA se torne uma ferramenta útil são necessários estudos de validação, que meçam o grau de concordância entre este e outro método consagrado de avaliação dietética. Em virtude da inexistência de um padrão ouro, essa validação é dita “relativa”, ou seja, em referência ao recordatório alimentar. Mesmo assim, estudos comparativos dessa natureza contribuem para minimizar erros na avaliação nutricional que poderiam levar a falsas associações entre dieta e doença (SLATER; MARCHIONI; FISBERG, 2004). Atualmente, estudos de base populacional utilizam o QFCA para verificar associações entre dieta e morbidades (LIMA et al., 2007; LUNA et al., 2011; PEREIRA et al., 2013)

2.4 RELAÇÃO ENTRE INGESTÃO DIETÉTICA DE CÁLCIO E MASSA ÓSSEA

O acúmulo do conteúdo mineral ósseo durante o crescimento é um dos principais determinantes do pico de massa óssea, o qual está associado com o risco de desenvolvimento da osteoporose em idade avançada (ZHU; PRINCE, 2012).

Sabe-se que até a idade adulta, o crescimento e a remodelação óssea continuam. Homens e mulheres adquirem o seu pico de massa óssea por volta dos 30 anos de idade. A formação e reabsorção óssea continuam em taxas similares entre 30 e 50 anos de idade nos homens e entre 38 e 48 anos nas mulheres, apresentando variações relacionadas com a etnia (MALKIN et al., 2002). Após essa fase, a perda óssea começa a exceder a formação óssea a partir de osso esponjoso e cortical na terceira e quarta década de vida, respectivamente (RIGGS; KHOSLA; MELTON, 2002; RIGGS et al. 2004).

Com o avanço da idade ocorre diminuição nos níveis de estrogênio, o que contribui para a perda de massa óssea, especialmente nas mulheres. A diminuição nos níveis de estrogênio e testosterona também influencia a capacidade do intestino em absorver cálcio desencadeando uma depleção nos estoques de cálcio do osso (RIGGS; KHOSLA; MELTON, 2002).

Os efeitos da suplementação de cálcio na massa óssea de crianças foram avaliados em dois estudos de meta análise. Foi evidenciado que a suplementação de cálcio teve um efeito significativo no conteúdo mineral ósseo total do corpo e densidade mineral óssea do antebraço, mas nenhum efeito sobre a DMO no colo do fêmur ou da coluna lombar foi observada (WINZENBERG et al., 2006).

Com relação aos adolescentes, os estudos longitudinais com meninos canadenses (VATANPARAST et al., 2005) e meninas chinesas (ZHU et al., 2008) mostraram que a baixa ingestão de cálcio foi preditor significativo da massa óssea corporal total. Os pesquisadores concluíram que a ingestão inadequada de cálcio durante o período de crescimento pode comprometer o pico de massa óssea atingido na maturidade esquelética e, assim, predispor ao aumento no risco de fraturas osteoporóticas mais tarde na vida.

As pesquisas *American National Health e Nutrition Examination* conduzido com 3251 mulheres brancas revelaram que aquelas com baixa ingestão de cálcio durante a infância e adolescência tiveram baixa densidade mineral óssea na idade adulta e maior risco de fratura (KALKWARF; KHOURY; LANPHEAR, 2003).

Os efeitos do aumento na ingestão de cálcio sobre a densidade mineral óssea, medida por DEXA foram avaliados em estudos clínicos randomizados. Nesses estudos foi demonstrado que em pessoas mais velhas, o aumento na ingestão de cálcio de 500-1000 mg/dia para 500-1200 mg/dia, associado ou não com a vitamina D pode prevenir a perda óssea, devido provavelmente ao efeito do cálcio na supressão da secreção do paratormônio - PTH (SHEA et al., 2002).

Em indivíduos mais velhos, estudos de meta-análise incluindo 23 ensaios e 41.419 sujeitos verificaram que a ingestão adequada de cálcio ou a suplementação de cálcio mais vitamina D esteve associado com reduções de 0,5% e 1,2% nas perdas de massa óssea de coluna e de quadril, respectivamente (TANG et al., 2007).

Com relação às mulheres na pós-menopausa, mais de 20 estudos compilados na revisão de HEANEY (2000) concluíram que a suplementação de cálcio pode diminuir a perda óssea em cerca de 1% por ano. Mulheres na pré e pós-menopausa devem manter uma ingestão dietética de cálcio adequada para a manutenção e redução na perda de massa óssea. Além disso, especialmente no caso das mulheres na pós-menopausa, outros fatores podem interferir no efeito benéfico da ingestão adequada de cálcio sobre a massa óssea, incluindo a idade, número de anos desde a menopausa, a ingestão de

cálcio antes da suplementação e, possivelmente, o nível de atividade física (CASHMAN, 2002).

Vale ressaltar que quando a ingestão dietética de cálcio está próxima dos níveis recomendados, aumentos adicionais no consumo desse mineral parecem não conferir benefícios extras ao osso, mas em pessoas com ingestão dietética abaixo dos níveis recomendados a massa óssea pode ser comprometida (PRENTICE, 2004). Pesquisadores sugerem que a remodelação óssea é bem mais suprimida com a suplementação de cálcio em indivíduos com ingestão abaixo do recomendado (FARDELLONE et al., 2010). Ainda que os benefícios da suplementação possam ser limitados pela baixa adesão quando o cálcio é dado na forma de comprimido (CASHMAN, 2002), uma abordagem alternativa é a adição de cálcio a um produto alimentício.

2.5 FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS COM CÁLCIO

O interesse na fortificação de alimentos com sais de cálcio tem recebido grande atenção, em razão do papel do cálcio na prevenção de diversas doenças crônicas, em especial a osteoporose. Nos últimos anos, os alimentos fortificados com cálcio têm sido sugeridos como uma fonte alternativa para alcançar a ingestão adequada desse nutriente na dieta (GREER; KREBS, 2006; MARRA; BOYAR, 2009).

A discrepância entre a ingestão de cálcio e as recomendações levou à comercialização de um crescente número e variedade de alimentos e bebidas enriquecidos com cálcio.

No início dos anos 90 haviam poucos itens alimentícios fortificados com cálcio disponíveis no mercado, porém entre os anos de 1999 a 2006 foi verificado um aumento constante na disponibilidade desses produtos, sendo verificado mais de 1.100 novos ou reformulados produtos alimentícios fortificados com cálcio no mercado (FORSHEE; ANDERSON; STOREY, 2006).

A adição de fontes de cálcio usadas como fortificantes deve ocorrer em alimentos que efetivamente participem da rotina da alimentação regional. Seu uso deve ser inserido somente após avaliação do estado nutricional da população alvo. A escolha do veículo alimentar deve ser influenciada por sua popularidade e biodisponibilidade no seu conteúdo de cálcio. As fontes de cálcio ideais para fortificar alimentos devem ser altamente biodisponível, de baixo custo, seguro e compatível com o veículo alimentar (VELLOZO; FISBERG, 2010). A indústria de alimentos é a grande força

impulsionadora da fortificação, estando sujeita a controle legislativo, devido aos limites superiores de segurança e o potencial de toxicidade para os consumidores (FAIRWEATHER-TAIT, TEUCHER, 2002).

A partir de 1999, mais de 1100 produtos fortificados com cálcio foram introduzidos no mercado, sendo mais de dois terços deles incluídos nas categorias de bebidas e lanches. No entanto, esses produtos apresentaram falhas na fortificação (HEANEY; RAFFERTY; BIERMAN, 2005; HEANEY; RAFFERTY, 2006), sendo necessárias reformulações. Além disso, a fortificação com cálcio se deteve apenas parcialmente aquelas categorias de alimentos de maior importância de consumo nos EUA (RAFFERTY; WALTERS; HEANEY, 2007). Para a população americana, os alimentos mais envolvidos com a fortificação de cálcio são bebidas, cereais matinais, pães, como também bebidas à base de soja, massas, biscoitos, margarinas, xarope de chocolate, refrigerantes, águas engarrafadas para esportistas e os produtos derivados de grãos de cereais em geral (NEWMARK; HEANEY; LACHANCE, 2004; OLSON et al., 2009).

Nos Estados Unidos, o enriquecimento de produtos derivados de cereais é praticado há mais de 60 anos, sendo regulamentado pelo *Code of Federal Regulations* que recomenda a adição opcional de cálcio na farinha de trigo e pães em concentrações de até 213,3 mg e 133,3 mg de cálcio/100g produto, respectivamente, quando esses produtos são enriquecidos com os cinco nutrientes obrigatórios (tiamina, riboflavina, niacina, ferro e ácido fólico). Nesse país, um alimento pode ser rotulado como uma boa fonte de cálcio, se oferecer pelo menos 10% da RDA desse mineral, que é de 1000 mg/dia e para ser rotulado como uma excelente fonte de cálcio deverá oferecer pelo menos 20% dessa recomendação (NEWMARK; HEANEY; LACHANCE, 2004; PRINSEN; ULERICH, 2004). No Reino Unido, a farinha de trigo deve conter 98 mg cálcio/100 g produto, valor correspondente a 14% da ingestão diária desse mineral (700 mg/dia) para adultos com mais de 50 anos de idade (FESKANICH et al., 1997).

Com relação às políticas de fortificação de alimentos com cálcio, em 11 países na América Latina, o enriquecimento da farinha de trigo é obrigatório e em oito é opcional. Além da farinha de trigo, outros alimentos apresentam regulamentações opcionais de fortificação, tais como os cereais matinais, alimentos infantis, macarrão e *noodles*, margarina e óleos. Nesses países, a concentração de cálcio adicionado à farinha de trigo variou de 1,1 a 2,2 mg/kg de farinha (RAFFERTY; WALTERS; HEANEY, 2007).

No Brasil, a legislação classifica um alimento fortificado como sendo aquele em que é permitido o enriquecimento ou fortificação desde que 100 mL ou 100 g do produto, pronto para consumo, forneçam no mínimo 15% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de referência, no caso de líquidos, e 30% da IDR de referência, no caso de sólidos. Podendo ser considerado fortificado/enriquecido e declarado no rótulo “alto teor” ou “rico” (BRASIL, 1998). No entanto, ainda não foram estabelecidas políticas públicas voltadas para fortificação com cálcio nesse país. Por outro lado, a indústria alimentícia, especialmente a de laticínios, tem lançado no mercado alguns produtos (leite fluido UHT, leite em pó, iogurtes, bebidas lácteas, entre outros) enriquecidos com cálcio, que fornecem até 100 % da IDR para adultos saudáveis, em duas porções diárias.

Diversos estudos vêm confirmando a utilização de pães como ótimos veículos para o enriquecimento com minerais, especialmente cálcio. Esses alimentos são amplamente consumidos por indivíduos de diferentes grupos sociais, representando uma das principais fontes calóricas da dieta de muitos países (KAJISHIMA; PUMAR; GERMANI, 2003; NABESHIMA et al, 2005). Ainda vale ressaltar que a farinha de trigo, principal ingrediente na produção de pães apresenta deficiência em aminoácidos essenciais e não é visto como alimento fonte de cálcio.

O leite e seus derivados, como o soro de leite e suas frações são as fontes preferidas de cálcio, devido ao elevado teor desse mineral, como também pela ótima biodisponibilidade desse mineral nesses tipos de alimentos. O soro de leite em pó tem sido recomendado como substituto do leite em pó nas formulações de pães, quando utilizado como fonte de enriquecimento em pães de forma são verificados incrementos nos teores de cálcio e proteínas de alto valor biológico, além de melhorias sensoriais, no sabor e cor da crosta desses produtos (LIMA et al, 2009; AZEVEDO et al., 2011). Estudo conduzido por Lima et al. (2009) verificaram que a adição de 10% desse ingrediente lácteo, resultou em um produto final com 90 mg de cálcio/100 g de pão, equivalente a 15% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) recomendada para crianças de até seis anos de idade.

Dentre os sais de cálcio utilizados na fortificação, os mais indicados são os sais orgânicos, devido a sua solubilidade, e por consequência, melhor absorção pelo organismo. Quanto maior a solubilidade de um sal de cálcio maior a sua disponibilidade (CASÉ et al., 2005). Estudos têm comprovado a alta biodisponibilidade do cálcio derivada de sais, especialmente o carbonato de cálcio (RANHOTRA et al., 2000).

O CaCO_3 apresenta a maior porcentagem de cálcio (40%) dentre os outros tipos de sais, como citrato, lactato e gluconato que fornecem 21%, 14% e 9,3% de cálcio, respectivamente (FISHBEIN, 2004). Para fortificação de farinha de trigo e produtos de cereais o carbonato de cálcio, fosfato de cálcio e sulfato de cálcio são os mais utilizados. Kajishima; Pumar; Germani (2003) adicionaram 3,44 g, 2,00 g e 2,72 g de sulfato de cálcio, carbonato e fosfato de cálcio, respectivamente, a cada 74g de farinha de trigo de modo que obteve produtos que atenderam a 100% da Ingestão Diária Recomendada (800 mg) para adultos em 100 g de pão. Martin et al. (2002) verificaram a biodisponibilidade de três diferentes sais de cálcio (carbonato, lactato e sulfato de cálcio) em mulheres saudáveis na pré-menopausa, utilizando os pães como veículo para fortificação com esses sais de cálcio. No grupo estudado, o carbonato e o sulfato de cálcio foram as fontes que apresentaram maior biodisponibilidade em pão branco.

2.6 PÃO DE FORMA

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda um consumo per capita anual de pães de 60 Kg, enquanto a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) estabelece como ideal 50 Kg.

No Brasil, em 2009, o consumo per capita anual era de 34,09 Kg, inferior ao da Argentina e Chile, que foram em torno de 82,5 Kg e 98 Kg, respectivamente (ABIP, 2009).

A legislação brasileira (BRASIL, 2000) define pão como sendo um produto obtido pela cocção, em condições tecnologicamente adequadas, de uma massa fermentada ou não, preparada com farinha de trigo e/ou outras farinhas que contenham naturalmente proteínas formadoras de glúten ou adicionadas das mesmas e água, podendo conter outros ingredientes. Dentre as inúmeras variedades de pães disponíveis hoje no mercado brasileiro, o pão de forma se destaca pela praticidade e pela grande variedade de formulações. Segundo a legislação referida anteriormente, pão de forma é o produto obtido pela cocção da massa em formas, apresentando miolo elástico e homogêneo, com poros finos e casca fina e macia.

O pão de forma está entre os nove principais tipos de produtos de panificação mais consumidos no Brasil, sendo mencionado por 31,9% da população (ABIP, 2009).

A qualidade do pão de forma pode ser avaliada mediante análises físico-químicas (volume específico, pH, acidez, umidade, entre outros) e sensoriais. Um pão

de forma de boa qualidade deve apresentar miolo consistente, cavidades irregulares, textura macia e aveludada, sedosa e elástica.

O volume específico é uma das medidas mais importantes para avaliar a qualidade do pão (MONDAL; DATTA, 2008). Essa característica pode ser influenciada pela quantidade e qualidade da farinha de trigo, incorporação de aditivos (oxidantes, redutores, enzimas, hidrocolóides e emulsificantes) à massa e pelo tempo de fermentação, entre outros (MEZAIZE et al., 2009). Sua determinação, geralmente é realizada pelo método de deslocamento de sementes, depois que o pão de forma é pesado; e o resultado é calculado pela relação entre o volume e o peso da amostra, sendo expresso em cm^3/g . Este método possui a desvantagem de não ser preciso, no entanto, devido a sua simples aplicação, pode ser utilizado como um controle de rotina na indústria de panificação (CECCHI, 2003; YI; KERR, 2009). A literatura menciona um volume igual a $6 \text{ cm}^3/\text{g}$ como o ideal para pães de forma (KIM; STEEL; CHANG, 2005), no entanto valores variando de 4,01 a $4,66 \text{ cm}^3/\text{g}$ foram verificados em outros estudos (BÁRCENAS; ROSELL, 2005; COLLAR; BOLLAÍN; ANGIOLONI, 2005; CONTO et al., 2012).

Alterações no volume específico estão relacionadas à quantidade de gás produzido durante a fermentação e à capacidade de retenção de gás pela massa. O baixo volume específico está associado ao alto teor de umidade e de fibras, falhas no batimento e cocção, pouca aeração, difícil mastigação e sabor impróprio (ESTELLER; LANNES, 2005; YI; KERR, 2009) e o volume excessivo está relacionado com longo tempo de fermentação e incorporação de aditivos a massa (KENNY et al., 2000).

Outros parâmetros físico-químicos de grande importância para o pão são pH e acidez, estando relacionados com os tipos e as concentrações das culturas de micro-organismos responsáveis pela fermentação, teor de resíduo mineral fixo (RMF) da farinha, tempo e temperatura de fermentação, além da concentração de sal na massa (ROBERT et al., 2006). Os valores de pH considerados adequados para pães variam de 5,3 a 6,2 (MARTINEZ-ANAYA; BARBER; ESTEVE, 1994), condições desfavoráveis ao desenvolvimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que cresce melhor em meios com pH ótimo em torno de 5,0 (PLESSAS et al., 2011).

A acidez da massa do pão pode ser provocada pelas bactérias lácticas endógenas da farinha de trigo, adição de bactérias lácticas e/ou levedura à massa e tempo excessivo de fermentação (VUYST; NEYSENS, 2005). Os micro-organismos que provocam a acidificação na massa do pão são os do gênero *Lactobacillus*, *Saccharomyces*,

Lactococcus, *Pediococcus*, *Enterococcus* e *Cândida*, atuando na fermentação da glicose, no crescimento da massa e na produção de ácidos (lático, acético, propiônico e butírico) e álcoois (PLESSAS et al., 2011). Quílez, Ruiz e Romero (2006) observaram melhoria na aceitação de pães fermentados somente por *Saccharomyces cerevisiae* com a elevação no pH e redução na acidez.

O teor de umidade dos pães exerce influência sobre volume, textura, retrogradação do amido e desnaturação das proteínas (GALLAGHER; GORMEY; ARENDT, 2003), determinado por métodos que consistem na remoção de água do produto por meio do aquecimento e calculado pela diferença de peso da amostra no início e no final do processo. A secagem da amostra em estufa, à temperatura de 105°C até a obtenção de peso constante é o método utilizado com maior frequência (PRIMO-MARTÍN et al., 2010), no entanto, métodos que utilizam forno à vácuo, a 75°C durante 16 horas também são muito utilizados (WANG; SUN, 2002).

De 1978 a 2000, a umidade máxima estabelecida para pães era de 30% (BRASIL, 1978). A partir daí ela foi modificada para 38% (BRASIL, 2000), e em 2005 esse padrão foi extinto da legislação brasileira (BRASIL, 2005), passando a ser priorizado os parâmetros sanitários que permitam prevenir e avaliar riscos a saúde da população ao invés de requisitos de qualidade.

Vanin, Lucas e Trystram (2009) verificaram que os pães com baixo teor de umidade podem ser provenientes de uma massa com baixa quantidade de água, o que pode ser provocado devido à gelatinização incompleta do amido e desnaturação de proteínas ou estarem associados com tempo excessivo de assamento, resultando em pães com casca crocante e sensível a fratura, e miolo com aspecto quebradiço e poros de tamanho maior.

A qualidade sensorial dos pães é outro ponto de bastante relevância, sendo comumente avaliado por meio de testes de aceitação, sendo considerados como a ferramenta mais aplicada, por fornecer dados sobre a percepção do produto pelo consumidor, permitindo observar variações quanto à idade, gênero, classe social e cultura, entre outros. Os atributos mais utilizados na avaliação de pães são aparência, textura, aroma e sabor (ABDULLAH, 2008).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas. A primeira consistiu na fortificação de pão de forma com cálcio, utilizando soro de leite em pó e carbonato de cálcio como fontes de fortificação desse mineral e avaliação dos efeitos da adição desses ingredientes sobre as características físico-químicas e sensoriais dos produtos obtidos. Na segunda etapa foi investigada a ingestão dietética de cálcio de um grupo de mulheres adultas e verificada a sua relação com os resultados de densitometria óssea nesse grupo.

A aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPB, protocolo nº 0176/2011 (ANEXO A) foi obtida tanto para a realização do teste de aceitação sensorial dos pães de forma fortificados com cálcio (Estudo 1), como para a avaliação da ingestão dietética de cálcio (Estudo 2). Todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da coleta dos dados (APÊNDICE A).

3.1 ESTUDO 1: FORTIFICAÇÃO DOS PÃES DE FORMA COM CÁLCIO

3.1.1 Ingredientes

A farinha de trigo comercial usada para a elaboração dos pães foi adquirida na Bunge Alimentos S/A (Tatuí, SP, Brasil). O soro doce de leite em pó (10,6% de proteínas; 2% de umidade e 5,8% de cinzas) e o carbonato de cálcio (99,07 % de pureza) foram adquiridos nas empresas Alibra Ingredientes Ltda (Campinas, SP, Brasil) e F. Trajano Ingredientes Ltda (Paulista, PE, Brasil), respectivamente. Os demais ingredientes (açúcar, fermento biológico seco instantâneo, gordura vegetal hidrogenada e sal) foram obtidos em comércio local.

3.1.2 Formulação e procedimentos para elaboração dos pães

A formulação básica do pão de forma foi constituída por farinha de trigo (100 g), água (52 g/100g), sal (1,7 g/100g), fermento biológico seco instantâneo (1 g/100g), açúcar (4 g/100g) e gordura vegetal hidrogenada (3 g/100g).

O soro de leite em pó (SLP) e o carbonato de cálcio (CaCO_3) foram adicionados à formulação de acordo com o delineamento do tipo fatorial completo 2^2 a fim de verificar os efeitos dessa adição sobre as características físico-químicas e sensoriais dos

produtos fortificados. As variáveis reais e codificadas e seus correspondentes níveis de adição estão descritos na Tabela 3.

A produção dos pães de forma seguiu o procedimento de massa direta. Os ingredientes secos foram homogeneizados em um misturador do tipo espiral (Steel, ST-005, São Paulo, Brasil), em velocidade lenta por 5 minutos e rápida por 10 minutos (até atingir o ponto de véu), sendo feita a adição gradual de água refrigerada a aproximadamente 10 °C. Em seguida, a massa fresca que se encontrava com temperatura em torno de 24 °C foi boleada, submetida a descanso de 10 minutos e dividida em unidades de 650 g. Após modelagem manual, porções individuais foram colocadas em formas (22 cm x 11 cm x 7 cm) previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e transportadas até a câmara de fermentação (Nova Ética, série 400D, São Paulo, Brasil), permanecendo por aproximadamente 1 hora e 40 minutos, a 35 ± 1 °C. Ao final desse período, os pães foram assados em forno a gás (Turbo Progas, Caxias do Sul, RS, Brasil) por 20 minutos, a 200 °C e resfriados por três horas, sendo posteriormente fatiados, embalados em sacos plásticos de polietileno e armazenados à temperatura ambiente até a realização das análises.

Tabela 3. Variáveis e níveis do delineamento fatorial 2^2 .

Variáveis reais (g/100g)	Variáveis codificadas	Níveis das variáveis codificadas		
		-1	0	1
SLP ^a	x1	0	5	10
CaCO ₃	x2	0	1	2

^aSLP= soro de leite em pó; CaCO₃= carbonato de cálcio, em g/100g de farinha de trigo.

3.1.3 Análises físico-químicas dos pães

Com exceção do volume específico, todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.1.3.1 pH e Acidez total titulável (ATT)

As amostras de miolo de pão (10 g) foram homogeneizadas com 90 mL de água destilada e submetidas às análises de pH e ATT. O pH foi determinado em potenciômetro (Quimis, 0400, São Paulo, Brasil), previamente calibrado e a acidez foi titulada com solução de NaOH 0,1 mol/L até pH final de 8,5 sendo expressa em mL de NaOH 0,1 mol/L (ROBERT et al., 2006).

3.1.3.2 Volume específico

O volume específico dos pães foi determinado 24 horas após o processamento, pelo método 10-11 da AACC (2000a). Após pesagem em balança semi-analítica, o volume dos pães foi medido por deslocamento das sementes de painço, e o volume específico (cm^3/g) foi calculado com base na razão entre o volume (cm^3) e a massa dos pães (g).

3.1.3.3 Conteúdo de umidade do miolo dos pães

As amostras foram preparadas de acordo com o método 62-05 da AACC (2000b). O conteúdo de umidade do miolo dos pães foi determinado de acordo com o método 44-15 da AACC (2000c).

3.1.3.4 Atividade de água (Aa)

A atividade de água no miolo dos pães foi determinada em equipamento AQUALAB (Series 3, Decagon, USA) (LABUZA et al., 1976).

3.1.3.5 Teor de cálcio dos pães

O teor de cálcio foi quantificado em espectrofotômetro de absorção atômica por chama (AAS 220 F, Varian Spectr, Ontário, Canadá), de acordo com os métodos da AOAC (2006).

3.1.4 Avaliação Sensorial

As formulações contendo teor mínimo de cálcio de 300 mg/100 g de pão foram submetidas ao teste de aceitação sensorial. As análises foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos - DEA da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, em cabines individuais à temperatura de 22°C sob luz branca. O teste foi conduzido 24 horas após a produção dos pães, com 54 provadores não treinados recrutados entre alunos e funcionários do Centro de Tecnologia da UFPB.

As amostras (um quarto de uma fatia de pão, incluindo miolo e casca) foram servidas de forma monádica em pratos brancos descartáveis numerados com três dígitos codificados aleatoriamente. A água mineral foi fornecida entre as amostras para limpeza do palato.

Durante as análises os provadores avaliaram os seguintes atributos: aparência do pão inteiro, aparência da fatia, cor da casca, cor do miolo, aroma, sabor, umidade e maciez do miolo, além da aceitação global, utilizando uma escala hedônica de 9 pontos, ancorados em 9 “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente” (ANEXO B) (STONE; SIDEL, 1985). Os pães foram considerados aceitos quando obtiveram médias ≥ 6 (“gostei ligeiramente”) (ROCHA; CARDOSO SANTIAGO, 2009).

3.1.5 Análise Estatística

A avaliação dos efeitos da adição de diferentes concentrações de soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO_3) sobre as características físico-químicas de pães de forma foi realizada usando o pacote estatístico STATISTICA 5.0[®] (STATSOFT Inc., Tulsa, OK, USA, 2004). Os resultados foram avaliados através da Análise de Variância (ANOVA), teste F e R^2 (coeficiente de determinação) ao nível de significância de $p < 0,05$. Os modelos matemáticos de primeira ordem foram obtidos a partir da equação 1.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_1 + \beta_2 \cdot x_2 + \beta_3 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (1)$$

Onde Y corresponde às variáveis dependentes: pH, acidez, volume específico, conteúdo de umidade, atividade de água e teor de cálcio; x_1 e x_2 representam as variáveis independentes: soro de leite em pó e carbonato de cálcio, respectivamente; β_0 , β_1 , β_2 e β_3 equivalem às médias dos experimentos, coeficientes dos efeitos principais das variáveis x_1 e x_2 e aos coeficientes de interação entre as variáveis x_1 e x_2 , respectivamente.

Para o teste de aceitação sensorial dos pães de forma utilizou-se a ANOVA e teste de Tukey, ao nível de significância de $p < 0,05$.

3.2 ESTUDO 2: AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DIETÉTICA DE CÁLCIO EM MULHERES ADULTAS

3.2.1 Desenho do estudo e Sujeitos da Pesquisa

Foi realizado um estudo do tipo transversal com amostra de conveniência, sendo incluídas 50 mulheres saudáveis com idade igual ou superior a 40 anos, selecionadas a partir de um grupo de praticantes de atividade física, coordenado por profissionais de educação física, em uma praça pública no município de João Pessoa, PB, Brasil.

O recrutamento ocorreu no período de maio de 2011 a maio de 2012, sendo aplicado um questionário com levantamento de dados pessoais (nome completo,

endereço, telefone para contato, data de nascimento), socioeconômicos (atividade profissional, escolaridade, renda familiar), clínicos (distúrbio na tireoide, história familiar e presença de doenças ósseas), de estilo de vida (fuma, ingestão de bebida alcoólica, prática de atividade física), entre outros (APÊNDICE B).

Os critérios de exclusão adotados foram: uso de suplementos de cálcio e/ou vitamina D, problemas de calcificação óssea, doença renal, distúrbios na tireoide, uso de medicamentos dos grupos tiazidas, esteróides ou outra medicação que pudesse afetar a massa óssea.

3.2.2 Avaliação Dietética

A avaliação dietética foi realizada por meio de Questionário Quantitativo de Frequência de Consumo Alimentar (QQFCA) e Recordatório Alimentar de 24 horas (R24h). Os dados obtidos nesses inquéritos foram analisados com o auxílio dos softwares *Avanutri online*[®] versão 2.0 (*CriaPix*, Rio de Janeiro, Brasil) e *Dietsys* versão 3.0 (BLOCK, 1988).

O R24h (ANEXO C) foi aplicado em três dias não consecutivos, incluindo-se um dia do final de semana (YUNSHENG et al., 2009), a fim de obter a dieta habitual das voluntárias do estudo. Os inquéritos foram preenchidos mediante entrevistas pessoais, sendo solicitada às participantes informações detalhadas de todos os alimentos e bebidas consumidos nas 24 horas anteriores à entrevista, bem como a forma de preparo, a marca comercial dos alimentos industrializados, o horário e local das refeições, como também o tamanho das porções consumidas (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010). Durante as entrevistas, foi apresentado um álbum de fotos com modelos de porções de alimentos e utensílios (MONTEIRO et al., 2010).

A ingestão de energia, carboidratos, proteínas, lipídios, vitamina D, fósforo, magnésio, cálcio e cafeína foram obtidos a partir da média dos três recordatórios alimentares aplicados. Para as análises das necessidades nutricionais dos macronutrientes e micronutrientes foram adotadas as AMDR's (*Acceptable Macronutrient Distribution Ranges*) e as EAR's (*Estimated Average Requirements*) das DRI's (*Dietary References Intakes*), respectivamente (IOM, 2006; IOM, 2011).

O QQFCA (ANEXO D) foi validado, a partir de três recordatórios de 24 horas aplicados em diferentes intervalos de tempo, para a população de mulheres do município de João Pessoa, PB, Brasil, sendo realizado em parceria com a Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e o Programa de Pós-Graduação em

Ciências da Nutrição da UFPB (LIMA et al., 2007; LIMA et al., 2008). Esse inquérito informava o número de vezes que os alimentos e bebidas eram consumidos, a unidade de tempo (por dia, semana, mês ou o ano), o tipo de porção consumida (g ou mL) e o tamanho da porção de cada item alimentar (pequeno, médio, grande ou extra-grande). Modelos de porções de alimentos (pequeno, médio e grande) foram apresentados às participantes como o objetivo de minimizar os erros quanto ao tamanho das porções consumidas e possíveis deficiências de memória dos indivíduos entrevistados (MONTEIRO et al., 2010).

As porções diárias dos alimentos pertencentes ao grupo de leite e derivados (leite integral, leite desnatado, iogurte e queijo), peixes e vegetais (couve e espinafre) foram obtidas a partir do QQFCA. Uma porção do grupo de leite e derivados correspondia a 200 mL de leite integral ou leite desnatado, 200 mL de iogurte ou 40 g de queijo; para carnes e peixes, 80g de carne vermelha e 100g de frango ou peixe e para vegetais, 80g de couve ou espinafre cozido (BRASIL, 2008; USDA, 2010).

3.2.3 Avaliação da Densidade Mineral Óssea

As medidas de Densidade Mineral Óssea (DMO) da coluna lombar (L2-L4) e do colo femoral foram determinadas por absorciometria de energia dupla de raios X (HOLOGIC QDR 2000, Discovery Ci, Hologic Inc., Bedford, MA, USA), sendo os resultados, expressos em g/cm^2 , classificados como normal, osteopenia ou osteoporose com base nos valores relativos ao T-score (adulto jovem 20 a 45 anos) (WHO, 2000). Essas medidas foram conduzidas em clínicas particulares no município de João Pessoa, PB.

3.2.4 Análise Estatística

Os resultados referentes às características socioeconômicas da população estudada foram apresentados na forma de tabelas, usando a estatística descritiva (frequência absoluta, média, mediana e desvio-padrão).

O método da adequação aparente (IOM, 2006) foi utilizado para avaliar se a ingestão de dietética de cálcio atingiu as necessidades das mulheres estudadas. Trata-se de uma abordagem estatística que compara a diferença entre a ingestão habitual e a EAR, considerando a variabilidade da necessidade e a variação intrapessoal referente aos dias de consumo analisados. O resultado foi expresso por meio de um escore z, que indica a probabilidade de adequação da dieta, ou seja, o grau de confiança que a

ingestão alcança as necessidades de um determinado indivíduo, conforme mostra a equação 2 a seguir:

$$z = \frac{D/DP_D - \bar{y} - EAR}{\sqrt{V_{nec} + (V_{int}/n)}} \quad (2)$$

Onde:

$\bar{y}$ = média de ingestão do nutriente pelo indivíduo referente aos dias de consumo analisado;

EAR= estimativa da necessidade média do nutriente de acordo com idade e sexo

V_{nec} = variância da necessidade = $(dp_{nec})^2$ = desvio-padrão da necessidade ao quadrado

V_{int} = variância intrapessoal= $(dp_{int})^2$ = desvio-padrão intrapessoal ao quadrado

n = número de dias do consumo alimentar do indivíduo analisados

Para estimar a variabilidade da necessidade de cálcio, considerou-se um coeficiente de variação (CV) de 10%. A área do valor do escore z foi encontrada na tabela da distribuição normal, indicando a probabilidade da ingestão de cálcio estar adequada ao nível de $p \geq 0,70$.

A associação entre as variáveis nominais foi realizada utilizando o teste Qui-quadrado (χ^2). No estudo de correlação entre a ingestão de cálcio e a DMO das mulheres utilizou-se o coeficiente de correlação linear de Pearson.

O *software Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS, versão 17.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos) foi utilizado para as análises estatísticas descritas. O nível de significância adotado foi $\alpha=5\%$ (0,05).

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, M. Z. **Quality evaluation of bakery products-Computer vision technology for food quality evaluation**. Burlington, EUA: D.W. Sun, 2008.
- ADU-AFARWUAH, S. et al. Home fortification of complementary foods with micronutrient supplements is well accepted and has positive effects on infant iron status in Ghana. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n.4, p. 929- 938, 2008.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. AACC. **Approved methods of the AACC**. 8th ed. St. Paul, MN: Method n° 10- 11, 2000a.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. AACC. **Approved methods of the AACC**. 8th ed. St. Paul, MN: Method n°62-05, 2000b.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. AACC. **Approved methods of the AACC**. 8th ed. St. Paul, MN: Method n°44-15, 2000c.
- ARAB, L. et al. Eight self-administered 24-hour dietary recalls using the internet are feasible in african americans and whites: the energetics study. **Journal of American Dietetic Association**, v.110, n.6, p. 857-864, 2010.
- ARAB, L. et al. Validity of a multipass, web-based, 24-hour self-administered recall for assessment of total energy intake in blacks and whites. **American Journal of Epidemiology**, v.174, n. 11, 2011. DOI: 10.1093/aje/kwr224
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PANIFICAÇÃO. ABIP. **Perfil do Setor de Panificação no Brasil**. São Paulo. 2009. Disponível em: <http://www.abip.org.br/perfil_internas.aspx?cod=35>. Acesso em: 14 mai. 2012
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. AOAC. Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists, 18th ed.. Gaithersburg: AOAC International, 2006.
- AZEVEDO, F. L. A. A. et al. Avaliação sensorial de pão de forma elaborado com soro de leite em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.1, p. 37-47, 2011.
- BAKKE, A.; VICKERS, Z. Consumer liking of refined and whole wheat breads. **Journal of Food Science**, v.72, p. 473-480, 2007.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat bread. **Food Hydrocolloids**, v.19, p. 1037-1043, 2005.

BASIOTIS, P.P. et al. Number of days of food intake records required to estimate individual and group nutrient intakes with defined confidence. **Journal of Nutrition**, v.117, n.9, p. 1638-1641, 1987.

BISCHOFF-FERRARI, H. A. et al. Dietary calcium and serum 25-hydroxy vitamin D status in relation to BMD among U.S. adults. **Journal of Bone Mineral Research**. v. 24, p. 935-942, 2009.

BLOCK, G. **Health habits and history questionnaire**: Diet history and other risk factors. Bethesda: National Cancer Institute, 1988.

BOW, C.H. et al. Ethnic difference of clinical vertebral fracture risk. **Osteoporosis International**, v.23, p. 879-885, 2012. DOI 10.1007/s00198-011-1627-9

BRANCA, F.; VALTUEÑA, S. Calcium, physical activity and bone health-building bones for a stronger future. **Public Health Nutrition**, v. 4, n.3, p. 863, Jun. 2001.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução CNNPA nº12 de 24 de julho de 1978. Aprova as seguintes normas técnicas especiais, do Estado de São Paulo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 24 jul. 1978.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 31 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1998.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº.90 de 18 de outubro de 2000. Aprova o regulamento técnico para a fixação de identidade e qualidade de pão. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 out., 2000.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 263 de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 22 set. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília: Secretaria de atenção à saúde; 2008.

BUZZARD, M. 24-hour dietary recall and food record methods. In: Willet, W. (editor). **Nutritional epidemiology**. 2 ed. New York: Oxford University Press, 1998, p. 51-67.

CADE, J. E. et al. Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilization. **Nutrition Research Reviews**, v.17, p. 5-22, 2004. DOI: 10.1079/NRR200370

CARVALHO, M.; KULAK, C. A. M.; BORBA, V. Z. C. Prevalência de hipercalcúria em mulheres na pós-menopausa com osteoporose. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**. v.56, n.1, p. 1-5, 2012.

CASÉ, F. et al. Produção de “leite” de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p. 86-91, 2005.

CASHMAN, K. D. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **British Journal of Nutrition**, v.87, Supl. 2, p. S169-S177, 2002.

CASHMAN, K. D. Diet, Nutrition, and Bone Health. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 11, p. 2507S-2512S, nov., 2007.

CECH, D. Prevention of osteoporosis: From infancy through older adulthood. **Hong Kong Physiotherapy Journal**, v.30, p. 6-12, 2012. DOI:10.1016/j.hkpj.2012.01.002

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2ª ed. rev., Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003. 207p. ISBN 85-268-0641-6.

CHEUNG, E. et al. Bone loss during menopausal transition among southern Chinese women. **Maturitas**, v. 69, n. 1, p. 50-56, 2011. DOI:10.1016/j.maturitas.2011.01.010.

CINTRA, I. P. et al. Métodos de inquéritos dietéticos. **Cadernos de Nutrição**. v.13, p.11-23, 1997.

COLLAR, C.; BOLLAÍN, C.; ANGIOLONI, A. Significance of microbial transglutaminase on the sensory, mechanical and crumb grain pattern of enzyme supplemented fresh pan breads. **Journal of Food Engineering**, v.70, p. 479-488, 2005.

CONTO, L. C. et al. Effects of the addition of microencapsulated omega-3 and rosemary extract on the technological and sensory quality of white pan bread. **LWT - Food Science and Technology**, v.45, p.103-109, 2012.

COZZOLINO, S.M.F. Deficiências de minerais. *Estudos Avançados*, v.21, n.60, 2007.

DAWSON-HUGHES, B. et al. A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women. **The New England Journal of Medicine**. v.323, p. S878-S883, 1990.

DE PAULA, R. A. C. **O impacto de um biscoito fortificado com cálcio sobre o estado nutricional e densidade mineral óssea em adolescentes**. 2004. 101f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina. São Paulo, 2004.

EASTELL, R. et al. Management of male osteoporosis: report of the UK Consensus Group. **Quarterly Journal of Medicine**, v.91, p. 71-92, 1998.

ESTAIRE, P. et al. Food sources and intake of calcium in a representative sample of Spanish adults. **Food and Nutrition Sciences**, v.3, p. 1269-1276, 2012.
DOI:10.4236/fns.2012.39167.

ESTELLER, M.S.; LANNES, S.C.S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, out/dez., 2005.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; TEUCHER, B. Iron and calcium bioavailability of fortified foods and dietary supplements. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 11, p. 360-367, 2002.

FARDELLONE, P. et al. Calcium intake and the risk of osteoporosis and fractures in French women. **Joint Bone Spine**, v.77, n.2, p.154-158, 2010.

FERNÁNDEZ-BALLART, J. D. et al. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. **British Journal of Nutrition**, v.103, n.12, p.1808-1816, Jun. 2010.
DOI:10.1017/S0007114509993837

FESKANICH, D.; WILLETT, W.C.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ, G.A. Milk, dietary calcium, and bone fractures in women: a 12-year prospective study. **American Journal of Public Health**. v.87, n.6, p. 992-997, 1997.

FISHBEIN, L. Multiple sources of dietary calcium- some aspects of its essentiality. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v.39, p. 67-80, 2004.

FORSHEE, R.A.; ANDERSON, P.A.; STOREY, M.L. Changes in calcium intake and association with beverage consumption and demographics: comparing data from CSFII 1994-1996, 1998 and NHANES 1999-2002. **Journal of the American College Nutrition**, v.25, n.2, p. 108-116, 2006.

GALLAGHER, E.; GORMLEY, T.R.; ARENDT, E.K. Crust and crumb characteristics of gluten free breads. **Journal of Food Engineering**, v.56, p. 153-161, 2003.

GERSTNER, G. Dairy products: The calcium challenge. **International Food Ingredients**, v.3, p. 45-48, 2002.

GREER, F.R.; KREBS, N.F. Committee of the Nutrition. Optimizing bone health and calcium intakes of infants, children, and adolescents. **Pediatrics**. v. 117, n. 2, p. 578-585, 2006.

GIBSON, R.S. **Principles of nutritional assessment**. 1 ed. New York: Oxford University Press, 1990.

HEANEY, R.P. Calcium, dairy products and osteoporosis. **Journal of the American College Nutrition**, v.19, suppl.2, p. 83S-99S, 2000.
DOI:10.1080/07315724.2000.10718088

HEANEY, R.P.; RAFFERTY, K.; BIERMAN, J. Not all calcium-fortified beverages are equal. **Nutrition Today**, v. 40, n.1, p. 39-44, 2005.

HEANEY, R.P.; RAFFERTY, K. The settling problem in calcium - fortified soybean drinks. **Journal of the American Dietetic Association**, v.106, n.11, p. 1753, 2006.

HOLROYD, C.; COOPER, C.; DENNISON, E. Epidemiology of osteoporosis. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 22, n. 5, p. 671-685, 2008. DOI:10.1016/j.beem.2008.06.001

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 1ª edição, 2011.

INSTITUTE OF MEDICINE. IOM. Food and Nutrition Board. **Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride**. Washington (DC): The National Academies Press, 1997. Disponível em:< <http://www.nap.edu/> >. Acesso em 20 jan. 2012.

INSTITUTE OF MEDICINE. IOM. Food and Nutrition Board. **Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements**. Washington (D.C.): The National Academies Press, 2006. Disponível em:< <http://www.nap.edu/> >. Acesso em 20 jan. 2012.

INSTITUTE OF MEDICINE. IOM. Food and Nutrition Board. **Dietary References Intakes for calcium and vitamin D**. Washington, DC: The National Academies Press, 2011. Disponível em:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/pdf/TOC.pdf>>. Acesso em 20 jan. 2011.

IOF.INTERNATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION. Disponível em:<<http://www.osteofound.org/index.php>>. Acessado em 19 set. 2012.

ITO, S. et al. The relationship between habitual dietary phosphorus and calcium intake, and bone mineral density in young Japanese women: a cross-sectional study. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 20, p.411–417, 2011.

JOOYANDEH, H.; MINHAS, K. S.; AMARJIT KAUR. Sensory quality and chemical composition of wheat breads supplemented with fermented whey protein concentrate and whey permeate. **Journal of Food Science and Technology**, v.46, p.28-34, 2009.

JORGE, R.A.; RODRIGUES, C. S. C. Papel dos nutrientes na prevenção e no tratamento da osteoporose: revisão. **Brazilian Journal Clinical of Nutrition**, v.24, n.1, p. 66-71, jan.-mar., 2009.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMANI, R. Efeito de adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p. 222-225, mai./ago. 2003.

KALKWARF, H. J.; KHOURY, J. C.; LANPHEAR, B. P. Milk intake during childhood and adolescence, adult bone density, and osteoporotic fractures in US women. **The American Journal of Clinical Nutritional**, v.77, n.1, p. 257-265, 2003.

KENNY, S. et al. Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: effects on dough rheology and bread quality. **European Food Research Technology**, v.210, p. 391–396, 2000.

KEY, T.J. et al. Calcium, diet and fracture risk: a prospective study of 1898 incident fractures among 34696 British women and men. **Public Health Nutrition**, v.10, n.11, p.1314-1320, 2007.

KIM, E. M.; STEEL, C. J. ; CHANG, Y. K. A influência do processamento sobre a retenção de ácidos graxos ômega-3 adicionados ao pão de forma. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.4, p. 268-276, 2005.

LABUZA, T. P. et al. Water activity determination: a collaborative study of different methods. **Journal of Food Science**, v.41, p. 910-912, 1976.

LANZILLOTTI, H. S. et al. Osteoporosis in postmenopausal women, dietary calcium and other risk factors. **Revista de Nutrição**; Campinas, v.16, n.2, p.181-93, Jun. 2003.

LIMA, F. E. L. L., et al. Validade de um questionário quantitativo de frequência alimentar desenvolvido para população feminina no nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.10, p. 483-490, 2007.

LIMA, F. E. L. L., et al. Diet and cancer in Northeast Brazil: evaluation of eating habits and food group consumption in relation to breast cancer. **Cadernos de Saúde Pública**, v.24, p. 820-828, 2008.

LIMA, A.S. et al. Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.68, n.3, p.366-372, 2009.

LUCAS, R.; COSTA, L.; BARROS, H. Ingestão de cálcio e vitamina D numa amostra urbana de mulheres portuguesas. **Arquivos de Medicina**, Porto, v. 19, n. 1-2, jan. 2005.

LUNA, R. C. P. et al. Relation between glucose levels, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), body mass index (BMI) and serum and dietary retinol in elderly in population-based study. **Archives of Gerontology and Geriatrics**. v.54, p. 462-468, 2011.

MAHAN, L. K. ; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, 12ª ed., p.1157, 2010.

MALKIN, I.; KARASIK, D.; LIVSHITS, G.; KOBLYANSKY, E. Modelling of age-related bone loss using cross-sectional data. **Annual of Human Biology**, v.29, p. 256-70, 2002.

MALLIK, J., KULKARNI, S. Quality of rusks prepared by incorporation of concentrated whey. **Journal of Food Science and Technology** , v.47, n.3, p. 339-342, 2010.

MANGANO, K. M. et al. Calcium Intake in the United States from Dietary and Supplemental Sources across Adult Age Groups: New Estimates from the National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2006. **Journal of American Dietetic Association**, v.111, p. 687-695, 2011. DOI: 10.1016/j.jada.2011.02.014

MARGETTS, B. M.; NELSON, M. **Design Concepts in Nutrition Epidemiology**. Oxford: University Press, 1997

MARRA, M.V.; BOYAR, A.P. Position of the American Dietetic Association: nutrient supplementation. **Journal of the American Dietetic Association**, v.109, n.12, p. 2073-2085, 2009.

MARTIN, B. R. et al. Calcium Absorption from Three Salts and CaSO₄-Fortified Bread in Premenopausal Women. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.50, n.13, p. 3874–3876, 2002. DOI: 10.1021/jf020065g

MARTINEZ-ANAYA, M.A.; BARBER, C.B.; ESTEVE, C. C. Effects of processing conditions on acidification properties of wheat sour doughs. **International Journal of Food Microbiology**, v.22, p. 249-255, 1994.

MASI, L. Epidemiology of osteoporosis. **Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism** , v. 5, n.1, p. 11-13, 2008.

MEZAÍZE, S. et al. Optimization of gluten-free formulations for French-style breads. **Food Engineering and Physical Properties**, v.74, n.3, 2009

MONDAL, A.; DATTA, A.K. Bread baking- A review. **Journal Food Engineering**, v.86, p.466-474, 2008.

MONTEIRO, J. P. et al. **Consumo alimentar**. Visualizando porções. Reimpr. Vannucchi H., editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.

MONTILLA, R. N. G.; MARUCCI, M.F.N.; ALDRIGHI, J. M. Avaliação do estado nutricional e do consumo alimentar de mulheres no climatério. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.49, n.1, p. 91-9, 2003.

MORGAN, K.T. Nutritional determinants of bone health. **Journal of Nutrition for the Elderly**, v.27, p. 3-27, 2008.

MOSHFEH, A. J. et al. The US Department of Agriculture Automated Multiple-Pass Method reduces bias in the collection of energy intakes. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.88, n.2, p.324-332, 2008.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. NIH. CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE STATEMENT. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. v.17, n.1, p. 1-36, 27 e 29/mar. 2000. Disponível em: <<http://consensus.nih.gov/2000/2000osteoporosis111html.htm>>. Acesso em 19 jan. 2011.

NABESHIMA, E.H. et al. Propriedades tecnológicas e sensoriais de pães fortificados com ferro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.25, n.3, p.506-511, jul./set., 2005.

NEWMARK, H. L.; HEANEY, R. P.; LACHANCE, P. A. Should calcium and vitamin D be added to the current enrichment program for cereal-grain products? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, n.2, p. 264-270, 2004.

NIEVES, J. W. et al. Nutritional factors that influence change in bone density and stress fracture risk among young female cross-country runners. **Physical Medicine and Rehabilitation**, v.2, n.8, p.740-750, 2010.

OLSON, B.H.; CHUNG, K.R.; RECKASE, M.; SCHOEMES, S. Parental Influences on Dairy Intake in Children, and Their Role in Child Calcium-fortified Food Use. **Journal of Nutrition Education and Behavior**, v. 41, n.1, p. 53-57, 2009.

PAIXÃO, M. P. C. P.; BRESSAN, J. Cálcio e saúde óssea: tratamento e prevenção. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 2, p. 237-246, mai./ago. 2010. ISSN 1983-1870.

PEREIRA, D. C. et al. Association between obesity and calcium:phosphorus ratio in the habitual diets of adults in a city of Northeastern Brazil: an epidemiological study. **Nutrition Journal**, v.12, n.90, 2013. DOI: 10.1186/1475-2891-12-90

PIETSCHMANN, P. et al. Osteoporosis: An Age-Related and Gender-Specific Disease -A Mini-Review. **Gerontology**, v.55, n.1, p. 3-12, 2009. DOI: 10.1159/000166209

PINHEIRO, M. M. et al. Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Nutrition Journal**, v.8, n.6, p. jan. 2009. DOI : 10.1186/1475-2891-8-6

PINTO NETO, A. M. et al. Consenso brasileiro de osteoporose. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 42, n. 6, nov/dez, 2002.

PIRKUL, T.; TEMIZ, A.; ERDEM, Y. K. Fortification of yogurt with calcium salts and its effect on starter microorganisms and yogurt quality. **International Dairy Journal**, v.7, p.547–552, 1997.

PLESSAS, S. et al. Application of novel starter cultures for sourdough bread production. **Anaerobe**, v.17, p.486-489, 2011.

PRENTICE, A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. **Public Health Nutrition**, v.71, n.1, p. 22–43, 2004.

PRIMO-MARTÍN, C. et al. Bread crispness and morphology can be controlled by proving conditions. **Food Research International**, v.43, p.207-217, 2010.

PRINSEN, J.; ULERICH, L. Calcium-Fortified Foods. **Journal of Renal Nutrition**, v.14, n.3, p.1-4, 2004.

PRIORE, S. E. et al. Consumo de cálcio e vitamina D na infância: Resultados do Nutri - Brasil infância (Estudo multicêntrico do consumo alimentar de pré-escolares). DANONE: Saúde & Nutrição, Danone Research Centre Daniel Carasso, Danone Health Affairs, France, Paris. 2009. Disponível em:<<http://www.danone.com.br>> . Acesso em 10 fev. 2012.

QUÍLEZ, J.; RUIZ, J. A.; ROMERO, M. P. Relationships between sensory flavor evaluation and volatile and nonvolatile compounds in commercial wheat bread type baguette. **Journal of Food Science**, v.71, n.6, 2006.

RAFFERTY, K.; WALTERS, G.; HEANEY, R.P. Calcium fortificants: overview and strategies for improving calcium nutriture of the U.S. population. **Journal of Food Science**, v. 72, n.9, p. 152-158, 2007.

RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A.; LEINEN, S.D. Utilization of Calcium in Breads Highly Fortified with Calcium as Calcium Carbonate or as Dairy Calcium. **Cereal Chemistry**, v. 77, n. 3, p. 293-296, 2000.

RIGGS, B.L.; KHOSLA, S.; MELTON, L.J. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. **Endocrine Reviews**, v.23, p. 279-302, 2002.

RIGGS, B.L. et al. Population-based study of age and sex differences in bone volumetric density, size, geometry, and structure at different skeletal sites. **Journal of Bone Mineral Research**, v.19, n.12, p.1945-1954, 2004.

ROBERT, H. et al. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, p. 256-265, 2006.

ROCHA, L. S.; CARDOSO SANTIAGO, R. A. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata vog.*) na elaboração de pães. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.820-825, 2009.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E.; NAVIA LOMBÁN, B.; LÓPEZ-SOBALER, A. M.; ORTEGA ANTA, R. M. Review and future perspectives on recommended calcium intake. **Nutrición Hospitalaria**, v.25, n.3, p. 366-374, 2010.

ROSS, A. C. et al. The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.96, n.1, p. 53–58, Jan. 2011.
DOI:10.1210/jc.2010-2704

SHEA, B. et al. VII Meta-analysis of calcium supplementation for the prevention of postmenopausal osteoporosis. **Endocrine Reviews**, v.23, n.4, p.552–559, 2002. DOI: 10.1210/er.2001-7002.

SLATER, B.; MARCHIONI, D.L.; FISBERG, R.M. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.4, p.599-605, 2004.

STATSOFT. Statistica for windows, Tulsa, USA. 2004.

STEIN, E.; SHANE, E. Secondary osteoporosis. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North of America**, v.32, n.1, p. 115–134, 2003. DOI:10.1016/S0889-8529(02)00062-2.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Descriptive analysis. In H. Stone, & J. L. Sidel (Eds.), **Sensory evaluation practices**, London: Academic Press. p. 202-226, 1985.

TANG, B.M. et al. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. **The Lancet**, v.370, n.9588, p. 657-666, 2007.

TUCKER, K. L. Osteoporosis prevention and nutrition. **Current Osteoporosis Reports**, v.7, p. 111-117, 2009.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. USDA. U.S. Department of Health and Human Services: **Dietary guidelines for americans**; 2010. Disponível em: <<http://www.cnpp.usda.gov/dietaryguidelines.htm>>. Acesso em 05 jun. 2012.

VANIN, F.M.; LUCAS, T.; TRYSTRAM, G. Crust formation and its role during bread baking. **Trends in Food Science and Technology**, v.20, p.333-343, 2009.

VATANPARAST, H. et al. Positive effects of vegetable and fruit consumption and calcium intake on bone mineral accrual in boys during growth from childhood to adolescence: the University of Saskatchewan Pediatric Bone Mineral Accrual Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.82, n.3, p:700-706, 2005.

VELLOZO, E. P.; FISBERG, M. O impacto da fortificação de alimentos na prevenção da deficiência de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, Supl. 2, p.134-139, 2010.

VUYST, L.D.; NEYSENS, P. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. **Trends in Food Science and Technology**, v.16, p. 43-56, 2005.

WANG, F.C.; SUN, X.S. Frequency dependence of viscoelastic properties of bread crumb and relation to bread staling. **Cereal Chemistry**, v.79, p. 108-114, 2002.

WEAVER, C.M. The growing years and prevention of osteoporosis in later life. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.59, p. 303–306, 2000.

WILLET, W. **Nutritional epidemiology**. 2 ed. New York: Oxford University Press, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Prevention and management of osteoporosis. Expert committees and study groups. Executive board, Geneva, 7 - 10 Abr. 2000. Sessão 114, 13 abr. 2004.

WINZENBERG, T.; SHAW, K.; FRYER, J.; JONES, G. Effects of calcium supplementation on bone density in healthy children: meta-analysis of randomized controlled trials. **British Medical Journal**, v.333, n.7572, p. 775, 2006. DOI:10.1136/bmj.38950.561400.55.

YI, J.; KERR, W.L. Combined effects of dough freezing and storage conditions on bread quality factors. **Journal of Food Engineering**, v.93, p. 495-501, 2009.

YUNSHENG, M. A. et al. Number of 24-hour diet recalls needed to estimate energy intake. **Annals of Epidemiology**, v.19, n.8, p. 553-559, 2009.

ZHU, K. et al. Growth and bone mineral accretion during puberty in Chinese girls: a five-year longitudinal study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.23, n.2, p.167-172, 2008.

ZHU, K.; PRINCE, R.L. Calcium and bone. **Clinical Biochemistry**, v.45, p. 936-942, 2012.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de artigos científicos, sendo submetidos aos periódicos: LWT- Food Science and Technology e Cadernos de Saúde Pública com Qualis A2 e B2, respectivamente.

4.1 ARTIGO 1

EFFECTS OF ADDITION OF WHEY POWDER AND CALCIUM CARBONATE ON THE PHYSICO-CHEMICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF WHITE PAN BREAD

Adriana de Sousa Lima^{a*}, Ricardo Targino Moreira^a, Flávio Luiz Honorato da Silva^{a,b},
 Ânoar Abbas El- Aouar^a, Carine Ellen Pinto Maciel^a, Janeeyre Ferreira Maciel^a

^aFederal University of Paraíba (UFPB). Department of Food Engineering.

Address: University City, Castelo Branco District, Campus I, João Pessoa, Paraíba,
 Brazil. CEP: 58051-900. Tel.: 55 83 32167384 and 55 83 3216 6375

E-mail addresses: janeeyre@ct.ufpb.br, ricardo.ufpb@gmail.com,
 anoarabbas@gmail.com, ca.ellen@hotmail.com

^{a,b}Federal University of Paraíba (UFPB). Department of Chemical Engineering, Campus
 I, João Pessoa, Paraíba, Brazil. CEP: 58051-900. Tel.: 55 83 32167385

E-mail address: flavioluizh@yahoo.com.br

*Corresponding author:

Tel.: +55 83 3247 1591. Cell phone: +55 83 8882 1351 and +55 83 9930 8302.

e-mail address: adrianalimanutri@yahoo.com.br (Adriana Lima).

Postal address:

Rua Golfo de Adem, 173. Edifício Solar de Intermare II, apartamento 302, Intermare,
 Cabedelo, Paraíba, Brasil, CEP: 58310-97.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of addition of the whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO_3) on the physico-chemical and sensory characteristics of the white pan bread. The experiments were carried out according to a 2^2 full factorial design. The pH, acidity, specific volume, moisture content, water activity and calcium content were evaluated. Subsequently, an acceptance test was applied, in order to assess the appearance of the loaf bread, the appearance of the slice, the color of the crust, the color of the crumb, aroma, flavor, moisture and softness of the crumb, besides the overall acceptance. The addition of CaCO_3 caused pH increase and reduced the acidity of the breads, while WP promoted a decrease in the moisture content and water activity. When these two ingredients were combined, occurred pH decrease. Both increased the calcium content, which has varied from 31.9 mg to 723.3 mg/100g bread. Concerning to the sensory analysis, all the formulations tested were accepted with scores varying from 6.72 to 8.07; however, the bread with addition of only calcium carbonate showed a lower acceptance, indicating that the addition of the two calcium sources was the best choice for the fortification of breads.

Keywords: fortification; calcium salt; dairy products; bakery products.

1. Introduction

In Brazil, researches conducted with individuals of different age groups showed a low dietary calcium intake, especially in the adult population, which had an average intake of 400 mg/day (Lerner et al, 2000; Pinheiro et al, 2009; Priore et al, 2009), equivalent to 40% of the daily need of this nutrient (IOM, 2011). This problem was also observed among populations of other countries like the United States and Spain (Mangano et al, 2011; Bruyere et al, 2009).

Insufficient calcium intake throughout the life primarily affects the bone health, contributing to the development of osteoporosis, generating significant economic impacts for the country.

This deficiency can be prevented by adequate diet, in terms of quantity and variety of food sources of calcium. However, this practice has been hampered due to the changes in dietary habits of the population, especially those living in urban areas. In Brazil, it has been observed a tendency in the increase of soda consumption and reduced intake of dairy products (Levy, Claro, Mondini, Sichieri, & Monteiro, 2012).

When the amount of calcium is not achieved through the diet, other alternatives are recommended such as food fortification and supplement use. In fortification, calcium is supplied in the food and not like a drug, as it occurs with supplements, which can cause adverse health effects such as nausea, diarrhea and constipation, among others (Fairweather-Tait and Teucher, 2002; Adu-Afarwuah et al ., 2008).

Some of the foods that can be fortified with calcium include soy-based beverages, sodas, wheat flour, breakfast cereals, pasta and bakery products, among others. In these, the breads are considered great vehicles for fortification purposes, due to the large consumption by individuals from different age groups and social classes, around the world (Bakke & Vickers, 2007).

Among the food sources of calcium used in the fortification of breads, stand out milk and dairy products, with the whey powder being recommended to replace the milk powder, by offering economic advantages (Mallik & Kulkarni, 2010). The use of whey is also important from the environmental point of view, because it is a byproduct of the cheese industry, which has high potential pollutant (Jooyandeh, Minhas, & Amarjit Kaur, 2009).

Considering that the maximum recommended concentration of whey powder (10 g/100 g flour) in the formulation of white pan bread will not contribute to significant amounts of calcium (Lima et al., 2009), it is necessary its association to another source to obtain a bread rich in this mineral. An alternative is the addition of calcium salts, being preferred the carbonate, for providing greater amount (40%) and better calcium bioavailability, besides presents little or no adverse effect on the quality of the final products (Ranhotra, Gelroth, & Leinen, 2000; Kajishima, Pumar, Germani, 2003).

In this study, the aim was to fortify white pan bread with calcium, by using as sources of this mineral whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO_3), as well as to assess the effects of this addition on the physico-chemical and sensory characteristics of the obtained products.

2. Material and methods

2.1. Material

The commercial wheat flour (13% of moisture; 10.5% of proteins [N x 5.7] and 358 s of Falling Number) from Bunge Alimentos S/A (Tatuí, SP, Brazil) was used in the elaboration of the white pan breads.

The sweet whey powder (proteins [N x 6.25]: 10.6%; moisture: 2% and ashes: 5.8%) and calcium carbonate (99.07% of purity) were purchased in the company's Alibra Ingredientes Ltd. (Campinas, SP, Brazil) and F.Trajano Ingredientes Ltd.

(Paulista, PE, Brazil), respectively. The other ingredients (sugar, instant active dried yeast, hydrogenated vegetable fat and salt) were obtained in local market.

2.2. Methods

2.2.1. Formulation of the breads

The basic formulation of the white pan bread was the following: wheat flour (100 g), water (52 g/100 g), salt (1.7 g/100 g), instant active dried yeast (1 g/100 g), sugar (4 g/100 g) and hydrogenated vegetable fat (3 g/100 g). Whey powder and calcium carbonate were added to the formulation according to full factorial 2^2 design. The amounts added varied according to the levels shown in **Table 1**, including four factorial points and three repetitions in the central point, with a total of seven essays.

2.2.2. Procedure for the elaboration of breads

The production of the white pan bread followed the straight dough process. The dried ingredients were homogenized in an automatic spiral dough mixer (Steel, ST-005, SP, Brazil), at slow speed for 5 minutes and at fast speed for 10 minutes with subsequently gradual addition of cooled water at approximately 10 °C, until the complete development of the gluten network (dough temperature 24 °C). Portions of 650 g of dough were left to rest, covered with plastic film, for 10 min, and then were manually molded. After this period, the individual portions were placed into forms (22 cm x 11 cm x 7 cm) previously greased with hydrogenated vegetable fat and allowed to ferment for 1 hour and 40 minutes at 35 ± 1 °C. The baking was conducted into gas oven (Turbo Progás, Caxias do Sul, RS, Brasil) at 200 °C during 20 min and then cooled (for approximately 3 h). The bread was sliced (around 1.5 cm thick), packaged in polyethylene bags and stored at room temperature (27 ± 2 °C) until analyses.

2.2.3. Physico-chemical analyses of the breads

2.2.3.1. pH and total titrable acidity (TTA)

Bread crumb samples (10g) were homogenized with 90 mL of distilled water and submitted to the pH and TTA analyses. The pH were determined in pH meter (Quimis, 0400, SP, Brazil) and the TTA values were expressed as the amount (mL) of 0.1 (mol/L) NaOH/10 g bread needed to achieve a final pH of 8.5 (Robert et al., 2006). The analyses were performed in triplicate.

2.2.3.2 Specific Volume

The specific volume of the breads was determined 24 hours after baking, by the method 10-11 of AACC (2000a). After weighing in a semi-analytical balance, the volume of the breads was measured by displacement of millet seeds, and the specific volume (cm^3/g) was calculated based on the ratio between volume (cm^3) and the dough of the breads (g).

2.2.3.3 Moisture content of the bread crumb

The samples were prepared according to the method 62-05 of AACC (2000b). The moisture content of the bread crumb was determined by the method 44-15 of AACC (2000c), in triplicate.

2.2.3.4 Water activity (a_w)

The water activity of the bread crumb was determined by the equipment AQUALAB (Series 3, Decagon, USA) (Labuza et al., 1976). The analyses were performed in triplicate.

2.2.3.5 Calcium content of the breads

The calcium content was quantified in spectrophotometer of flame atomic absorption (AAS 220 F, Varian Spectr, Ontario, Canada), according to the methods of AOAC (2006), in triplicate.

2.2.4 Sensory analysis

Samples with minimum content of 300 mg of calcium/100 g of bread were submitted to sensory analysis with 54 untrained panelists (55.6% of female gender and 44.4% of male gender), recruited among students, staff and professors of Federal University of Paraiba (UFPB). The acceptance test was conducted at the Laboratory of Sensory Analysis of UFPB, in individual booths (22 °C) with white light and the samples (a quarter of a slice of bread, including crust and crumb, produced 24 hours before the test) were presented monadically, on white disposable plates with three digits numbers randomly coded. Mineral water was provided for cleansing the palate between the samples.

During the analysis the panelists assessed the following attributes of the white pan breads: appearance of the loaf bread, appearance of the slice, color of crust, color of crumb, aroma, flavor, moisture and softness of the crumb, besides the overall acceptance. A hedonic scale of 9 points (9 “liked extremely” and 1 “disliked extremely”) was used to assess the samples (Stone & Sidel, 1985). The breads were considered accepted when they obtained averages ≥ 6 (“liked slightly”) (Rocha & Cardoso Santiago, 2009).

The acceptance test was performed after approval from the Ethics Committee of the UFPB (protocol nº 0176/2011) and written consent was given by all volunteers.

2.2.5 Statistical analysis

The assessment of the effect of addition of different concentrations of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO_3) on the physico-chemical characteristics of white pan breads was performed by using the statistical package STATISTICA 5.0[®] (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA, 2004). The results were evaluated through the Analysis of Variance (ANOVA), test F and R^2 (coefficient of determination) at the significance

level of $P < 0.05$. The mathematical models of first order were obtained from the equation (1).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_1 + \beta_2 \cdot x_2 + \beta_3 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (1)$$

In which Y corresponds to the dependent variables: pH, TTA, specific volume, moisture content, water activity and calcium content; x_1 and x_2 represent the independent variables: whey powder and calcium carbonate, respectively; β_0 corresponds to the trials averages, β_1 e β_2 to the coefficients of the main effects of the variables. For the test of sensory acceptance of the white pan bread, ANOVA and Tukey's test at the significance level of $P < 0.05$ were used.

3. Results and Discussion

The results regarding physico-chemical analyses of the white pan bread are presented in **Table 2**.

3.1 pH and Total Titratable Acidity (TTA)

The pH and TTA values of the breads have varied, respectively, from 5.20 to 7.53 and from 0.60 to 4.60 mL (0.1 mol/L) NaOH/10g bread (**Table 2**).

The breads added only with whey powder showed pH around 5.0, favorable condition for the development of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, the main microorganism used in the fermentation of breads (Serrano, Bernal, Simon, & Ariño, 2004; Plessas et al., 2011). The addition of this ingredient had no significant effect on pH and acidity of the breads.

The addition of calcium carbonate (2 g CaCO_3 /100 g of flour) increased the pH and the acidity of breads was decreased, resulting in the values 7.53 and 0.6 mL (0.1 mol/L) NaOH/10g bread, respectively (**Table 2**). Salinas, Zuleta, Ronayne, and Puppo (2012) also observed an increase in the pH of the dough after the addition of calcium carbonate. According to Lang, Dibble and Murphy (2009), this increase in the pH

negatively affects the sensory characteristics of the bread. When this ingredient was associated with whey powder, occurred a significant reduction in pH.

The mathematical models and the response surface obtained from experimental data for pH and TTA are presented in **Table 3**, **Figures 1a and 1b**, respectively. The statistically significant parameters ($P < 0.05$) are in bold face.

3.2 Specific Volume

The values for the specific volume of the breads ranged from 3.59 to 4.76 cm³/g (**Table 2**). No significant effect was observed ($P < 0.05$) when the sources of calcium were tested, within the studied levels (**Table 3**). These results agree with those obtained by Kajishima et al. (2003) and Erdogdu-Arnoczky, Czuchajowska and Pomeranz (1996), who found no significant effect ($P < 0.05$) in the specific volume of the bread due to the addition of calcium carbonate (2.7 g/100 g flour) and whey powder (4 g/100 g flour), respectively.

In different types of white pan breads were reported specific volume values ranging from 4.01 to 4.66 cm³/g (Bárcenas & Rosell, 2005; Visentín et al., 2009; Conto, Oliveira, Martin, Chang, & Steel, 2012). In this research, only the breads of the assays 3 and 4, both containing 2g calcium carbonate/100g flour, showed values below 4.0 cm³/g, a condition that can negatively affect the sensory acceptability of the breads.

3.3 Moisture content and water activity of the crumb of the breads

The moisture content of the breads ranged from 32 to 35 g/100g bread, while the water activity was around 0.95 (**Table 2**), no significant effect on these variables were observed ($P < 0.05$) due to the addition of calcium carbonate.

Concerning to the whey powder, reductions in the moisture and water activity were observed, which was not expected, considering that results of other researchers

suggest greater water retention in the bread due to the use of this ingredient (Erdogdu-Arnoczky et al., 1996; Kadharmestan, Baik and Czuchajowska, 1998).

Despite the importance that moisture and water activity have on the sensory quality of the bread, were not found in the literature reports about recommendations of maximum and minimum desirable limits. Recommendations for maximum levels of moisture were observed only in the legislation of some countries in order to control the development of fungi during the storage (Kulp, Ponte Jr., D'Appolonia, 1981; ANVISA, 2000).

In white pan breads, the values reported in the literature ranged from 31 to 38.2 g/100 g bread and from 0.95 to 0.96, respectively (Curic et al., 2008; Conto et al., 2012; Wang; Choi; Kerr, 2004). Mathematical models for these variables and the response surface for the water activity are shown in **Table 3** and **Figure 2**, respectively.

3.4 Calcium content of the breads

The calcium content of the breads ranged from 31.9 to 723.3 mg/100g bread. The formulation of the assay 4 presented sufficient quantity of calcium (**Table 2**) to supply up to 70% of the daily intake of this mineral for healthy adults (ANVISA, 2005).

The bread only added with whey powder showed a significant increase in the calcium content, although the increase obtained was not enough to allow the claim of "calcium source product" (at least 150 mg/100 g product). The addition of calcium carbonate also resulted in significant increase in the calcium content (> 300 mg/100 g bread), which allowed the claim of "calcium rich product" (ANVISA, 1998). However, the combination of the two ingredients tested had no significant effect on this variable (**Table 3**).

The mathematical model and a response surface for the calcium content, obtained from the experimental data are shown in **Table 3** and **Figure 3**, respectively.

The fortification of wheat flour and breads with calcium occurs in some countries. In the United States, it is recommended the addition of up to 133.3 mg of calcium/100 g bread (Newmark, Heaney, & Lachance, 2004) and in the United Kingdom, the wheat flour should contain 98 mg of calcium/100 g (Feskanich, Willett, Stampfer, & Colditz, 1997; Department of Health, 1998). In Brazil, this initiative was not established by the government agencies yet.

In other researches were reported the fortification of breads with calcium. Ziadeh et al. (2005) recommended the increase of calcium content up to 509 mg/100 g bread. Kajishima et al. (2003) have fortified french bread with 2.7 g of calcium carbonate/100 g flour, obtaining calcium content of 800 mg/100 g of the product. Ranhotra et al. (2000) have fortified wheat flour with whey powder and calcium carbonate up to the concentration of 924 mg calcium/100 g flour. Martin, Weaver, Heaney, Packard, & Smith (2002) added calcium carbonate in white breads, obtaining 600 mg calcium/100 g bread. In the last two studies it was also evaluated the bioavailability of the calcium sources tested, being observed that the calcium carbonate was as bioavailable as the calcium from the milk.

3.5 Sensory Analysis

The results of the acceptance test performed with three formulations of white pan breads fortified with calcium are described in **Table 4**.

All formulations tested were accepted, with average scores ranging from 6.72 was the 8.07 (**Table 4**).

The addition of calcium carbonate at a concentration of 2 g/100 g flour, damaged significantly the appearance of the loaf bread and the slice of it, which was expected, considering that these products had the lowest values of specific volume (E3: 3.59; E4: 3.68). Another characteristic affected was the crumb color, even when the

ingredient was associated with whey powder. Regarding the crust color, there was no difference among the samples ($P > 0.05$).

The combination of ingredients tested in this study resulted in improvement on acceptance of the breads considering the aroma, flavor, crumb moisture and softness attributes, besides overall acceptance. This fact contributed for the acceptance to the products containing maximum (2g/100g flour) and minimum (1g/100g flour) levels of calcium carbonate, a result that was not expected. According to Ziadeh et al. (2005), the addition of 2 g calcium carbonate/100 g bread can be noticed sensorially, while the decrease of this concentration to 1.25 g/100 g makes the product similar to a control bread, without the addition of this ingredient. Probably, the association of whey powder with the calcium carbonate contributed to this result, because it has been shown that the use of whey powder in breads improves the sensory characteristics such as flavor and aroma (Al-Eid, Al-Neshawy and Al-Shaikh Ahmad, 1999).

Therefore, the bread with better acceptance was the one obtained by the association of whey powder with calcium carbonate in the lower concentrations tested for both ingredients, followed by the bread containing these two ingredients, however, at higher concentrations. The bread only added of calcium carbonate had the lowest acceptance.

4. Conclusions

The fortification of white pan bread with calcium carbonate and whey powder, within the ranges studied, resulted in a calcium rich product, with levels above 300 mg calcium/100 g bread, supplying up to 70% of the daily intake for healthy adults. The mainly effects of the calcium carbonate addition on the physico-chemical characteristics of the breads were the increase in the pH, decrease in the TTA and rise in the calcium content. Concerning to the whey powder, the mainly effects were reduction in the

moisture and water activity, as well as increase in the calcium content. Except for the pH, the association of these two ingredients did not promote a significant effect on the variables evaluated. Regarding the sensory analysis, all the evaluated formulations were accepted, however, the formulation only added with calcium carbonate had the lowest acceptance when compared to those ones added with whey powder and calcium carbonate.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the scholarship provided. The Pró-Reitoria de Pós-Graduação (PRPG/UFPB) and Albuquerque, CL for help in translation and revision for the English language, respectively. The students: Silva, JP. and Fernandes, MA for collaborating in statistical analysis.

5. References

- AACC. (2000a). Approved methods of the AACC (8th ed). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. Method n°10-11.
- AACC. (2000b). Approved methods of the AACC (8th ed). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. Method n°62-05.
- AACC. (2000c). Approved methods of the AACC (8th ed). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. Method n°44-15.
- Adu-Afarwuah, S., Lartey, A., Brown, K. H., Zlotkin, S., Briend, A., & Dewey, K. G. (2008). Home fortification of complementary foods with micronutrient supplements is well accepted and has positive effects on infant iron status in Ghana. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87, 929- 938.

- Al-Eid, S. M., Al-Neshawy, A. A., & Al-Shaikh Ahmad, S. S. (1999). Influence of substituting water with ultrafiltered milk permeate on dough properties and baking quality of white pan bread. *Journal of Cereal Science*, 30, 79-82.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (1998). Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. Portaria nº 31/Diário Oficial da União. Disponível em: [//http: www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acessado em: 11.07.2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2000). Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de pão. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 90/Diário Oficial da União (D.O.U.). Available in: [//http: www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)/. Accessed in February 20, 2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2005). Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 269/Diário Oficial da União. Disponível em: [//http: www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acessado em: 11.07.2013.
- AOAC. (2006). Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists (18th ed.). Gaithersburg: AOAC International.
- Bárcenas, M. E., & Rosell, C. M. (2005). Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 19, 1037-1043.
- Bakke, A., & Vickers, Z. (2007). Consumer liking of refined and whole wheat breads. *Journal of Food Science*, 72, 473–480.
- Bruyere, O., De Cock, C., Mottet, C., Neuprez, A., Malaise, O., & Reginster, J. (2009). Low dietary calcium in European postmenopausal osteoporotic women. *Public Health Nutrition*, 12, 111–114.

- Collar, C., Bollaín, C., & Angioloni, A. (2005). Significance of microbial transglutaminase on the sensory, mechanical and crumb grain pattern of enzyme supplemented fresh pan breads. *Journal of Food Engineering*, 70, 479-488.
- Conto, L. C., Oliveira, R. S. P., Martin, L. G. P., Chang, Y. K., & Steel, C. J. (2012). Effects of the addition of microencapsulated omega-3 and rosemary extract on the technological and sensory quality of white pan bread. *LWT - Food Science and Technology*, 45, 103-109.
- Curic, D., Novotni, D., Skevin, D., Rosell, C. M., Collar, C., Le Bail, A., Colic-Baric, I., & Gabric, D. (2008). Design of a quality index for the objective evaluation of bread quality: application to wheat breads using selected bake off technology for bread making. *Food Research International*, 41, 714–719.
- Cozzolino, S. M. F. (2005). *Biodisponibilidade de nutrientes*. (edição??). Barueri: Manole, (pp.878).
- Department of Health. (1998). Report on Health and Social Subjects 49. Nutrition and bone health: with particular reference to calcium and vitamin D. London: The Stationery Office.
- Erdogdu-Arnoczky, N., Czuchajowska, Z., & Pomeranz, Y. (1996). Functionality of whey and casein in fermentation and in breadbaking by fixed and optimized procedures. *Cereal Chemistry*, 73, 309–316.
- Fairweather-Tait, S.J., Teucher, B. (2002). Iron and Calcium Bioavailability of Fortified Foods and Dietary Supplements. *Nutrition Reviews*, 60 (11), 360-367.
- Feskanich, D., Willett, W. C., Stampfer, M. J., & Colditz, G. A. (1997). Milk, dietary calcium, and bone fractures in women: a 12-year prospective study. *The American Journal of Public Health*, 87(6), 992–997.

- Fik, M., Surówka, K., Maciejaszek, I., Macura, M., & Michalczyk, M. (2012). Quality and shelf life of calcium-enriched wholemeal bread stored in a modified atmosphere. *Journal of Cereal Science*, 56, 418-424.
- Gerstner, G. (2002). Dairy products: The calcium challenge. *International Food Ingredients*, 3, 45–48.
- IOM (Institute of Medicine). (1997). *Dietary references intakes. Calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride*. Washington, D.C.: The National Academies Press.
- IOM (Institute of Medicine) (2011). *Dietary reference intakes for calcium and vitamin D*. Washington, DC: The National Academies Press.
- Jooyandeh, H., Minhas, K. S., & Amarjit Kaur. (2009). Sensory quality and chemical composition of wheat breads supplemented with fermented whey protein concentrate and whey permeate. *Journal of Food Science and Technology*, 46, 28-34.
- Kadharmestan, C., Baik, B.K., & Czuchajowska, Z. (1998). Whey Protein Concentrate Treated with Heat or High Hydrostatic Pressure in Wheat-Based Products. *Cereal Chemistry Journal*, 75 (5), 762.
- Kajishima, S., Pumar, M., & Germani, R. (2003). Efeito da adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23, 222-225.
- Kenny, S., Wehrle, K., Stanton, C., Arendt, E. K. (2000). Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: effects on dough rheology and bread quality. *European Food Research Technology*, 210, 391–396.

- Kulp, K., Ponte Jr., J.G., & D'Appolonia, B.L. (1981). Staling of white pan Bread: Fundamental causes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15, 1-48.
DOI:10.1080/10408398109527311
- Labuza, T. P., Acott, K., Tatini, S. R., Lee, R. Y., Flink, J., & McCall, W. (1976). Water activity determination: a collaborative study of different methods. *Journal of Food Science*, 41, 910-912.
- Lang, K.W., Dibble, J.W., Murphy, G.B. (2009). Calcium fortification of bread dough. U.S. Patent No. 7,595,075 B2, Delavau LLC, Philadelphia, PA: United States Patent and Trademark Office.
- Lerner, B. R.; Lei, D. L. M.; Chaves, S. P., & Freire, R. D.(2000). O cálcio consumido por adolescentes de escolas públicas de Osasco, São Paulo. *Brazilian Journal of Nutrition* , 13, 57-63.
- Levy, R. B., Claro, R. M., Mondini, L., Sichieri, R., & Monteiro, C. A. (2012). Regional and socioeconomic distribution of household food availability in Brazil, in 2008-2009. *Revista de Saúde Pública*, 46, 6-15.
- Lima, A. S., Maciel, J. F., Queiroga, R. C. R. E., Neto, E. A. L., Anjos, U. U., Farias, L. R. G. (2009). Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 68 (3), 366-372.
- Mahan, L. K. & Escott-Stump, S. (2010). *Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia*. (12th ed.). São Paulo: Roca, (pp.1157).
- Mallik, J., Kulkarni, S. (2010). Quality of rusks prepared by incorporation of concentrated whey. *Journal of Food Science and Technology* , 47 (3), 339-342.
- Mangano, K. M., Walsh, S.J., Insogna, K. L., Kenny, A. M., & Kerstetter, J. E. (2011). Calcium Intake in the United States from Dietary and Supplemental Sources across Adult Age Groups: New Estimates from the National Health and Nutrition

- Examination Survey 2003-2006. *Journal of the American Dietetic Association*, 111, 687-695.
- Martin, B. R., Weaver, C. M., Heaney, R. P., Packard, P. T., & Smith, D. L. (2002). Calcium absorption from three salts and CaSO₄-fortified bread in premenopausal women. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3874-3876.
- Newmark, H. L., Heaney, R. P., & Lachance, P. A. (2004). Should calcium and vitamin D be added to the current enrichment program for cereal-grain products? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 264–270.
- Pinheiro, M. M., Jaques, N. O., Genaro, O. S., Ciconelli, R. M., Ferraz, M. B., & Martini, L. A. (2009). Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Nutrition Journal*, 8, 1-8.
- Plessas, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Koutinas, A., Voidarou, C., Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2011). Application of novel starter cultures for sourdough bread production. *Anaerobe*, 17, 486-489.
- Priore, S.E., Franceschini, S.C.C., Bueno, M. B., Souza, P.M., & Fisberg, M. (2009). Consumo de cálcio e Vitamina D na infância: Resultados do NUTRI - BRASIL INFÂNCIA (Estudo Multicêntrico do Consumo Alimentar de Pré-Escolares). *DANONE: Saúde & Nutrição*, Danone Research Centre Daniel Carasso, Danone Health Affairs, France, Paris. Available in://www.danone.com.br/. Accessed on: February 10, 2013.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Leinen, S. D., & Schneller, F. E. (1997). Bioavailability of calcium in breads fortified with different calcium sources. *Cereal Chemistry*, 74, 361-363.

- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Leinen, S. D. (2000). Utilization of calcium in breads highly fortified with calcium as calcium carbonate or as dairy calcium. *Cereal Chemistry*, 77, 293-296.
- Robert, H., Gabriel, V., Lefebvre, D., Rabier, P., Vayssier, Y., & Fontagné-Faucher, C. (2006). Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 256-265.
- Rocha, L. S., & Cardoso Santiago, R. A. (2009). Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata vog.*) na elaboração de pães. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 820-825.
- Salinas, M. V., Zuleta, A., Ronayne, P., & Puppo, M. C. (2012). Wheat flour enriched with calcium and inulin: a study of hydration and rheological properties of dough. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 3129-3141. doi: 10.1007/s11947-011-0691-7
- Serrano, R., Bernal, D., Simón, E., & Ariño, J. (2004). Copper and iron are the limiting factors for growth of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in an alkaline environment. *The Journal of Biological Chemistry*, 279, 19698-19704. doi:10.1074/jbc.M313746200
- Singh, G., Arora, S., Sharma, G. S., Sindhu, J. S., Kansal, V. K., & Sangwan, R. B. (2006). Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 625-631.
- Stone, H., & Sidel, J. L. (1985). Descriptive analysis. In H. Stone, & J. L. Sidel (Eds.), *Sensory evaluation practices* (pp. 202-226). London: Academic Press.
- Statsoft (2004). Statistica for windows, Tulsa, USA.
- Visentín, A. N., Drago, S. R., Osella, C. A., Torre, M. A., Sánchez, H. D., & González, R. J. (2009). Efecto de la adición de harina de soja y concentrado proteico de suero

- de queso sobre la calidad del pan y la dializabilidad de minerales. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 59 (3), 325-331.
- Weaver, M. C. (1998). Calcium in food fortification strategies. *International Dairy Journal*, 8, 443-449.
- Wahlqvist, M. L. (2008). National food fortification: A dialogue with reference to Asia: Policy in evolution. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17, 24-29.
- Wang, X., Choi, S.G., Kerr, W. (2004). Water dynamics in white bread and starch gels as affected by water and gluten content. *LWT-Food Science and Technology*, 37 (3), 377-384.
- Ziadeh, G., Shadarevian, S., Malek, A., Khalil, J., Haddad, T., Haddad, J., & Toufeili, I. (2005). Determination of sensory thresholds of selected calcium salts and formulation of calcium-fortified pocket-type Flat bread. *Journal of Food Science: Sensory and Nutritive Qualities of Food*, 70 (8), 548-552.

Table 1. Variables and levels of the full factorial 2² design.

Real variables (g/100g)	Coded variables	Levels of the coded variables		
		-1	0	1
WP ^a	x1	0	5	10
CaCO ₃	x2	0	1	2

^aWP= whey powder; CaCO₃= calcium carbonate, in g/100g flour.

Table 2. Effect of addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO₃) on the physico-chemical characteristics (pH, TTA, specific volume, moisture, water activity and calcium content) of white pan breads.

Assay	Coded Variables ^a		Real Variables ^b		pH ^c	TTA ^c	Specific volume (cm ³ /g)	Moisture ^c (g/100 g)	Water activity ^c	Calcium ^c (mg/100 g)
	x1	x2	WP	CaCO ₃						
1	-1	-1	0	0	5.20±0.01	4.2±0.06	4.26	34.98±0.07	0.95±0.00	31.9±0.01
2	+1	-1	10	0	5.48±0.01	4.6±0.06	4.40	32.06±0.22	0.93±0.00	95.8±0.16
3	-1	+1	0	2	7.53±0.01	0.6±0.12	3.59	34.01±0.03	0.95±0.00	653.8±0.91
4	+1	+1	10	2	7.27±0.01	1.3±0.00	3.68	32.11±0.05	0.94±0.00	723.3±0.85
5	0	0	5	1	6.91±0.00	1.9±0.00	4.34	34.71±0.00	0.95±0.00	345.6±0.00
6	0	0	5	1	6.93±0.00	1.5±0.00	4.72	35.1±0.00	0.95±0.00	341.5±0.00
7	0	0	5	1	6.94±0.00	1.5±0.00	4.76	34.72±0.00	0.95±0.00	340.4±0.00

^aFull factorial 2ⁿ design and triplicate in the central point (0), in which n = number of independent variables, x1 = whey powder and x2 = calcium carbonate. ^bWhey powder (WP); Calcium carbonate (CaCO₃). ^cml 0.1 (mol/l) NaOH/10 g bread.

The results represent the averages of triplicate of determinations ± standard deviation.

Table 3. Coded mathematical models for the evaluated responses.

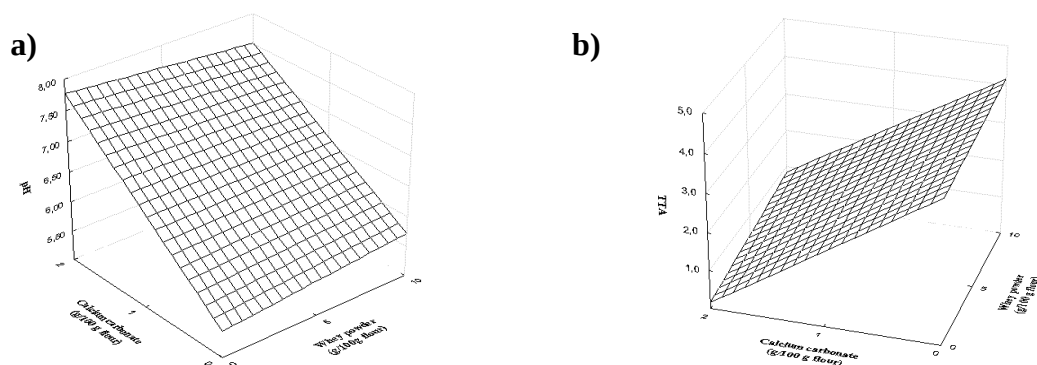
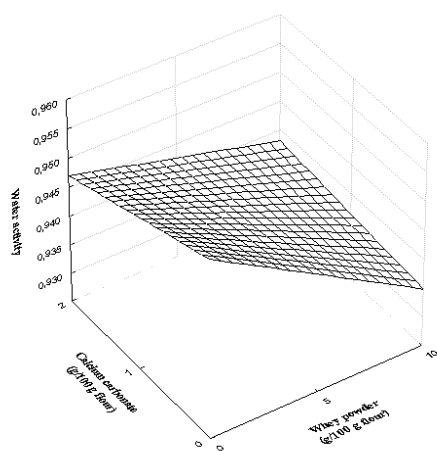
Parameters	Coded mathematical models ^a
pH =	(6.61 ± 0.006) + (0.005WP ± 0.008) + (1.03 CaCO₃ ± 0.008) – (0.135 WP.CaCO₃ ± 0.008) (R ² = 0.89; Fcalc/Ftab = 2.34; P ≤ 0.05)
TTA (mL of 0.1 mol/L NaOH) =	(2.23 ± 0.09) + (0.28WP ± 0.12) – (1.73CaCO₃ ± 0.12) + (0.08 WP.CaCO₃ ± 0.12) (R ² = 0.86; Fcalc/Ftab = 1.79; P ≤ 0.05)
Specific volume =	(4.25 ± 0.09) + (0.06WP ± 0.12) – (0.35CaCO₃ ± 0.12) – (0.01 WP.CaCO₃ ± 0.12) (R ² = 0.39; Fcalc/Ftab = 0.10; P ≤ 0.05)
Moisture (%) =	(33.96 ± 0.08) – (1.21WP ± 0.11) – (0.23 CaCO₃ ± 0.11) + (0.26 WP.CaCO₃ ± 0.11) (R ² = 0.60; Fcalc/Ftab = 0.43; P ≤ 0.05)
Water activity =	(0.94 ± 0.0006) – (0.0075WP ± 0.0008) – (0.0015CaCO₃ ± 0.0008) + (0.003WP.CaCO₃ ± 0.0008) (R ² = 0.86; Fcalc/Ftab = 1.9; P ≤ 0.05)
Calcium (mg/100 g bread) =	(361.76 ± 1.04) + (33.34WP ± 1.37) + (312.4CaCO₃ ± 1.37) + (1.39WP.CaCO₃ ± 1.37) (R ² = 0.99; Fcalc/Ftab = 57.7; P ≤ 0.05)

^aWP = coded value (-1 to +1) of the amounts of whey powder; CaCO₃ = coded value (-1 to +1) of the amounts of calcium carbonate; R² = determination coefficient; Fcalc = calculated F; Ftab = tabled F.

Table 4. Average scores of the sensory acceptance test of white pan breads.

Attributes	E3 ^a	E4	E5
Appearance of the loaf bread	7.15 ^b ±1.10	7.19 ^b ±1.30	7.76 ^a ±0.85
Appearance of the slice	7.11 ^b ±1.14	7.15 ^b ±1.23	7.81 ^a ±0.93
Color of the crust	7.43 ^a ±0.84	7.48 ^a ±1.33	7.61 ^a ±1.05
Color of the crumb	7.26 ^b ±1.01	7.46 ^b ±1.18	8.07 ^a ±0.97
Aroma	6.89 ^b ±1.21	7.52 ^a ±1.26	7.74 ^a ±1.03
Flavor	6.83 ^b ±1.13	7.63 ^a ±1.34	7.46 ^a ±1.16
Moisture of the crumb	6.72 ^b ±1.04	7.57 ^a ±1.37	7.19 ^a ±1.30
Softness of the crumb	6.76 ^b ±1.21	7.54 ^a ±1.53	7.28 ^a ±1.28
Overall acceptance	6.94 ^b ±0.98	7.59 ^a ±1.00	7.54 ^a ±0.95

Average ± standard deviation of the analyses performed with 54 untrained panelists. ^aE3, E4 and E5= experiments 3(2% CaCO₃), 4 (10 % WP + 2 % CaCO₃) and 5 (5 % WP + 1 % CaCO₃). Averages followed by identical letters do not differ statistically (P<0.05) by Tukey's Test.

**Fig. 1.** Response surfaces for pH (a) and TTA (b) according to the addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO₃) to the breads.**Fig. 2.** Response surface for water activity according to the addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO₃) to the breads.

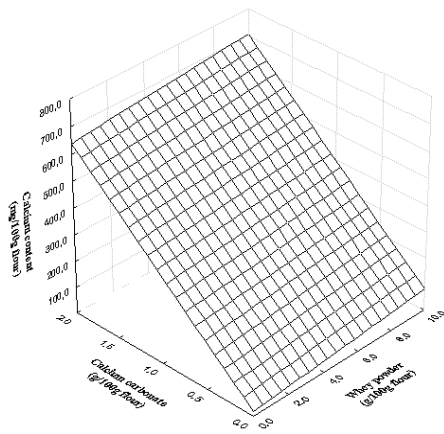


Fig. 3. Response surface for the calcium content according to the addition of whey powder (WP) and calcium carbonate (CaCO_3) to the breads.

4.2 ARTIGO 2

**INGESTÃO DIETÉTICA DE CÁLCIO EM MULHERES ADULTAS E SUA
RELAÇÃO COM A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA**

**Dietary intake of calcium in adult women and their relationship with bone mineral
density**

**Dietary intake of calcium in adult women and their relationship with bone mineral
density**

Título resumido: **Ingestão dietética de cálcio e massa óssea em mulheres adultas**

Adriana de Sousa Lima^{1*}; Janeeyre Ferreira Maciel¹; Maria da Conceição Rodrigues
Gonçalves², Maria José de Carvalho Costa², Débora Silva Cavalcanti³, Gabrielle
Cristine Melo Lino⁴

^{1*}Universidade Federal da Paraíba. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia
de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

* Endereço para correspondência: Rua Golfo de Adem, 173. Edifício Solar do
Intermares II, apto 302, Bairro Intermars, Cabedelo, Paraíba, Brasil. CEP: 58310000.
Tel.: 83 3247 1591/83 8882 1351/ 83 9930 8302
e-mail: adrianalimanutri@yahoo.com.br

¹Universidade Federal da Paraíba. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia
de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
Endereço: Cidade Universitária, Castelo Branco, Campus I, João Pessoa, Paraíba,
Brasil. CEP: 58051-900. Tel.: 83 3216 7384/ 83 3216 6375
e-mail: janeeyre@ct.ufpb

²Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de
Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição.
Endereço: Cidade Universitária, Castelo Branco, Campus I, João Pessoa, Paraíba,
Brasil. CEP: 58051-900. Tel.: 83 3216-7200/ 7499
e-mail: raulceica@ig.com.br; mjc.costa@terra.com.br

³Complexo de Pediatria Arlinda Marques. Secretaria de Saúde do Estado da Paraíba.
Endereço: Avenida Alberto de Brito, Jaguaribe, João Pessoa, Paraíba, Brasil. CEP:
58015-320. Tel.: 83 3218 5757/ Ramal: 3205, Fax: 83 3218 5800
e-mail: deborasec@gmail.com

⁴Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Nutrição. Endereço: Cidade Universitária, Castelo Branco, Campus I, João Pessoa, Paraíba, Brasil. CEP: 58051-900. Tel.: 83 3216-7200. E-mail: gab.lino@hotmail.com

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar a ingestão dietética de cálcio em mulheres adultas (n=50) com idade ≥ 40 anos e verificar a sua relação com a Densidade Mineral Óssea (DMO). A ingestão habitual de cálcio e o consumo de alimentos fontes de cálcio foram avaliados por meio de três recordatórios de 24 horas e questionário de frequência alimentar, respectivamente. A DMO da coluna e do fêmur foi determinada por absorciometria de energia dupla de raios X. O método da adequação aparente avaliou as necessidades individuais de ingestão de cálcio e o teste qui-quadrado verificou as associações de DMO e idade e DMO e ingestão de cálcio. A ingestão dietética de cálcio foi, em média, $854,89 \pm 697,30$ mg/dia, abaixo do recomendado para o grupo >50 anos de idade e o percentual de adequação aparente foi $<50\%$, dentro das faixas de idade e renda estudados. A presença de osteopenia/osteoporose foi encontrada em 60 % das participantes, sendo associada com a idade. Os resultados dessa pesquisa demonstraram a importância da adoção de uma dieta balanceada em cálcio ao longo da vida para uma boa saúde óssea.

Palavras-chave: consumo de cálcio; mulheres climatéricas; saúde óssea

Abstract

The aim of the study was to evaluate dietary calcium intake in adult women (n = 50) aged ≥ 40 years and verify their relationship with the Bone Mineral Density (BMD). The habitual calcium intake and the consumption of food sources of calcium were assessed through three 24-hour recalls and food frequency questionnaire, respectively. The BMD of the spine and femur was determined by dual energy absorptiometry X-ray. The method of the apparent adequacy evaluated individual needs of calcium intake and the chi-square test verified associations between BMD and age, BMD and calcium intake. The average dietary calcium intake was 854.89 ± 697.30 mg/day, lower than recommended for the group >50 years of age and the percentage of apparent adequacy was $< 50\%$, within of the age group and income studied. The presence of osteopenia/osteoporosis was found in 60% of participants, and is associated with age.

The results of this study demonstrated the importance of maintaining a balanced diet in calcium throughout life for good bone health.

Keywords: calcium intake; menopausal women; bone health.

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar la ingesta de calcio en la dieta en mujeres adultas (n=50) de edad ≥ 40 años y comprobar su relación con la densidad mineral ósea (DMO). La ingesta habitual y el consumo de alimentos fuentes de calcio fueron evaluadas por tres recordatorios y un cuestionario de frecuencia alimentaria, respectivamente. La DMO de la spina y fémur se determinó mediante la absorciometría dual de rayos X de energía. El método de la adecuación aparente evaluó las necesidades individuales de la ingesta de calcio y el test de chi-cuadrado encontró las asociaciones entre la DMO y la edad y el consumo de calcio. La ingesta media de calcio en la dieta fue $854,89 \pm 697,30$ mg/día, inferior a la recomendada por el grupo de >50 años de edad y el porcentaje de adecuación aparente fue $<50\%$, dentro de cada edad y los ingresos estudiados. La presencia de osteopenia/osteoporosis se encontró en 60% de los participantes, y se asoció con la edad. Los resultados demuestran la importancia de la adopción de una dieta balanceada en calcio durante toda la vida para la buena salud ósea.

Palabras clave: la ingesta de calcio, las mujeres menopáusicas, la salud ósea

Introdução

No Brasil, estudos sobre consumo alimentar revelaram que a ingestão dietética de cálcio em mulheres adultas variou de 400 mg a 625 mg/dia, valores equivalentes a 40 % e 62 % do recomendado, respectivamente^{1,2,3}. Essa inadequação também foi verificada em outros países como Estados Unidos e Espanha, sendo observadas médias de ingestão de cálcio de 670 mg e 916 mg/dia, respectivamente, em mulheres adultas^{4,5}.

A deficiência de cálcio ao longo da vida afeta a saúde óssea, contribuindo para o desenvolvimento da osteoporose, doença crônica multifatorial, que tem gerado impactos econômicos significativos para o país.

A ingestão adequada de cálcio deve ser alcançada, preferencialmente, por meio de uma dieta balanceada, em termos de quantidade e variedade de alimentos fontes de cálcio. No entanto, essa prática tem sido dificultada devido às mudanças nos hábitos alimentares das populações, especialmente naquelas que residem em áreas urbanas. No

Brasil, tem se observado uma tendência no aumento do consumo de refrigerantes e redução na ingestão de leite e derivados⁶.

A avaliação dietética, seja de forma qualitativa ou quantitativa, é fundamental para se verificar a relação de causalidade entre dieta e doença⁷. Portanto, o conhecimento da dieta habitual em relação ao cálcio é essencial para se estabelecer medidas que visem à prevenção da osteoporose.

Quando os dados dietéticos revelam baixa ingestão de cálcio, mudanças no comportamento alimentar e estilo de vida são recomendados, tais como reeducação alimentar, prática de atividade física, combate ao fumo, exposição ao sol em horários adequados, entre outros. Por outro lado, quando se verifica adequação dietética de cálcio, não necessariamente implicará em boa saúde óssea, pois essa condição depende do consumo desse nutriente ao longo de toda a vida. Acredita-se que o pico de massa óssea, nas mulheres, se estabeleça por volta dos 40 anos de idade. Após esse período, é verificada uma perda de aproximadamente 0,3% a 0,5% em sua massa de osso cortical por ano, e após a menopausa, este ritmo acelera para 2% a 3% ao ano⁸.

Desse modo, faz-se necessário o monitoramento periódico da saúde óssea, especialmente entre as mulheres com idade avançada e na menopausa, sendo a densitometria óssea o exame mais recomendado para o diagnóstico da osteoporose nesse grupo populacional.

Nesse trabalho, o objetivo foi avaliar a ingestão dietética de cálcio em um grupo de mulheres adultas com idade de 40 anos ou mais, e verificar a sua relação com a Densidade Mineral Óssea (DMO).

Materiais e Métodos

Desenho do estudo e Sujeitos da Pesquisa

Este estudo foi do tipo transversal com amostra de conveniência, sendo incluídas mulheres (n=50) com idade igual ou superior a 40 anos, selecionadas a partir de um grupo de praticantes de atividade física, coordenado por profissionais de educação física, em uma praça pública no município de João Pessoa, PB, Brasil. O recrutamento ocorreu no período de maio de 2011 a maio de 2012, sendo aplicado um questionário com levantamento de dados pessoais (nome completo, endereço, telefone para contato, data de nascimento), socioeconômicos (atividade profissional, escolaridade, renda familiar), clínicos (distúrbio na tireóide, história familiar e presença de doenças ósseas),

de estilo de vida (fuma, ingestão de bebida alcoólica, prática de atividade física), entre outros.

Os critérios de exclusão adotados foram: uso de suplementos de cálcio e/ou vitamina D, problemas de calcificação óssea, doença renal, distúrbios na tireóide, uso de medicamentos dos grupos tiazidas, esteróides ou outra medicação que pudesse afetar a massa óssea.

Avaliação Dietética

A avaliação dietética foi realizada por meio de Recordatório Alimentar de 24 horas (R24h) e Questionário de Frequência Alimentar (QFA), previamente validado^{9,10}, conforme descrito por Luna et al.¹¹. Os dados obtidos nesses inquéritos foram analisados com o auxílio dos *softwares* *Avanutri online*[®] versão 2.0 (CriaPix, Rio de Janeiro, Brasil) e *Dietsys*¹² versão 3.0.

A dieta habitual das mulheres foi avaliada aplicando-se três recordatórios alimentares (R24h) em dias não consecutivos, incluindo-se um dia do final de semana¹³. Os inquéritos foram preenchidos mediante entrevistas pessoais, sendo solicitada às participantes informações detalhadas de todos os alimentos e bebidas consumidos nas 24 horas anteriores à entrevista, bem como a forma de preparo, a marca comercial dos alimentos industrializados, o horário e o local das refeições e o tamanho das porções consumidas. Durante as entrevistas, foi apresentado um álbum de fotos com modelos de porções de alimentos e utensílios¹⁴.

A ingestão de energia, carboidratos, proteínas, lipídios, vitamina D, fósforo, magnésio, cálcio e cafeína foram obtidos a partir da média dos três recordatórios alimentares aplicados. Para as análises das necessidades nutricionais dos macronutrientes e micronutrientes foram adotadas as AMDR's (*Acceptable Macronutrient Distribution Ranges*) e as EAR's (*Estimated Average Requirements*) das DRI's (*Dietary References Intakes*), respectivamente^{15,3}.

As porções diárias dos alimentos pertencentes ao grupo de leite e derivados (leite integral, leite desnatado, iogurte e queijo), peixes e vegetais (couve e espinafre) foram obtidas a partir do QFA. Uma porção do grupo de leite e derivados correspondia a 200 ml de leite integral ou leite desnatado, 200 ml de iogurte ou 40 g de queijo; para carnes e peixes, 80g de carne vermelha e 100g de frango ou peixe e para vegetais, 80g de couve ou espinafre cozido^{16,17}.

Avaliação da Densidade Mineral Óssea (DMO)

As medidas de DMO da coluna lombar (L2-L4) e do colo femoral foram determinadas por absorciometria de energia dupla de raios X (HOLOGIC QDR 2000, Discovery Ci, Hologic Inc., Bedford, MA, USA), sendo os resultados, expressos em g/cm^2 , classificados em normal, osteopenia ou osteoporose com base nos valores relativos ao T-score (adulto jovem 20 a 45 anos)¹⁸.

Análise Estatística

Os resultados referentes às características socioeconômicas da população estudada foram apresentados na forma de tabelas, usando a estatística descritiva (média, desvio-padrão, frequências relativa e absoluta).

O método da adequação aparente¹⁵ foi utilizado para avaliar se a ingestão de dietética de cálcio atingiu as necessidades das mulheres estudadas. Trata-se de uma abordagem estatística que compara a diferença entre a ingestão habitual e a EAR, considerando a variabilidade da necessidade e a variação intrapessoal referente aos dias de consumo analisados. O resultado é dado por meio de um escore Z, que indica a probabilidade de adequação da dieta. Para estimar a variabilidade da necessidade de cálcio, considerou-se um coeficiente de variação (CV) de 10%. A área do valor do escore Z foi encontrada na tabela da distribuição normal, indicando a probabilidade da ingestão de cálcio estar adequada ao nível de $p \geq 0,70$.

Para verificar a associação entre as variáveis nominais foi realizado o teste Qui-quadrado (χ^2). No estudo de correlação entre a ingestão de cálcio e a DMO das mulheres utilizou-se o coeficiente de correlação linear de Pearson. Esses testes foram avaliados com auxílio do *software* SPSS, versão 17.0 para *Windows* (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). O nível de significância α adotado foi de 5%.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, protocolo nº 0176/2011 e todas as participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da coleta dos dados.

Resultados

Características gerais da população

O grupo estudado foi constituído por 50 mulheres adultas, com idades, mínima e máxima, de 40 e 83 anos, respectivamente, e média de $55,16 \pm 9,74$ anos. Desse grupo, com renda familiar média de dois salários mínimos, 44% (n=22) concluiu o ensino superior (Tabela 1).

Com relação às características reprodutivas, a média de idade da menarca e da menopausa foram $13,32 \pm 1,67$ anos e $50,21 \pm 2,93$ anos, respectivamente. Das 50 participantes, 64% (n=32) estavam na menopausa, há um tempo médio de $11,52 \pm 8,37$ anos. Em 50% (n=25) do grupo foi verificado histórico familiar para doenças ósseas tais como osteopenia e osteoporose.

Quanto ao estilo de vida, nenhuma voluntária revelou ser fumante, entretanto 44% (n=22) afirmaram ingerir bebida alcoólica apenas uma vez por semana. Todas as mulheres praticavam a caminhada, no mínimo quatro vezes por semana, e algumas complementavam essa atividade com musculação e ginástica.

Avaliação dietética

A ingestão média de calorias do grupo estudado foi $2668,64 \pm 1388,04$ Kcal/dia. Com relação aos carboidratos, lipídios e proteínas foram observados valores médios de ingestão diária de $374,98 \pm 195,81$ g/dia, $80,74 \pm 47,1$ g/dia e $110,52 \pm 58,9$ g/dia, representando 56,6 %, 26,7 % e 16,7 % do total energético diário, respectivamente. Esses resultados estão situados dentro das faixas recomendadas pela AMDR¹⁵, entretanto 26% (n=13) do grupo avaliado apresentaram algum tipo de inadequação, predominando o baixo consumo de lipídios.

Com relação à vitamina D e magnésio, os valores de ingestão observados ($2,21 \pm 3,0$ µg/dia e $230,64 \pm 149,72$ mg/dia, respectivamente) estavam abaixo do recomendado^{3,15}, enquanto para o fósforo ($1097,14 \pm 782,64$ mg/dia), ultrapassou a recomendação¹⁵ em 89,16 %.

Para o cálcio, a média de ingestão dietética encontrada no grupo foi $854,89 \pm 697,30$ mg/dia, estando abaixo do recomendado³ para o grupo com idade maior que 50 anos.

Na Tabela 2, estão descritas as médias de ingestão dietética de cálcio e o percentual de adequação aparente dos grupos divididos por estágio de vida e renda familiar. As maiores médias de ingestão de cálcio foram observadas para os grupos com mais de 60 anos e renda >3 até 5 salários-mínimos ($992,59 \pm 986,81$ mg/dia e $926,60 \pm 1017,99$ mg/dia, respectivamente). O percentual de adequação aparente para a ingestão de cálcio foi inferior a 50% em todos os grupos avaliados (Tabela 2).

A relação cálcio/proteínas foi 7,7/1 e a razão cálcio/fósforo foi 1:1,3. O consumo diário de cafeína foi, em média, $124,34 \pm 82,16$ mg/dia.

Consumo habitual de alimentos ricos em cálcio

A população estudada consumiu, em média, 1,35 porções de leite e derivados, valor abaixo do recomendado pelo *Guia Alimentar para a População Brasileira*¹⁶ (Tabela 3). Nesse grupo, os alimentos com a maior frequência de consumo (7 vezes por semana) foram leite e queijos, com destaque para o leite integral e o queijo tipo coalho (Tabela 4).

Para os grupos de peixes e vegetais (Tabela 3) foi verificado consumo médio por porção de acordo com a recomendação^{16,17}, porém com frequência de consumo rara (menos de uma vez por semana) para peixes, couve e espinafre, importantes fontes de cálcio.

Correlação entre a DMO com a idade e a ingestão dietética de cálcio

Os resultados da DMO revelaram que 60% (n=30) do grupo avaliado apresentaram diagnóstico de osteopenia/osteoporose (Tabela 5), sendo observada associação significativa ($\chi^2 = 12,10$; $p=0,001$) com a idade das participantes. No entanto, quando esses resultados foram relacionados com a ingestão dietética de cálcio não foi verificada associação significativa ($p=0,016$; $r^2 = 0,016$).

Discussão

A ingestão inadequada de cálcio está entre os principais fatores de risco modificáveis para a prevenção da osteoporose. Em 2011, o *Institute of Medicine*³ revisou as recomendações para cálcio e vitamina D, sendo considerados novos valores de referência para esses nutrientes. Com relação ao cálcio foi estabelecida a EAR, de acordo com o gênero e estágio de vida da população. Considerando esses novos valores e o estágio de vida das participantes do estudo verificou-se que a média de ingestão dietética de cálcio encontrada não foi suficiente para atingir a recomendação para o grupo etário com mais de 50 anos de idade.

Evidências levam a concluir que não é possível determinar com acurácia o verdadeiro consumo habitual e nem a verdadeira necessidade do nutriente em um determinado indivíduo⁷. No entanto, é possível avaliar aproximadamente, se a ingestão desse indivíduo atinge suas necessidades, por meio de métodos de avaliação, como a adequação aparente. No presente estudo, as mulheres com idade entre 40 e 50 anos apresentaram o maior percentual de adequação aparente, indicando que o percentual de inadequação aumentava com o avançar da idade, dentro dos grupos etários avaliados.

Pinheiro et al.² também revelaram baixa ingestão dietética de cálcio em 1651 mulheres com mais de 40 anos de idade. Esse problema também foi observado em outros países como Estados Unidos⁴, Espanha⁵ e Japão¹⁹.

A deficiência de cálcio também afeta outros grupos etários como crianças e adolescentes^{20,21}, fato preocupante, tendo em vista que a boa saúde óssea em adultos²², depende da ingestão adequada de cálcio ao longo desses estágios de vida.

O Brasil, assim como outros países, tem sofrido mudanças em relação aos hábitos alimentares da população, resultando em reduções significativas na ingestão dietética de cálcio^{4,6}. A substituição do leite por refrigerantes, a omissão do café da manhã e realização de refeições fora de casa são alguns dos fatores que tem contribuído para essa baixa ingestão na população⁶. A dieta da população estudada continha alimentos fontes de cálcio, no entanto, em termos de porções diárias de alimentos pertencentes ao grupo de leite e derivados esteve abaixo do recomendado^{16,17}.

Quanto às razões cálcio:fósforo e cálcio:proteínas foram observadas relações de 1:1,3 e 7,7:1, na literatura pesquisada foram encontradas as recomendações de 1,3:1²³ e 20:1²⁴, respectivamente. Pereira et al.²⁵ verificaram razão de cálcio:fósforo de aproximadamente 1:1,72 e Esteves; Rodrigues e Paulino²⁶ encontraram razão cálcio:proteínas de 6,4:1.

Além da deficiência de cálcio, também foi verificada inadequação no consumo de vitamina D, o segundo micronutriente de maior relevância para a saúde óssea. A deficiência de vitamina D tem sido notificada no mundo inteiro^{27,28} e em mais de 50% das mulheres na pós-menopausa, especialmente naquelas com osteoporose²⁹.

Outro fator que tem sido relacionado com o aumento no risco de desenvolvimento da osteoporose é o consumo de cafeína, pois em excesso promove o aumento na calciúria e diminuição na eficiência da absorção intestinal de cálcio resultando em redução significativa da massa óssea³⁰. Estudo conduzido por Harter et al.³¹ com mulheres na pós-menopausa residentes no sul do Brasil, encontraram uma mediana de consumo de cafeína de 108 mg/dia, inferior ao verificado na população estudada (124,34 mg/dia). Para a prevenção da osteoporose tem sido recomendada, especialmente para a população idosa, o consumo de três xícaras de café/dia (equivalente a 300 mg/dia de cafeína), considerando-se uma dieta equilibrada em cálcio³².

A idade está diretamente relacionada com a perda de massa óssea, particularmente nas mulheres. Acredita-se que entre 40 anos e a menopausa essa perda

seja de aproximadamente 0,3% a 0,5% da massa de osso cortical por ano e após a menopausa, este ritmo acelere para 2% a 3% ao ano⁸. No grupo estudado, a idade foi o único fator que apresentou associação significativa com a DMO, sendo verificada elevada incidência de osteopenia/osteoporose (60%), condição que se agravou com o avanço da idade, o que era esperado tendo em vista alguns relatos sobre perda de massa óssea nesta faixa etária^{2,33}

Algumas das alternativas propostas para elevar o consumo de cálcio incluem o uso de suplementos e a fortificação de alimentos.

O uso de suplementos por mulheres na pós-menopausa é uma prática bastante difundida entre os profissionais da área da saúde como método de prevenção da osteoporose e seus efeitos têm sido investigados por diversos pesquisadores^{34,35}. Esses estudos confirmaram a existência de efeitos benéficos da suplementação com cálcio na prevenção da perda óssea nessa fase da vida, no entanto esse efeito é mais significativo se a ingestão habitual de cálcio for alta (entre 500 e 1200 mg/dia) e se for associada a suplementação com vitamina D.

A fortificação de alimentos é uma estratégia importante para suprir as necessidades de cálcio, especialmente quando a dieta é insuficiente em alimentos ricos nesse mineral. Na literatura são verificados diversos produtos alimentícios fortificados com cálcio^{36,37}, tendo ótima biodisponibilidade e baixo custo³⁸, destacando-se os produtos de panificação, especialmente os pães^{39,40}.

Conclusão

Os resultados dessa pesquisa revelaram baixa ingestão dietética de cálcio, especialmente para o grupo com idade > 50 anos, e alta prevalência de osteopenia/osteoporose, demonstrando a importância da adoção de uma dieta balanceada em cálcio, tanto em variedade como em quantidade.

Ações de incentivo ao consumo de alimentos fontes de cálcio e vitamina D em todos os grupos populacionais são de grande importância para a prevenção da osteoporose, pois os melhores resultados de saúde óssea são vistos com a manutenção de uma dieta adequada em cálcio ao longo de toda a vida. Associado a isso, destaca-se o fato de que a manutenção de um estilo de vida adequado traz benefícios não apenas para os ossos mais também para a saúde geral dos indivíduos.

As mulheres com mais de 40 anos de idade são um grupo bastante vulnerável à perda de massa óssea, devido a fatores relacionados ao desequilíbrio hormonal

resultantes da menopausa e a idade. Portanto, esses fatos devem ser considerados durante o tratamento da osteoporose.

Colaboradores

A.S. Lima e J.F. Maciel foram responsáveis pelo desenho do projeto, análise e interpretação dos dados, levantamento bibliográfico e redação do artigo. M. C.R. Gonçalves e M.J.C. Costa contribuíram com a revisão crítica e redação do artigo discussão dos resultados. D.S.Cavalcanti colaborou com a análise estatística e interpretação dos dados e G. C. M. Lino com a coleta e processamento dos dados.

Agradecimentos

Agradecemos a todas as mulheres que participaram deste estudo e a todos os alunos que ajudaram na coleta (M. B. Falcão, C. C. Q. Dias, J. A. Neves) e análise dos dados (A. F. Barros e R. P. A., Lima). Os autores também agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) pelo auxílio financeiro e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

Referências

1. Montilla RNG, Marucci MFN, Aldrighi JM. Avaliação do estado nutricional e do consumo alimentar de mulheres no climatério. *Rev Assoc Med Bras.* 2003; 49 (1): 91-5.
2. Pinheiro MM, Schuch NJ, Genaro OS, Ciconelli RM, Ferraz MB, Martini LA. Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women - the Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Nutr J.* 2009; **8**: 6.
3. National Research Council. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press. 2011.
4. Mangano KM, Walsh SJ, Insogna KL, Kenny AM, Kerstetter JE. Calcium intake in the United States from dietary and supplemental sources across adult age groups: new estimates from the national health and nutrition examination survey 2003-2006. *J Am Diet Assoc.* 2011; 111: 687-695.
5. Estaire P, González-Rodríguez LG, López-Sobaler AM, Ortega RM. Food sources and intake of calcium in a representative sample of spanish adults. *Food Nutr Sc.* 2012; 3: 1269-76.

6. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro, 2011.
7. Fisberg RM, Slater B, Marchioni DML, Martini LA. Inquéritos alimentares: métodos e bases científicos. 1ª ed. Barueri (SP): Manole, 2005.
8. Lanzillotti HS, Lanzillotti RS, Trotte AP, Dias AS, Bornand B, Costa EAMM. Osteoporosis in postmenopausal women, dietary calcium and other risk factors. *Rev Nutr.* 2003; 16 (2):181-93.
9. Lima FEL, Slater B, Latorre MRDO, Fisberg RM: Validade de um questionário quantitativo de frequência alimentar desenvolvido para população feminina no nordeste do Brasil. *Rev Bras Epidemiol.* 2007; 10: 483-490.
10. Lima FEL, Latorre MRDO, Costa MJC, Fisberg RM: Diet and cancer in Northeast Brazil: evaluation of eating habits and food group consumption in relation to breast câncer. *Cad Saude Publ.* 2008; 24: 820-8.
11. Luna RCP, Nascimento CCC, Asciutti LSR, Franceschini SCC, Filizola RG, Diniz AS, Moraes RM, Rivera MAA, Gonçalves MCR, Costa MJC: Relation between glucose levels, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), body mass index (BMI) and serum and dietary retinol in elderly in population-based study. *Arch Gerontol Geriatr.* 2011; 54: 462-8.
12. Block G. Health habits and history questionnaire: diet history and other risk factors. Bethesda: National Cancer Institute, 1988.
13. Yunsheng MA, Olendzki BC, Pagoto SL, Hurley TG, Magner RP, Ockene IS, Schneider KL, Merriam PA, Hébert JR. Number of 24-hour diet recalls needed to estimate energy intake. *Ann Epidemiol.* 2009; 19 (8): 553-9.
14. Monteiro JP, Pfrimer K, Tremeschin MH, Molina MC, Chiarello PG. Consumo alimentar. Visualizando porções. Reimpr. Vannucchi H, editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.
15. Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements. Otten JJ, Hellwig JP, Meyers LD, editores. Washington (D.C.): The National Academies Press, 2006. <http://www.nap.edu/> (acessado em 20/Jan/2012).
16. Brasil - Ministério da Saúde: Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: Secretaria de atenção à saúde; 2006.

17. USDA - United States Department of Agriculture. U.S. Department of Health and Human Services: Dietary guidelines for americans; 2010.
<http://www.cnpp.usda.gov/dietaryguidelines.htm>. (acessado em 05/Jun/2012).
18. World Health Organization. WHO Scientific Group on the assessment of osteoporosis at primary health care level. Sumary Meeting Report. Brussels, Belgium, 2004. <<http://who.int/chp/topics/Osteoporosis.pdf>>. (acessado em 12/Julh/2012).
19. Nakamura K, Hori Y, Nashimoto M, Okuda Y, Miyazaki H, Kasai Y, Yamamoto M. Dietary calcium, sodium, phosphorus, and protein and bone metabolism in elderly Japanese women: a pilot study using the duplicate portion sampling method. *Nutrition*. 2004; 20: 340-5.
20. Lerner BR, Lei DLM, Chaves SP, Freire RD. O cálcio consumido por adolescentes de escolas públicas de Osasco, São Paulo. *Rev Nutr.*, 2000; 13(1): 57-63.
21. Priore SE, Franceschini SCC, Bueno MB, Souza PM, Fisberg M. Consumo de cálcio e vitamina D na infância: resultados do Nutri - Brasil infância (Estudo multicêntrico do consumo alimentar de pré-escolares). DANONE: Saúde & Nutrição, Danone Research Centre Daniel Carasso, Danone Health Affairs, France, Paris. 2009. <http://www.danone.com.br/>(acessado em 10/Fev/ 2012).
22. Salamoun MM, Kizirian AS, Tannous RI, Nabulsi MM, Choucair MK, Deeb ME; El-Hajj Fuleihan GA. Low calcium and vitamin D intake in healthy children and adolescents and their correlates. *Eur J Clin Nutr*. 2005; 59 (2): 177-184.
23. Kemi V, Kärkkäinen MUM, Rita HJ, Laaksonen MML, Outila TA, Lambergallardt CJE. Low calcium:phosphorus ratio in habitual diets affects serum parathyroid hormone concentration and calcium metabolism in healthy women with adequate calcium intake. *Br J Nutr*. 2010; 103: 561-8.
24. Dawson-Hughes B. Interaction of dietary calcium and protein in bone health in humans. *J Nutr*. 2003; 133 (3): S852-4.
25. Pereira DC, Lima RPA, Lima RT, Gonçalves MCR, Moraes LCSL, Franceschini SCC, Filizola RG, Moraes RM, Asciutti LSR, Costa MJC. Association between obesity and calcium:phosphorus ratio in the habitual diets of adults in a city of Northeastern Brazil: an epidemiological study. *Nutr J*. 2013; 12 (90).
26. Esteves EA, Rodrigues CAA, Paulino EJ. Ingestão dietética de cálcio e adiposidade em mulheres adultas. *Rev Nutr*. 2010, 23 (4): 543-552.
27. Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, Thé AC, Diniz ET, Marques TF, Lucena CS. Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among

postmenopausal women living in the tropics. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2010, 54 (2): 227-232.

28. González-Molero I, Rojo-Martínez G, Morcillo S, Gutiérrez-Repiso C, Rubio-Martín E, Almaraz MC, Oliveira G, Soriguer F. Vitamin D and incidence of diabetes: a prospective cohort study. *J Clin Nutr.* 2012; 31 (4): 571-3.
29. Bouillon R, Bischoff-Ferrari H, Willett W. Vitamin D and health: perspectives from mice and man. *J Bone Miner Res.* 2008, 23 (7): 973-1155.
30. Heaney RP. Effects of caffeine on bone and the calcium economy. *Food Chem Toxicol.* 2002; 40 (9): 1263-70.
31. Harter DL, Busnello FM, Dibi RP, Stein AT, Kato SK, Vanin CMM. Association between low bone mass and calcium and caffeine intake among perimenopausal women in Southern Brazil: cross-sectional study. *Sao Paulo Med J.* 2013; 131 (5): 315-22.
32. Higdon JV, Frei B. Coffee and health: a review of recent human research. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2006; 46 (2):101-23.
33. Baccaro LF, Machado VSS, Costa-Paiva L, Sousa MH, Osis MJ, Pinto-Neto AM. Factors associated with osteoporosis in brazilian women: a population-based household survey. *Arch Osteoporos.* 2013; 35 (11): 497-502.
34. Dawson-Hughes B, Dallal EG, Krall AE, Sadowski L, Sahyoun N, Tannenbaum S. A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 1990; 323: S878-83.
35. Bischoff-Ferrari HA, Kiel DP, Dawson-Hughes B, Orav JE, Li R, Spiegelman D, Dietrich T, Willett WC. Dietary calcium and serum 25-hydroxy vitamin D status in relation to BMD among U.S. adults. *J Bone Miner Res.* 2009; 24: 935-942.
36. Cáceres E, García ML, Selgas MD. Design of a new cooked meat sausage enriched with calcium. *Meat Sci.* 2006; 73:368-377.
37. Romanchik-Cerpovicz JE, Mckemie RJ. Fortification of all-purpose wheat-flour tortillas with calcium lactate, calcium carbonate or calcium citrate is acceptable. *J Am Diet Assoc.* 2007; 107: 506-9.
38. Ranhotra GS, Gelroth JA, Leinen SD. Utilization of calcium in breads highly fortified with calcium as calcium carbonate or as dairy calcium. *Cereal Chem.* 2000; 77 (3): 293-6.
39. Kajishima S, Pumar M, Germani R. Efeito da adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2003, 23 (2): 222-5.

40. Lima AS, Maciel JF, Queiroga RCRE, Neto EAL, Anjos UU, Farias LRG. Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.). 2009; 68 (3): 366-372.

Tabela 1. Características socioeconômicas de mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.

Características socioeconômicas	Média±DP³	N	%
Faixa etária [anos] (n=50)			
40 ---50	45,47 ± 2,96	17	34,00
51 ---60	54,95 ± 2,76	20	40,00
≥ 61	68,15 ± 6,88	13	26,00
Escolaridade ¹ (n=50)			
ensino fundamental	-	12	24,00
ensino médio	-	16	32,00
ensino superior	-	22	44,00
Renda familiar ² (n=50)			
1 a 3 SM ³	1059,54 ± 382,08	24	48,00
> 3 a 5 SM	2463,64 ± 498,54	11	22,00
> 5 SM	6545,07 ± 4375,03	15	30,00

¹ensino fundamental correspondendo a 8 anos ou menos de estudo, ensino médio a 12 anos de estudo e ensino superior a mais de 12 anos de estudo.

²Renda familiar expressa em salário-mínimo= R\$ 622,00 (01/01/2011 a 31/12/2012).

³Abreviações: SM = salário mínimo; DP= desvio padrão.

Tabela 2. Ingestão dietética de cálcio e percentual de adequação aparente em relação às faixas de idade e renda familiar de mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.

Características gerais	N	Ingestão dietética de cálcio Média ± DP²	N	Adequação aparente (%)
Grupo etário				
40-50	17	916,92 ± 574,80	9	47,1
51-60	20	712,67 ± 568,33	4	20,0
> 60	13	992,59 ± 986,81	4	30,8
Total	50	-	16	-
Renda familiar ¹				
1 até 3 SM ²	24	796,97 ± 626,06	8	33,3
> 3 até 5 SM	11	926,60 ± 1017,99	2	18,2
> 5 SM	15	894,97 ± 553,32	5	35,7
Total	50	-	15	-

¹Renda familiar expressa em salários mínimos = R\$ 622,00 (01/01/2011 a 31/12/2012).

²SM= salário mínimo; DP = desvio padrão.

Tabela 3. Consumo alimentar habitual de grupos de alimentos por mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.

Grupos de alimentos	Porções diárias consumidas	Recomendações¹
Leite e derivados	1,35	2 a 3 porções
Vegetais	3,20	3 a 5 porções
Carnes e Peixes	1,63	1 a 2 porções

¹Brasil, 2008; USDA, 2010.

Tabela 4. Frequência de consumo diário habitual de mulheres com idade maior que 40 anos.
João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2011-2012.

Alimentos	N	%	Consumo diário		Porções
			Média±DP ¹	Mediana	
Leite desnatado (mL)	21	(42)	90,78 ± 53,58	75,00	0,45
Leite integral (mL)	24	(48)	90,33 ± 67,56	75,00	0,45
Leite semidesnatado (mL)	03	(6)	125,00 ± 86,60	75,00	0,63
Iogurte (mL)	44	(88)	63,48 ± 51,28	70,71	0,32
Queijos (g)	50	(100)	13,41 ± 11,19	12,86	0,33
Couve e espinafre (g)	31	(62)	16,65± 14,55	9,00	0,28
Peixes (g)	49	(98)	16,97± 16,57	12,00	0,17

¹DP= desvio padrão

Tabela 5. Associação entre a Densidade Mineral Óssea (DMO) e a idade das mulheres com idade maior que 40 anos. João Pessoa, Paraíba. Brasil, 2011-2012.

Idade (anos)	Densidade Mineral Óssea (DMO)				Total	
	Normal		Osteopenia/Osteoporose			
	N	%	N	%	N	%
≤ 50	12	60,0	04	23,3	16	32,0
> 50	08	40,0	26	86,7	34	68,0
Total	20	100,0	30	100,0	50	100,0

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fortificação dos pães de forma com soro de leite em pó e carbonato de cálcio resultou em um produto rico em cálcio ($> 300\text{mg}/100\text{g}$ pão). O consumo de 2 fatias do pão fortificado com 2g de CaCO_3 e 10g de SLP/100g farinha contribui com mais de 70% das necessidades de ingestão diária de cálcio recomendada para adultos saudáveis, além da boa aceitação sensorial. Esse novo produto pode ser uma alternativa para aqueles indivíduos que não conseguem obter o aporte de cálcio necessário somente por meio do consumo de alimentos naturalmente fontes e/ou ricos nesse mineral.

No grupo pesquisado, a ingestão dietética de cálcio esteve abaixo do recomendado pelo *Institute of Medicine* (IOM), especialmente para as mulheres com idade superior a 50 anos, sendo verificada alta prevalência de osteopenia/osteoporose. Esses resultados demonstram a necessidade de promover ações voltadas para a adoção de uma dieta balanceada, em quantidade e variedade de alimentos ricos em cálcio e vitamina D, e quando não for possível, incluir alimentos fortificados. Além disso, a manutenção de hábitos de vida saudáveis (prática de atividade física, não fumar, não ingerir bebida alcoólica, exposição ao sol em horários adequados, entre outros) também irá contribuir para melhoria da saúde óssea nesse estágio de vida.

As mulheres com mais de 40 anos de idade são um grupo bastante vulnerável à perda de massa óssea, devido aos fatores relacionados ao desequilíbrio hormonal resultantes da menopausa e a idade. Portanto, essas questões devem ser consideradas durante o tratamento da osteoporose. Considerando esse fato, sugere-se a realização de um estudo de intervenção com o pão de forma fortificado com cálcio nesse grupo populacional, a fim de verificar a biodisponibilidade dessa nova alternativa de fonte alimentar de cálcio.

APÊNDICE A.1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido utilizado para o estudo
1.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A pesquisa intitulada “**Avaliação sensorial de pães enriquecidos com cálcio**” está sendo desenvolvida pela aluna de doutorado Adriana de Sousa Lima e prof^a Dr^a Janeeyre Ferreira Maciel, orientadora e coordenadora desta pesquisa.

O objetivo deste estudo é a elaboração de pães de forma enriquecidos com cálcio, utilizando como ingredientes para enriquecimento o soro de leite em pó e o carbonato de cálcio, a fim de obter um novo produto com alto teor de cálcio e boa aceitação sensorial, não existindo quaisquer ônus, prejuízos ou riscos em potencial para os participantes.

Solicitamos a sua colaboração nas seguintes etapas do trabalho:

1ª Etapa: Será realizado um recrutamento, por meio da aplicação de um questionário com perguntas sobre idade; sexo; estilo de vida; presença de alergias e/ou intolerâncias, e aversões alimentares; hábitos de consumo de produtos fortificados/enriquecidos com cálcio e pães; frequência média diária e semanal de consumo de pão de forma; os tipos de preparações mais consumidas com este tipo de pão; como também os fatores que influenciam na compra ou consumo do produto.

2ª Etapa: Após o recrutamento, o provador que estiver apto, será convidado a participar de uma sessão de degustação de pães de forma enriquecidos com cálcio, sendo orientados a preencher uma ficha de aceitação sensorial onde responderá sobre o quanto gostou ou desgostou do sabor, textura, cor, aroma e impressão global do produto em teste.

Além disso, solicitamos a sua autorização para apresentação dos resultados deste estudo em eventos da área de alimentos e publicação em periódicos científicos, sendo sua identidade e dados fornecidos mantidos em sigilo.

Esclarecemos ainda que a sua participação é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano.

Diante do exposto, eu _____(nome do provador) declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Qualquer dúvida ou esclarecimento entrar em contato com Adriana de Sousa Lima pelos telefones:(83) 3216 7384 (Laboratório de Microbiologia do PPGCTA/CT/UFPB)/(83) 8882 1351/e-mail: adrianalimentos@hotmail.com.

APÊNDICE A.2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido utilizado para o estudo 2.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

PESQUISA: “Correlação da ingestão dietética de cálcio e densidade mineral óssea em mulheres no climatério: uma proposta de intervenção nutricional com pão de forma rico em cálcio.”

Pesquisadores:

Adriana de Sousa Lima (doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB);
 Dr^a Janeeyre Ferreira Maciel (professora da UFPB- pesquisadora coordenadora do projeto);

Dr^a Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves (professora da UFPB- pesquisadora colaboradora)

O estudo propõe avaliar a ingestão atual de cálcio em mulheres saudáveis com mais de 40 anos de idade por meio da aplicação de questionário de recrutamento e recordatório alimentar de 24 horas. O entrevistador treinado aplicará o inquérito recordatório alimentar de 24h (R24) utilizando um questionário aberto, no qual a participante será orientada a referir todos os alimentos e bebidas consumidos nas últimas 24 horas anteriores à entrevista, bem como suas quantidades. Será aplicado um total de três recordatórios, em dias alternados, considerando um dia do final de semana.

Ao final da realização do último recordatório alimentar será solicitada à participante os exames de densitometria óssea e cálcio sanguíneo a fim de ser utilizado para correlacionar à quantidade de cálcio ingerida pelo grupo.

Este estudo servirá de base para um futuro estudo de intervenção com um pão de forma enriquecido com soro de leite em pó e carbonato de cálcio na dieta de mulheres no climatério, a fim de verificar melhorias na saúde óssea pelo aumento da ingestão dietética de cálcio.

Os dados coletados neste estudo serão guardados pelos pesquisadores responsáveis, sendo utilizado somente para a pesquisa, não sendo, em momento algum, permitido o conhecimento por outras pessoas.

Esclarecemos ainda que os resultados obtidos serão divulgados em reuniões científicas (congressos e outros) e publicados em artigos originais de periódicos científicos da área.

A sua participação é voluntária e, portanto, a senhora não é obrigada a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas. Ciente do exposto sabe que tem o direito de não participar ou desistir a qualquer momento da pesquisa.

Em vista dos esclarecimentos acima, declaro de livre e espontânea vontade o meu consentimento em participar da pesquisa.

Assinatura do Participante

Número da Identidade

Assinatura do Pesquisador

Número da Identidade

Qualquer esclarecimento entrar em contato com Adriana de Sousa Lima pelos telefones: (83) 3216 7384 (Laboratório de Microbiologia do PPGCTA/CT/UFPB) ou (83) 9930 8302 e (83) 8882 1351 (Celulares)

APÊNDICE B- Questionário de recrutamento das mulheres participantes do estudo 2.

Nome: _____ Data da entrevista: ____/____/____
 Endereço: _____ Bairro: _____
 Telefone: _____ Cidade: _____
 Data de nascimento: _____ Naturalidade: _____

1. Estado civil: _____ N° de filhos: _____
2. Atividade Profissional: _____ Escolaridade: _____
3. Casa Própria: () sim () não N° de pessoas que residem na casa: _____
4. Renda familiar: _____
5. Possui Plano de Saúde: () sim () não
6. Idade da 1ª menarca: _____ Idade da última menarca: _____ Tempo de amenorréia: _____
7. Você consulta regularmente o médico? () Sim () Não
 Se sim, com que regularidade? _____
 Se não, por quê? _____
 Quando foi a sua última consulta? _____
8. Apresenta história familiar de doenças ósseas (osteoporose, fraturas por queda, osteopenia etc):
 () sim () não
9. Possui alguma doença relacionada aos ossos: () sim () não
 Qual? _____
10. Você já fez exame de Densitometria Óssea? () Sim () Não
 Se sim, com que regularidade? _____
 Há quanto tempo você fez o último exame? _____
11. Faz algum tipo de acompanhamento para doenças relacionadas ao osso: () sim () não
12. Usa suplementos ou medicamentos que contenham cálcio: () sim () não
13. Faz tratamento de reposição hormonal: () sim () não
14. Possui alguma problema relacionado à tireóide? () sim () não
 Em caso positivo, qual? _____
15. Fumante: () sim () não
 Quantidade: _____ Tempo de fumo: _____
16. Ingestão de bebida alcoólica: () sim () não
 Frequência: _____ Tempo: _____
17. Atividade Física: () sim () não
 Tipo: _____ Frequência: _____

APÊNDICE C - Artigo 1 apresentado na língua portuguesa.

**EFEITOS DA ADIÇÃO DE SORO DE LEITE EM PÓ E CARBONATO DE
CÁLCIO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS
DE PÃO DE FORMA**

Adriana de Sousa Lima^{a*}, Marciane Magnani^a, Ricardo Targino Moreira^a, Ânoar
Abbas El-Aouar^a, Flávio Luiz Honorato da Silva^{a,b}, Carine Pinto Maciel^a, Janeeyre
Ferreira Maciel^a

^a Universidade Federal da Paraíba. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia
de Alimentos.

^{a,b} Universidade Federal da Paraíba. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia
Química.

Endereço: Cidade Universitária. Bairro Castelo Branco. Campus Universitário I. João
Pessoa, Paraíba (PB), Brasil. CEP: 58059-900; Telefones: +55 83 3216 7384/6375/7385
E-mails: janeeyre@ct.ufpb.br, ricardo.ufpb@gmail.com, anoarabbas@gmail.com,
flavioluizh@yahoo.com.br, ca.ellen@hotmail.com

*Autor para correspondência: e-mail: adrianalimanutri@yahoo.com.br (Adriana Lima).

Endereço: Rua Golfo de Adem, 173. Edifício Solar do Intermares II, apto 302, Bairro
Intermares, Cabedelo, Paraíba, Brasil, CEP: 58310000. Telefones: +55 83 8882
1351/9930 8302.

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da adição de soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO_3) sobre as características físico-químicas e sensoriais de pão de forma. Os ingredientes foram testados seguindo um delineamento fatorial completo do tipo 2^2 , totalizando sete experimentos. As respostas avaliadas foram pH, acidez, volume específico, conteúdo de umidade do miolo, atividade de água e teor de cálcio. Posteriormente, foi aplicado um teste de aceitação para avaliar aparência do pão inteiro, aparência da fatia, cor da casca, cor do miolo, aroma, sabor, umidade e maciez do miolo, além da aceitação global. A adição de CaCO_3 elevou o pH e reduziu a acidez dos pães, enquanto o SLP promoveu redução na umidade e atividade de água. Quando esses dois ingredientes foram combinados, houve redução no pH. Ambos elevaram o teor de cálcio, que variou de 31,9 mg a 723,3 mg/100g pão. Com relação à análise sensorial, todas as formulações testadas foram aceitas, com escores variando de 6,72 a 8,07, entretanto, o pão adicionado somente de carbonato de cálcio apresentou menor aceitação, indicando que a adição das duas fontes de cálcio se constitui como a melhor opção para fortificação de pães.

Palavras-chave: fortificação, sal de cálcio, produto lácteo, panificação.

1. Introdução

No Brasil, estudos conduzidos com indivíduos de diferentes grupos etários revelaram baixa ingestão dietética de cálcio, especialmente na população adulta, que apresentou consumo médio de 400 mg/dia (Lerner et al., 2000; Pinheiro et al., 2009; Priore et al., 2009), equivalente a 40% da necessidade diária desse nutriente (IOM, 2011). Esse problema foi verificado também nas populações de outros países como Estados Unidos e Espanha (Mangano et al., 2011; Bruyere et al., 2009).

A ingestão insuficiente de cálcio ao longo da vida afeta principalmente a saúde óssea, contribuindo para o desenvolvimento da osteoporose, gerando impactos econômicos significativos para o país.

Essa deficiência pode ser prevenida pela adequação da dieta, em termos de quantidade e variedade de alimentos fontes de cálcio. No entanto, essa prática tem sido dificultada devido às mudanças nos hábitos alimentares das populações, especialmente naquelas que residem em áreas urbanas. No Brasil, tem se observado uma tendência no aumento do consumo de refrigerantes e redução na ingestão de leite e derivados (Levy, Claro, Mondini, Sichieri, & Monteiro, 2012).

Quando a quantidade de cálcio não é alcançada por meio da dieta, recomendam-se outras medidas como a fortificação de alimentos e o uso de suplementos. Na fortificação, o cálcio é fornecido no alimento e não como medicamento, como ocorre com os suplementos, que podem causar efeitos adversos à saúde como náuseas, diarreias e constipação, entre outros (Fairweather-Tait and Teucher, 2002; Adu-Afarwuah et al., 2008).

Alguns dos alimentos que podem ser fortificados com cálcio incluem as bebidas a base de soja, refrigerantes, farinha de trigo, cereais matinais, massas alimentícias e produtos de panificação, entre outros. Dentre esses, os pães são considerados ótimos

veículos para fins de fortificação, devido ao amplo consumo por indivíduos de diferentes grupos etários e classes sociais, em todo o mundo (Bakke & Vickers, 2007).

Entre os alimentos fontes de cálcio usados na fortificação de pães, destacam-se o leite e derivados, tendo o soro de leite em pó sido recomendado em substituição ao leite em pó, por oferecer vantagens econômicas (Mallik & Kulkarni, 2009). O aproveitamento do soro de leite também é importante do ponto de vista ambiental, por se tratar de um subproduto da indústria de queijos, que apresenta elevado potencial poluente (Jooyandeh, Minhas, & Amarjit Kaur, 2009).

Considerando que a concentração máxima recomendada de soro de leite em pó (10 g/100 g farinha) na formulação de pão de forma não irá contribuir com quantidades significativas de cálcio (Lima et al., 2009), faz-se necessária a sua associação a outra fonte que permita obter um pão rico nesse mineral. Uma alternativa é a adição de sais de cálcio, sendo preferido o carbonato, por fornecer maior quantidade (40%) e melhor biodisponibilidade de cálcio, além de apresentar pouco ou nenhum efeito adverso na qualidade dos produtos finais (Ranhotra, Gelroth, & Leinen, 2000; Kajishima, Pumar, Germani, 2003).

Nesse trabalho, o objetivo foi fortificar pães de forma com cálcio, usando como fontes desse mineral soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO_3), bem como avaliar os efeitos dessa adição sobre as características físico-químicas e sensoriais dos produtos obtidos.

2. Material e métodos

2.1. Material

A farinha de trigo comercial (13% de umidade; 10,5% de proteínas [N x 5,7] e 358 s de Falling Number) proveniente da Bunge Alimentos S/A (Tatuí, SP, Brasil) foi usada na elaboração dos pães de forma.

O soro doce de leite em pó (proteínas [N x 6,25]: 10,6%; umidade: 2% e cinzas: 5,8%) e o carbonato de cálcio (99,07% de pureza) foram adquiridos nas empresas Alibra Ingredientes Ltda (Campinas, SP, Brasil) e F.Trajano Ingredientes Ltda (Paulista, PE, Brasil), respectivamente. Os demais ingredientes (açúcar, fermento biológico seco instantâneo, gordura vegetal hidrogenada e sal) foram obtidos em comércio local.

2.2. Métodos

2.2.1. Formulação dos pães

A formulação básica do pão de forma foi a seguinte: farinha de trigo (100 g), água (52 g/100g), sal (1,7 g/100g), fermento biológico seco instantâneo (1 g/100g), açúcar (4 g/100g) e gordura vegetal hidrogenada (3 g/100g). O soro de leite em pó e o carbonato de cálcio foram adicionados à formulação de acordo com o delineamento do tipo fatorial completo 2². As quantidades adicionadas variaram de acordo com os níveis apresentados na Tabela 1, incluindo quatro pontos fatoriais e três repetições no ponto central, totalizando sete ensaios.

2.2.2. Procedimento para elaboração dos pães

A produção dos pães de forma seguiu o procedimento de massa direta. Os ingredientes secos foram homogeneizados em um misturador do tipo espiral (Steel, ST-005, São Paulo, Brasil), em velocidade lenta por 5 minutos e rápida por 10 minutos (até atingir o ponto de véu), sendo feita a adição gradual de água refrigerada a aproximadamente 10 °C. Em seguida, a massa fresca que se encontrava com temperatura em torno de 24 °C foi boleada, submetida a descanso de 10 minutos e dividida em unidades de 650 g. Após modelagem manual, porções individuais foram colocadas em formas (22 cm x 11 cm x 7 cm) previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e transportadas até a câmara de fermentação (Nova Ética, série 400D, São Paulo, Brasil), permanecendo por aproximadamente 1 hora e 40 minutos, a 35 ± 1 °C.

Ao final desse período, os pães foram assados em forno a gás (Turbo Pro gás, Caxias do Sul, RS, Brasil) por 20 minutos, a 200 °C e resfriados por três horas, sendo posteriormente fatiados, embalados em sacos plásticos de polietileno e armazenados à temperatura ambiente (27 ± 2 °C) até a realização das análises.

2.2.3 Análises físico-químicas dos pães

2.2.3.1. pH e Acidez total titulável (ATT)

As amostras de miolo de pão (10 g) foram homogeneizadas com 90 mL de água destilada e submetidas às análises de pH e ATT. O pH foi determinado em potenciômetro (Quimis, 0400, São Paulo, Brasil), previamente calibrado e a acidez foi titulada com solução de NaOH 0,1 mol/L até pH final de 8,5 sendo expressa em mL de NaOH 0,1 mol/L (Robert et al., 2006). As análises foram realizadas em triplicata.

2.2.3.2 Volume específico

O volume específico dos pães foi determinado 24 horas após o processamento, pelo método 10-11 da AACC (2000). Após pesagem em balança semi-analítica, o volume dos pães foi medido por deslocamento das sementes de painço, e o volume específico (cm^3/g) foi calculado com base na razão entre o volume (cm^3) e a massa dos pães (g).

2.2.3.3 Conteúdo de umidade do miolo dos pães

As amostras foram preparadas de acordo com o método 62-05 da AACC (2000). O conteúdo de umidade do miolo dos pães foi determinado de acordo com o método 44-15 da AACC (2000), em triplicata.

2.2.3.4 Atividade de água (A_w)

A atividade de água no miolo dos pães foi determinada em equipamento AQUALAB (Series 3, Decagon, USA), conforme procedimento citado por Labuza et al. (1976), sendo realizada em triplicata.

2.2.3.5 Teor de cálcio dos pães

O teor de cálcio foi quantificado em espectrofotômetro de absorção atômica por chama (AAS 220 F, Varian Spectr, Ontário, Canadá), de acordo com os métodos da AOAC (2006), em triplicata.

2.2.4 Avaliação Sensorial

As formulações contendo teor mínimo de cálcio de 300 mg/100 g de pão foram submetidas ao teste de aceitação com 54 provadores não treinados (55.6 % do gênero feminino e 44.4 % masculino), recrutados entre alunos e funcionários da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Esse teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da UFPB, em cabines individuais à temperatura de 22°C, sob luz branca, sendo as amostras (um quarto de uma fatia de pão incluindo miolo e casca, obtidas 24 h após a produção) servidas de forma monádica, em pratos brancos descartáveis numerados com três dígitos codificados aleatoriamente. Água mineral foi fornecida entre as amostras para limpeza do palato.

Durante a análise os provadores avaliaram os atributos aparência do pão inteiro, aparência da fatia, cor da casca, cor do miolo, aroma, sabor, umidade e maciez do miolo, além da aceitação global, utilizando uma escala hedônica de 9 pontos (9 “gostei extremamente” e 1 “desgostei extremamente”) (Stone & Sidel, 1985). Os pães foram considerados aceitos quando obtiveram médias ≥ 6 (“gostei ligeiramente”) (Rocha & Cardoso Santiago, 2009).

O teste de aceitação foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPB (protocolo nº 0176/2011) e todos os voluntários assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

2.2.5 Análise Estatística

A avaliação dos efeitos da adição de diferentes concentrações de soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO_3) sobre as características físico-químicas de pães de forma foi realizada usando o pacote estatístico STATISTICA 5.0[®] (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA, 2004). Os resultados foram avaliados através da Análise de Variância (ANOVA), teste F e R^2 (coeficiente de determinação) ao nível de significância de $P < 0.05$. Os modelos matemáticos de primeira ordem foram obtidos a partir da equação **(1)**.

$$Y = \beta_0 + \beta_1.x_1 + \beta_2.x_2 + \beta_3.x_1.x_2 \quad (1)$$

Onde Y corresponde às variáveis dependentes: pH, acidez, volume específico, conteúdo de umidade, atividade de água e teor de cálcio; x_1 e x_2 representa as variáveis independentes: soro de leite em pó e carbonato de cálcio, respectivamente; β_0 equivale às médias dos experimentos; β_1 e β_2 aos coeficientes dos efeitos principais das variáveis x_1 e x_2 , respectivamente e β_3 ao coeficiente de interação entre as variáveis x_1 e x_2 .

Para o teste de aceitação sensorial dos pães de forma utilizou-se a ANOVA e teste de Tukey, ao nível de significância de $P < 0.05$.

3. Resultados e Discussão

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes às análises físico-químicas dos pães de forma.

3.1 pH e Acidez Total Titulável (ATT)

O pH e a acidez dos pães variaram, respectivamente, de 5.20 a 7.53 e de 0.60 a 4.60 mL de NaOH 0.1 mol/L (Tabela 2).

Os pães adicionados somente de soro de leite em pó apresentaram pH em torno de 5,0, condição favorável ao desenvolvimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, principal microrganismo utilizado na fermentação de pães (Serrano, Bernal, Simón, & Ariño, 2004; Plessas et al., 2011). A adição desse ingrediente não teve nenhum efeito significativo no pH e acidez dos pães.

A adição de carbonato de cálcio resultou em elevação no pH e redução na acidez, tendo a concentração de 2 g CaCO_3 /100 g de farinha alcançado os valores 7.53 e 0.6 mL de NaOH 0.1 mol/L, respectivamente (Tabela 2). Salinas, Zuleta, Ronayne, e Puppo (2012) também verificaram elevação no pH da massa após a adição de carbonato cálcio. Segundo Lang, Dibble, Murphy (2009) essa elevação no pH prejudica as características sensoriais do pão. Quando esse ingrediente foi associado ao soro de leite em pó, houve redução significativa no pH.

Os modelos matemáticos e as superfícies de resposta obtidos a partir dos dados experimentais para pH e acidez estão apresentados na Tabela 3, Figuras 1a e 1b, respectivamente. Os parâmetros estatisticamente significativos ($p < 0.05$) estão em negrito.

3.2 Volume Específico

O volume específico dos pães variou de 3.59-4.76 cm^3/g (Tabela 2), não sendo observado nenhum efeito significativo ($p < 0.05$) devido às fontes de cálcio testadas, dentro das faixas estudadas (Tabela 3). Esses resultados concordam com os obtidos por Kajishima et al. (2003) e Erdogdu-Arnoczky et al. (1996), que não verificaram efeito significativo ($p < 0,05$) no volume específico de pães devido a adição de carbonato de cálcio (2.7 g/100g de farinha) e soro de leite em pó (4 g/100g de farinha), respectivamente.

Em diversos tipos de pães de forma foram reportados valores de volume específico variando de 4.01 a 4.66 cm^3/g (Bárcenas & Rosell, 2005; Visentín et al., 2009; Conto, Oliveira, Martin, Chang, & Steel, 2012). Nessa pesquisa, somente os pães dos ensaios 3 e 4, ambos contendo 2g de carbonato de cálcio/100g de farinha, apresentaram valores abaixo de 4.0 cm^3/g , condição que pode afetar negativamente a aceitação sensorial dos pães.

3.3 Conteúdo de umidade e atividade de água do miolo dos pães

O teor de umidade dos pães variou de 32 a 35 g/100g pão, enquanto a atividade de água ficou em torno de 0.95 (Tabela 2), não tendo sido observado nenhum efeito significativo sobre essas variáveis devido a adição de carbonato de cálcio.

Com relação ao soro de leite em pó, foram observadas reduções na umidade e atividade de água, o que não era esperado, tendo em vista que resultados de outras pesquisas sugerem maior retenção de água nos pães devido ao uso desse ingrediente (Erdogdu-Arnoczky et al., 1996; Kadharmestan, Baik, Czuchajowska, 1998).

Apesar da importância que a umidade e atividade de água exercem sobre a qualidade sensorial dos pães, não foram encontrados na literatura pesquisada relatos sobre recomendações de limites máximos e mínimos desejáveis. Somente foram verificadas recomendações de níveis máximos de umidade na legislação de alguns países, visando o controle de fungos durante a estocagem (Kulp, Ponte Jr., D'Appolonia, 1981; ANVISA, 2000).

Em pães de forma, os valores observados na literatura variaram, respectivamente, de 31-38,2 g/100 g pão e de 0.95-0.96 (Curic et al., 2008; Conto et al., 2012; Wang; Choi; Kerr, 2004). Os modelos matemáticos para essas variáveis e a superfície de resposta para a atividade de água estão apresentados na Tabela 3 e Figura 2, respectivamente.

3.4 Teor de cálcio dos pães

O teor de cálcio dos pães variou de 31.9-723.3 mg/100g pão, tendo a formulação do ensaio 4 apresentado quantidade suficiente (Tabela 2) para suprir até 70 % da Ingestão Diária Recomendada (IDR) desse mineral para adultos saudáveis (ANVISA, 2005).

O pão adicionado somente de soro de leite em pó apresentou elevação significativa no teor de cálcio, porém, o aumento obtido não foi suficiente para tornar o produto fonte desse mineral (mínimo: 150 mg/100 g produto). A adição de carbonato de cálcio também resultou em elevação significativa no teor de cálcio (acima de 300 mg/100 g pão), o que permitiu classificar os produtos obtidos como alimentos ricos nesse mineral (ANVISA, 1998). Entretanto, a combinação dos dois ingredientes testados não teve efeito significativo sobre essa variável (Tabela 3).

O modelo matemático e a superfície de resposta para o teor de cálcio, obtidos a partir dos dados experimentais, estão apresentados na Tabela 3 e Figura 3, respectivamente.

A fortificação da farinha de trigo e de pães com cálcio tem sido praticada em alguns países. Nos Estados Unidos, recomenda-se a adição de até 133.3 mg de cálcio/100g pão (Newmark, Heaney, & Lachance, 2004) e no Reino Unido, a farinha de trigo deve conter 98 mg cálcio/100 g (Feskanich, Willett, Stampfer, & Colditz, 1997; Department of Health, 1998). No Brasil, essa iniciativa ainda não foi estabelecida pelos órgãos governamentais.

Outras pesquisas foram realizadas propondo a fortificação de pães com cálcio. Ziadeh et al. (2005) recomendaram aumento do teor de cálcio em até 509 mg/100 g pão. Kajishima et al. (2003) fortificaram pão francês com 2.7 g de carbonato de cálcio/100 g farinha, obtendo teor de cálcio de 800 mg/100 g do produto. Ranhotra et al. (2000) fortificaram farinha de trigo com soro de leite em pó e carbonato de cálcio até a concentração de 924 mg de cálcio/100g de farinha. Martin, Weaver, Heaney, Packard, & Smith (2002) adicionaram carbonato de cálcio em pães brancos, obtendo 600 mg de cálcio/100 g de pão. Nesses dois últimos trabalhos também foi avaliada a

biodisponibilidade das fontes de cálcio testadas, sendo observado que o carbonato de cálcio foi tão biodisponível quanto o cálcio proveniente do leite.

3.5 Avaliação Sensorial

Os resultados do teste de aceitação realizado com as três formulações de pães de forma ricos em cálcio estão descritos na Tabela 4.

Todas as formulações testadas foram aceitas, com escores médios variando de 6.72 a 8.07 (Tabela 4).

A adição de carbonato de cálcio, na concentração de 2 g/100 g farinha, prejudicou de forma significativa a aparência do pão inteiro e da fatia, o que era esperado, tendo em vista que esses produtos apresentaram os menores valores de volume específico (E3: 3,59; E4: 3,68). Outra característica afetada foi a cor do miolo, mesmo quando esse ingrediente foi associado ao soro de leite em pó. Quanto à cor da casca, não houve diferença entre as amostras ($P>0,05$).

A combinação dos ingredientes testados nessa pesquisa resultou em melhoria na aceitação dos pães quanto aos atributos aroma, sabor, umidade do miolo e maciez do miolo, além da aceitação global, fazendo com que os produtos contendo 2 g de carbonato/100 g farinha apresentassem a mesma aceitação que os contendo somente 1 g desse ingrediente, o que não era esperado, pois Segundo Ziadeh et al. (2005), a adição de 2 g de carbonato de cálcio/100 g pão pode ser percebida sensorialmente, enquanto a redução dessa concentração para 1.25 g/100 g torna o produto similar a um pão controle, sem esse ingrediente. Possivelmente, a associação do soro de leite em pó ao carbonato de cálcio, contribuiu para esse resultado, pois tem sido demonstrado que o uso de soro de leite em pó em pães melhora características sensoriais como sabor e aroma (Al-Eid, Al-Neshawy and Al-Shaikh Ahmad, 1999).

Portanto, o pão com melhor aceitação foi o obtido a partir da associação entre soro de leite em pó e carbonato de cálcio, nas menores concentrações testadas para ambos os ingredientes, seguido pelo pão contendo esses dois ingredientes, porém, em concentrações mais elevadas, tendo o pão adicionado somente de carbonato de cálcio apresentado a menor aceitação.

4. Conclusões

A fortificação do pão de forma com carbonato de cálcio e soro de leite em pó, dentro das faixas estudadas, resultou em produto rico em cálcio, com teores acima de 300 mg/100 g pão, contribuindo com até 70 % das necessidades de ingestão diária recomendada para adultos saudáveis.

Os principais efeitos da adição de carbonato de cálcio sobre as características físico-químicas dos pães foram elevação no pH, redução na acidez e aumento no teor de cálcio. Para o soro de leite em pó, os principais efeitos foram redução na umidade e atividade de água, bem como elevação no teor de cálcio. Com exceção do pH, a associação desses dois ingredientes não promoveu efeito significativo sobre as variáveis avaliadas.

Com relação à análise sensorial, todas as formulações testadas foram aceitas, entretanto, a formulação adicionada somente de carbonato de cálcio apresentou menor aceitação, quando comparada com as adicionadas dos dois ingredientes.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida; a Pró-Reitoria de Pós-Graduação/UFPB e Albuquerque CL pela colaboração com a tradução e revisão do inglês, respectivamente, como também ao apoio das alunas Silva JP e Fernandes MA quanto à análise estatística.

5. Referências

- AACC. (2000a). Approved methods of the AACC (8th ed). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. Method n°10-11.
- AACC. (2000b). Approved methods of the AACC (8th ed). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. Method n°62-05.
- AACC. (2000c). Approved methods of the AACC (8th ed). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. Method n°44-15.
- AOAC. (2006). Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists (18th ed.). Gaithersburg: AOAC International.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (1998). Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. Portaria n° 31/Diário Oficial da União. Disponível em: [//http: www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acessado em: 11.07.2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2005). Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n° 269/Diário Oficial da União. Disponível em: [//http: www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acessado em: 11.07.2013.
- Bárcenas, M. E., & Rosell, C. M. (2005). Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 19, 1037-1043.
- Bakke, A., & Vickers, Z. (2007). Consumer liking of refined and whole wheat breads. *Journal of Food Science*, 72, 473–480.
- Conto, L. C., Oliveira, R. S. P., Martin, L. G. P., Chang, Y. K., & Steel, C. J. (2012). Effects of the addition of microencapsulated omega-3 and rosemary extract on the technological and sensory quality of white pan bread. *LWT - Food Science and Technology*, 45, 103-109.

- Curic, D., Novotni, D., Skevin, D., Rosell, C. M., Collar, C., Le Bail, A., Colic-Baric, I., & Gabric, D. (2008). Design of a quality index for the objective evaluation of bread quality: application to wheat breads using selected bake off technology for bread making. *Food Research International*, 41, 714–719.
- Cozzolino, S. M. F. (2005). *Biodisponibilidade de nutrientes*. (edição??). Barueri: Manole, (pp.878).
- Department of Health. (1998). Report on Health and Social Subjects 49. Nutrition and bone health: with particular reference to calcium and vitamin D. London: The Stationery Office.
- Erdogdu-Arnoczky, N., Czuchajowska, Z., & Pomeranz, Y. (1996). Functionality of whey and casein in fermentation and in breadbaking by fixed and optimized procedures. *Cereal Chemistry*, 73, 309–316.
- Feskanich, D., Willett, W. C., Stampfer, M. J., & Colditz, G. A. (1997). Milk, dietary calcium, and bone fractures in women: a 12-year prospective study. *The American Journal of Public Health*, 87(6), 992–997.
- Fik, M., Surówka, K., Maciejaszek, I., Macura, M., & Michalczyk, M. (2012). Quality and shelf life of calcium-enriched wholemeal bread stored in a modified atmosphere. *Journal of Cereal Science*, 56, 418–424.
- Gerstner, G. (2002). Dairy products: The calcium challenge. *International Food Ingredients*, 3, 45–48.
- IOM (Institute of Medicine). (1997). *Dietary references intakes. Calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride*. Washington, D.C.: National Academy Press.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). (Janeiro, 2004). *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de*

- alimentos e do estado nutricional no Brasil* (1ª edição). Rio de Janeiro, Brasil: IBGE. Disponível em: <http://www.ibge.org.br/>
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). (Janeiro, 2011). *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil* (1ª edição). Rio de Janeiro, Brasil: IBGE. Disponível em: <http://www.ibge.org.br/>
- Jooyandeh, H., Minhas, K. S., & Amarjit Kaur. (2009). Sensory quality and chemical composition of wheat breads supplemented with fermented whey protein concentrate and whey permeate. *Journal of Food Science and Technology*, 46, 28-34.
- Jarita M, Kulkarni S (2009). Incorporation of concentrated whey in the production of soup sticks. *Indian Journal of Dairy Science*, 62,14–19.
- Kenny, S., Wehrle, K., Stanton, C., Arendt, E. K. (2000). Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: effects on dough rheology and bread quality. *European Food Research Technology*, 210, 391–396.
- Kajishima, S., Pumar, M., & Germani, R. (2003). Efeito da adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23, 222-225.
- Labuza, T. P., Acott, K., Tatini, S. R., Lee, R. Y., Flink, J., & McCall, W. (1976). Water activity determination: a collaborative study of different methods. *Journal of Food Science*, 41, 910-912.
- Levy, R. B., Claro, R. M., Mondini, L., Sichieri, R., & Monteiro, C. A. (2012). Regional and socioeconomic distribution of household food availability in Brazil, in 2008-2009. *Revista de Saúde Pública*, 46, 6-15.

- Lima, A. S., Maciel, J. F., Queiroga, R. C. R. E., Neto, E. A. L., Anjos, U. U., Farias, L. R. G. (2009). Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 68 (3), 366-372.
- Mahan, L. K. & Escott-Stump, S. (2010). *Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia*. (12th ed.). São Paulo: Roca, (pp.1157).
- Martin, B. R., Weaver, C. M., Heaney, R. P., Packard, P. T., & Smith, D. L. (2002). Calcium absorption from three salts and CaSO₄-fortified bread in premenopausal women. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3874-3876.
- Newmark, H. L., Heaney, R. P., & Lachance, P. A. (2004). Should calcium and vitamin D be added to the current enrichment program for cereal-grain products? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 264 –270.
- Pinheiro, M. M., Jaques, N. O., Genaro, O. S., Ciconelli, R. M., Ferraz, M. B., & Martini, L. A. (2009). Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). *Nutrition Journal*, 8, 1-8.
- Plessas, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Koutinas, A., Voidarou, C., Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2011). Application of novel starter cultures for sourdough bread production. *Anaerobe*, 17, 486-489.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Leinen, S. D., & Schneller, F. E. (1997). Bioavailability of calcium in breads fortified with different calcium sources. *Cereal Chemistry*, 74, 361-363.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Leinen, S. D. (2000). Utilization of calcium in breads highly fortified with calcium as calcium carbonate or as dairy calcium. *Cereal Chemistry*, 77, 293-296.
- Robert, H., Gabriel, V., Lefebvre, D., Rabier, P., Vayssier, Y., & Fontagné-Faucher, C. (2006). Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc*

- starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 256-265.
- Rocha, L. S., & Cardoso Santiago, R. A. (2009). Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata vog.*) na elaboração de pães. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 820-825.
- Stone, H., & Sidel, J. L. (1985). Descriptive analysis. In H. Stone, & J. L. Sidel (Eds.), *Sensory evaluation practices* (pp. 202-226). London: Academic Press.
- Serrano, R., Bernal, D., Simón, E., & Ariño, J. (2004). Copper and iron are the limiting factors for growth of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in an alkaline environment. *The Journal of Biological Chemistry*, 279, 19698-19704.
doi:10.1074/jbc.M313746200
- Singh, G., Arora, S., Sharma, G. S., Sindhu, J. S., Kansal, V. K., & Sangwan, R. B. (2006). Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 625–631.
- Salinas, M. V., Zuleta, A., Ronayne, P., & Puppo, M. C. (2012). Wheat flour enriched with calcium and inulin: a study of hydration and rheological properties of dough. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 3129-3141. doi: 10.1007/s11947-011-0691-7
- Visentín, A. N., Drago, S. R., Osella, C. A., Torre, M. A., Sánchez, H. D., & González, R. J. (2009). Efecto de la adición de harina de soja y concentrado proteico de suero de queso sobre la calidad del pan y la dializabilidad de minerales. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 59 (3), 325-331.
- Weaver, M. C. (1998). Calcium in food fortification strategies. *International Dairy Journal*, 8, 443–449.
- Wahlqvist, M. L. (2008). National food fortification: A dialogue with reference to Asia: Policy in evolution. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17, 24–29.

Ziadeh, G., Shadarevian, S., Malek, A., Khalil, J., Haddad, T., Haddad, J., & Toufeili, I. (2005). Determination of sensory thresholds of selected calcium salts and formulation of calcium-fortified pocket-type Flat bread. *Journal of Food Science: Sensory and Nutritive Qualities of Food*, 70 (8), 548-552.

Tabela 1. Variáveis e níveis do delineamento fatorial 2².

Variáveis reais (g/100g)	Variáveis codificadas	Níveis das variáveis codificadas		
		-1	0	1
SLP ^a	x1	0	5	10
CaCO ₃	x2	0	1	2

^aSLP= soro de leite em pó; CaCO₃= carbonato de cálcio, em g/100g de farinha de trigo.

Tabela 2. Efeito da adição de soro de leite em pó e carbonato de cálcio nas características físico-químicas (pH, ATT, volume específico, umidade, atividade de água e teor de cálcio) dos pães de forma.

Ensaio	Variável codificada ^a		Variável real ^b		pH ^c	ATT ^c	Volume específico (cm ³ /g)	Umidade ^c (g/100g)	Atividade de água ^c	Cálcio ^c (mg/100g)
	x1	x2	SLP	CaCO ₃						
1	-1	-1	0	0	5,20±0,01	4,2±0,06	4,26	34,98±0,07	0,95±0,00	31,9±0,01
2	+1	-1	10	0	5,48±0,01	4,6±0,06	4,40	32,06±0,22	0,93±0,00	95,8±0,16
3	-1	+1	0	2	7,53±0,01	0,6±0,12	3,59	34,01±0,03	0,95±0,00	653,8±0,91
4	+1	+1	10	2	7,27±0,01	1,3±0,00	3,68	32,11±0,05	0,94±0,00	723,3±0,85
5	0	0	5	1	6,91±0,00	1,9±0,00	4,34	34,71±0,00	0,95±0,00	345,6±0,00
6	0	0	5	1	6,93±0,00	1,5±0,00	4,72	35,1±0,00	0,95±0,00	341,5±0,00
7	0	0	5	1	6,94±0,00	1,5±0,00	4,76	34,72±0,00	0,95±0,00	340,4±0,00

^aFatorial completo 2ⁿ e triplicata no ponto central (0), onde n = número de variáveis independentes, x1 = soro de leite em pó e x2 = carbonato de cálcio.

^bSoro de leite em pó (SLP); Carbonato de cálcio (CaCO₃).

^cOs resultados representam as médias das determinações em triplicata ± desvio padrão.

Tabela 3. Modelos matemáticos codificados para as respostas avaliadas.

Parâmetros	Modelos matemáticos codificados ^a
pH =	(6,61 ± 0,006) + (0,005SLP ± 0,008) + (1,03 CaCO₃ ± 0,008) – (0,135 SLP.CaCO₃ ± 0,008) (R ² = 0,89; Fcalc/Ftab = 2,34; p ≤ 0.05)
ATT (mL de NaOH 0.1 mol/L) =	(2,23 ± 0,09) + (0,28SLP ± 0,12) – (1,73CaCO₃ ± 0,12) + (0,08 SLP.CaCO₃ ± 0,12) (R ² = 0,86; Fcalc/Ftab = 1,79; p ≤ 0.05)
Volume específico =	(4,25 ± 0,09) + (0,06SLP ± 0,12) – (0,35CaCO₃ ± 0,12) – (0,01 SLP.CaCO₃ ± 0,12) (R ² = 0,39; Fcalc/Ftab = 0,10; p ≤ 0.05)
Umidade (%) =	(33,96 ± 0,08) – (1,21SLP ± 0,11) – (0,23 CaCO₃ ± 0,11) + (0,26 SLP.CaCO₃ ± 0,11) (R ² = 0,60; Fcalc/Ftab = 0,43; p ≤ 0.05)
Atividade de água =	(0,94 ± 0,0006) – (0,0075SLP ± 0,0008) – (0,0015CaCO₃ ± 0,0008) + (0,003SLP.CaCO₃ ± 0,0008) (R ² = 0,86; Fcalc/Ftab = 1,9; p ≤ 0.05)
Cálcio (mg/100g pão) =	(361,76 ± 1,04) + (33,34SLP ± 1,37) + (312,4CaCO₃ ± 1,37) + (1,39SLP.CaCO₃ ± 1,37) (R ² = 0,99; Fcalc/Ftab = 57,7; p ≤ 0.05)

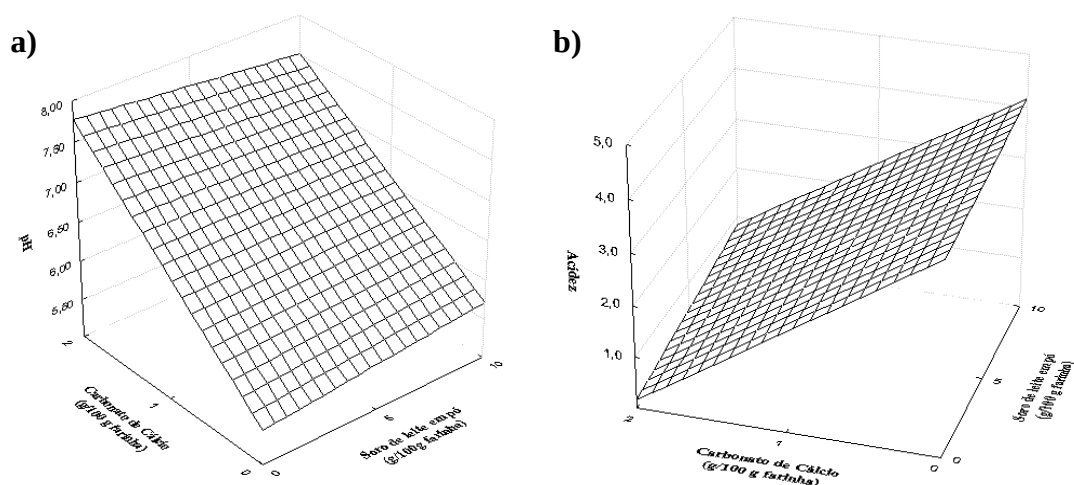
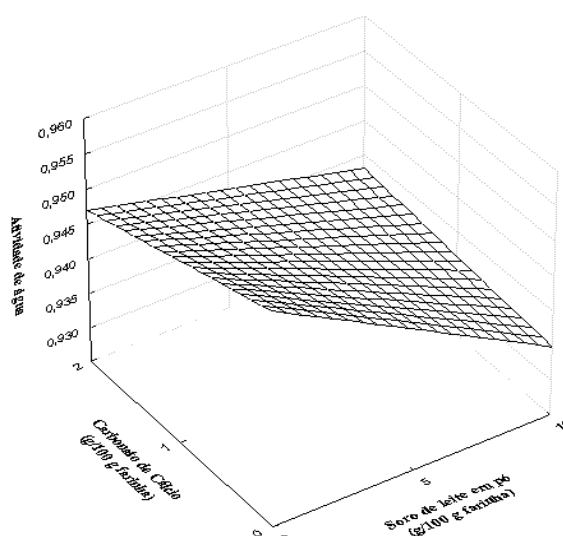
^aSLP = valor codificado (-1 a +1) das quantidades de soro de leite em pó; CaCO₃ = valor codificado (-1 a +1) das quantidades de carbonato de cálcio; R² = coeficiente de determinação; Fcalc = F calculado; Ftab = F tabelado.

Tabela 4. Escores médios do teste de aceitação sensorial dos pães de forma.

Atributos	E3 ^a	E4 ^a	E5 ^a
Aparência do pão inteiro	7,15 ^b ±1,10	7,19 ^b ±1,30	7,76 ^a ±0,85
Aparência da fatia	7,11 ^b ±1,14	7,15 ^b ±1,23	7,81 ^a ±0,93
Cor da casca	7,43 ^a ±0,84	7,48 ^a ±1,33	7,61 ^a ±1,05
Cor do miolo	7,26 ^b ±1,01	7,46 ^b ±1,18	8,07 ^a ±0,97
Aroma	6,89 ^b ±1,21	7,52 ^a ±1,26	7,74 ^a ±1,03
Sabor	6,83 ^b ±1,13	7,63 ^a ±1,34	7,46 ^a ±1,16
Umidade do miolo	6,72 ^b ±1,04	7,57 ^a ±1,37	7,19 ^a ±1,30
Maciez do miolo	6,76 ^b ±1,21	7,54 ^a ±1,53	7,28 ^a ±1,28
Aceitação global	6,94 ^b ±0,98	7,59 ^a ±1,00	7,54 ^a ±0,95

Média±desvio padrão das análises realizadas com 54 provadores não treinados.

^aE3, E4 e E5= experimentos 3(2% CaCO₃), 4 (10 % SLP + 2 % CaCO₃) e 5 (5 % SLP + 1 % CaCO₃). Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente (P<0.05) pelo Teste de Tukey.

**Fig. 1.** Superfícies de resposta para pH (a) e ATT (b) em função da adição de soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO₃) aos pães.**Fig. 2.** Superfície de resposta para a atividade de água em função da adição de soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO₃) aos pães.

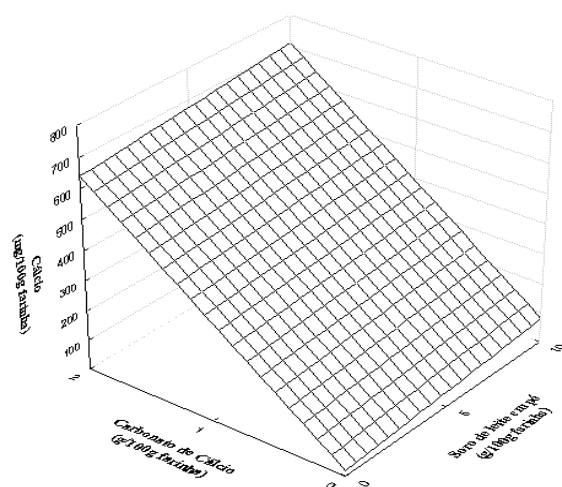


Fig. 3. Superfície de resposta para o teor de cálcio em função da adição de soro de leite em pó (SLP) e carbonato de cálcio (CaCO₃) aos pães.

ANEXO A - Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS da UFPB.

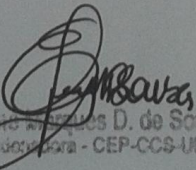


UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 6ª Reunião realizada no dia 19/09/2011, o projeto de pesquisa intitulado “INTERVENÇÃO NUTRICIONAL COM PÃO DE FORMA RICO EM CÁLCIO EM MULHERES NO CLIMATÉRIO”, da Pesquisadora Adriana de Sousa Lima. Protocolo nº. 0176/11.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionado à apresentação do resumo do estudo proposto à apresentação do Comitê.



Zilmar Aparecida D. de Souza
Coordenadora - CEP-CCS-UFPB

ANEXO B – Questionário utilizado no teste de aceitação sensorial dos pães.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

Nome: _____

Escolaridade: _____

TESTE DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DO PÃO DE FORMA

Por favor, avalie as amostras de pães de forma de acordo com as características citadas, usando a escala abaixo, indicando o quanto você **gostou** ou **desgostou** das amostras:

Características	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Aparência do pão inteiro			
Aparência da fatia			
Cor da casca			
Cor do miolo			
Aroma			
Sabor			
Umidade do miolo			
Maciez do miolo			
Aceitação global			

- 9- gostei extremamente
- 8- gostei moderadamente
- 7- gostei regularmente
- 6- gostei ligeiramente
- 5- nem gostei / nem desgostei
- 4- desgostei ligeiramente
- 3- desgostei regularmente
- 2- desgostei moderadamente
- 1- desgostei extremamente

OBRIGADA!

ANEXO C- Inquérito Recordatório Alimentar de 24 horas (R24h)

Dia da semana: _____ Data: ____/____/____			
Entrevistador: _____			
REFEIÇÕES/HORÁRIOS	ALIMENTOS	QUANTIDADE INGERIDA	ONDE CONSUMIU
DESJEJUM _____h			
LANCHE _____h			
ALMOÇO _____h			
LANCHE _____h			
JANTAR _____h			
CEIA _____h			

ANEXO D- Questionário Quantitativo de Frequência de Consumo Alimentar.

SOPAS e MASSAS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDADE	PORÇÃO MÉDIA(M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
	1 2 3 4	1 2 3 4		1 2 3 4	
Sopas (de legumes, canja, cremes etc.).	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 conchas médias (260ml)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Macarronada, lasanha.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 escumadeira rasa ou ½ prato (75 g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Pizza.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 pedaço médio (130g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Pastelaria, empada, esfiha, pastel, kibe, coxinha.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade ou 1 pedaço médio (60g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
CARNES E PEIXES	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDADE	PORÇÃO MÉDIA(M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
		1 2 3 4		1 2 3 4	
Peixe cozido, assado ou grelhado.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade grande ou 3 pedaços (100g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Peixe frito.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 posta média ou 1 filé médio (120 g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Carne de boi cozida, assada, grelhada, churrasco.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 fatias/pedaços ou 1 bife médio (100 g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Bife.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade grande (150g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Carne de charque, carne de sol.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 pedaço grande (60g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Lingüiça, salsicha, presunto, outros frios.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade, 1 gomo ou 2 fatias(40g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Frango frito, à milanesa, nuggets.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 pedaços ou 1 filé médio (90g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Frango guisado, grelhado, assado, espeto.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3-4 pedaços médios (120g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Miúdos de frango.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 pedaços(60g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Fígado bovino.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 filé médio (60 g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
LEGUMINOSAS E OVOS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDADE	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
		1 2 3 4		1 2 3 4	
Feijão roxo, carioca, preto, verde.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 concha média ou 4 colheres de sopa (90g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Ovos (cozido, cru, frito).	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade média (60g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Milho verde, ervilha, vagem (fresco, cong. ou enlatado).	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 colheres de sopa (60g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
ARROZ E TUBÉRCULOS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDADE	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
		1 2 3 4		1 2 3 4	
Arroz branco cozido com óleo e temperos.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3-4 colheres de sopa (90g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Batata frita ou mandioca frita.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 colheres de sopa (50g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Batata, mandioca, inhame - assado/cozido.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 pedaços médios(180g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Salada de maionese com legumes.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 colheres de sopa (90g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Batata doce ou abóbora.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 pedaços médios ou 1 unidade média (90g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Farofa, farinha de mandioca.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 colheres de sopa (30g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Cuscuz de milho ou com leite, angu, pirão, canjica.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 pedaço médio (135g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
LEITE E DERIVADOS, CEREAIS MATINAIS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDADE	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
		1 2 3 4		1 2 3 4	
Leite. Tipo: () integral () desnat. () semidesnat.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 copo (150 ml)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _
Açúcar adicionado ao leite. () N () E	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	3 colheres de chá (12g)	P M G E O O O O	__ _ _ _ _

Neston, aveia.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1,5 colher de sopa (18g)	P	M	G	E	
Iogurte ou coalhada tipo: () natural () com frutas	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo americano (165ml)	P	M	G	E	
Vitamina de leite ou leite batido com fruta.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo (150 ml)	P	M	G	E	
Queijo minas ou ricota, requeijão light. ()N ()E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 fatia peq. ou 1 colher de sopa rasa (20g)	P	M	G	E	
Queijo coalho, mant. prato, mussa, requeijão. ()N ()E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 fatias médias ou 1 colher de sopa (30g)	P	M	G	E	
VEGETAIS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDADE 1 2 3 4				PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO 1 2 3 4	↙ não escrever aqui ↘			
Alface.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 folhas médias (30g)	P	M	G	E	
Tomate cru.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade pequena ou 4 fatias (70g)	P	M	G	E	
Couve, espinafre, cozido.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 colheres de sopa (60g)	P	M	G	E	
Beterraba, crua ou cozida.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	4 fatias ou 2,5 colheres de sopa (50g)	P	M	G	E	
Cenoura crua ou cozida.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 fatias ou 2 colheres de sopa (30g)	P	M	G	E	
Pepino, pimentão.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 colheres de sopa (20g)	P	M	G	E	
MOLHOS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDADE 1 2 3 4				PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO 1 2 3 4	↙ não escrever aqui ↘			
Óleo, azeite ou vinagrete em saladas.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 colheres de sobremesa (15g)	P	M	G	E	
Catchup ou mostarda.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 colher de sopa (10g)	P	M	G	E	
Maionese, molho rosê (também em pães).	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 colher de sopa (15g)	P	M	G	E	
FRUTAS E SUCOS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDADE 1 2 3 4				PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO 1 2 3 4	↙ não escrever aqui ↘			
Laranja, mexerica.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2 unid. pequenas (180g)	P	M	G	E	
Banana.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade média (60g)	P	M	G	E	
Mamão.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 fatia grande ou meio papaya (180g)	P	M	G	E	
Maçã.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade média (130g)	P	M	G	E	
Melancia, melão.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 fatia média (150 g)	P	M	G	E	
Manga (na época).	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade grande (220g)	P	M	G	E	
Abacaxi.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	2,5 fatias médias (260g)	P	M	G	E	
Goiaba (na época).	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade pequena (60g)	P	M	G	E	
Suco de caju(na época). ()N ()E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo (200ml)	P	M	G	E	
Suco de acerola. ()N ()E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo (200ml)	P	M	G	E	
Suco de laranja natural. ()N ()E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo (200ml)	P	M	G	E	
Suco natural de outras frutas.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 copo (200ml)	P	M	G	E	
PÃES E BISCOITOS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDADE 1 2 3 4				PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO 1 2 3 4	↙ não escrever aqui ↘			
Pão francês, pão de forma, integral, pão doce, torrada.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	1 unidade ou 2 fatias (50g)	P	M	G	E	
Biscoito salgado, Biscoito doce <i>sem recheio</i> .	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	5 a 6 unidades (30g)	P	M	G	E	
Biscoito doce <i>recheado, amanteigado</i> .	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	D	S	M	A	3 unidades (40g)	P	M	G	E	

Margarina passada no pão () comum () <i>light</i> .	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	2 pontas de faca (5g)	P M G E O O O O	_____
Manteiga passada no pão.	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	2 pontas de faca (5g)	P M G E O O O O	_____
BEBIDAS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDADE 1 2 3 4	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO 1 2 3 4	↙ não escrever aqui ↘
Cerveja.	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 lata (350 ml) ou 2 copos americanos	P M G E O O O O	_____
Cachaça, whisky, vodka.	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	2 doses (60 ml)	P M G E O O O O	_____
Vinho.	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	2 cálices de vinho ou um copo (120 ml)	P M G E O O O O	_____
Café com açúcar. () N () E	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 xícara de chá grande (200 ml)	P M G E O O O O	_____
Café sem açúcar.	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 xícara de chá grande (200 ml)	P M G E O O O O	_____
Adoçante artificial.	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	3 a 4 gotas ou 1 envelope (0,8g)	P M G E O O O O	_____
DOCES, SOBREMESAS E APERITIVOS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDADE 1 2 3 4	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO 1 2 3 4	↙ não escrever aqui ↘
Chocolates, bombons, brigadeiro. () N () E	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	2 unidades ou 1 barra (30g)	P M G E O O O O	_____
Doces de frutas. () N () E	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 pedaço médio (60g)	P M G E O O O O	_____
Bolos e tortas. () N () E	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 fatia média (50g)	P M G E O O O O	_____
Sorvete. () N () E	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	2 picolés ou 1 taça (2 bolas) (120g)	P M G E O O O O	_____
Doce de abóbora ou goiabada (em lata ou caseiro. () N () E	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 pedaço pequeno (35g)	P M G E O O O O	_____
Pipoca, salgadinhos, <i>chips</i> , torresmo.	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 porção (45g)	P M G E O O O O	_____
Refrigerantes. Tipo: () não-dietéticos () dietéticos () N () E . Usa canudo ()	N O	1 O	2 O	3 O	4 O	5 O	6 O	7 O	8 O	9 O	10 O	D S M A O O O O	1 copo de 200 ml	P M G E O O O O	_____