

RAE - CEA - 9619
RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA
SOBRE O PROJETO: “APROVEITAMENTO DO AMIDO
DE ALIMENTOS: ESTUDOS EM HUMANOS E ANIMAIS”.

Carmen Diva Saldiva de André
Taro Nishimoto

São Paulo, novembro de 1996

CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA - CEA
RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA

TÍTULO: Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Aproveitamento do amido de alimentos: estudos em humanos e animais”.

PESQUISADORA: Prof^a. Dr^a. Elizabete Wendel de Menezes

INSTITUIÇÃO: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP

FINALIDADE: Publicação

RESPONSÁVEIS PELA ANÁLISE: Prof^a. Dr^a. Carmen Diva Saldiva de André
Taro Nishimoto

REFERÊNCIAS DESTE TRABALHO:

André, C. D. S., Nishimoto, T., *Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Aproveitamento do amido de alimentos: estudos em humanos e animais”*. São Paulo. IME-USP, 1996. (RAE-CEA-9619).

FICHA TÉCNICA

BIBLIOGRAFIA:

Brown, M. B. and Forsythe, A. B. (1974). The ANOVA and Multiple Comparisons for Data with Heterogeneous Variances. **Biometrics**, **30**, 719-724.

Bussab, W. O. e Morettin, P. A. (1990). **Estatística Básica**, 4^a ed., Editora Atual, São Paulo, SP.

Johnson, R. A. and Wichern, D. W. (1992). **Applied Multivariate Statistical Analysis**, 3rd ed., Prentice Hall, New Jersey.

Menezes, E. W. (1992). **Aproveitamento do Amido de Alimentos: Estudos em Humanos e Animais**, São Paulo, [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].

MINITAB for Windows - Reference Manual, Release 10 (1994). State College, PA: Minitab Inc.

Neter, J., Wasserman, W., Nachtsheim, C. J. and Kutner, M. H. (1996). **Applied Linear Statistical Models**, 4th ed., Irwin.

SAS Institute Inc. SAS Language Guide, Release 6.03 Edition. (1988) Cary, NC: SAS Institute Inc.

Snow, P. and O'Dea K. (1981). Factors affecting the rate of starch hydrolysis in food. **Am J Clin Nutr**, **34**, 2721-7.

SPSS/PC+ for Windows - Reference Manual, Release 6.0 (1993). SPSS Inc.

Winer, B. J. (1971). **Statistical Principles in Experimental Design**, 2nd ed., McGraw-Hill.

PROGRAMAS COMPUTACIONAIS: SAS for Windows - versão 6.08
 SPSS for Windows - versão 6.0
 MINITAB for Windows - versão 10.2
 EXCEL for Windows 95 - versão 7.0
 WORD for Windows 95 - versão 7.0
 POWER POINT for Windows - versão 4.0

TÉCNICAS ESTATÍSTICAS UTILIZADAS:

[Entre parênteses encontra-se a Classificação “Statistical Theory & Method Abstracts” (ISI)]

Análise Descritiva Unidimensional	(03:010)
Análise de Conglomerados	(06:120)
Análise de Regressão Clássica	(07:020)
Análise de Variância com Efeitos Fixos	(08:010)
Análise de Variância com Efeitos Fixos (Medidas Repetidas)	(08:010)
Comparações Múltiplas	(08:090)
Outros	(08:990)

ÁREA DE APLICAÇÃO:

Bioestatística	(14:030)
----------------	----------

ÍNDICE

RESUMO	6
1. INTRODUÇÃO	7
2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO	7
2.1. EXPERIMENTO COM ANIMAIS “IN VIVO”	7
2.2. EXPERIMENTO COM HUMANOS “IN VIVO”	9
2.3. HIDRÓLISE DO AMIDO “IN VITRO”	11
3. DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS	11
3.1. VARIÁVEIS INDEPENDENTES (FATORES)	11
3.2. VARIÁVEIS DEPENDENTES	12
4. OBJETIVOS DO ESTUDO	12
5. ANÁLISE DESCRITIVA	12
5.1. EXPERIMENTO COM ANIMAIS “IN VIVO”	13
5.2. EXPERIMENTO COM HUMANOS	16
5.3. RELAÇÃO ENTRE HIDRÓLISE “IN VITRO” E ÁREA GLICÊMICA	18
6. ANÁLISE INFERENCIAL	19
6.1. EXPERIMENTOS COM ANIMAIS “IN VIVO”	19
6.2. EXPERIMENTO HUMANOS I “IN VIVO”	21
6.3. EXPERIMENTO HUMANOS II “IN VIVO”	22
6.4. ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE RESPOSTA GLICÊMICA “IN VIVO” E “IN VITRO” EM EXPERIMENTOS COM HUMANOS E ANIMAIS	23
7. CONCLUSÕES	28
7.1. EXPERIMENTO COM ANIMAIS “IN VIVO”	28
7.2. EXPERIMENTO HUMANOS I “IN VIVO”	28
7.3. EXPERIMENTO HUMANOS II “IN VIVO”	28
7.4. ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE RESPOSTA GLICÊMICA “IN VIVO” E “IN VITRO” EM EXPERIMENTOS COM HUMANOS E ANIMAIS	29
APÊNDICE A	30
APÊNDICE B	33
APÊNDICE C	35
APÊNDICE D	37
APÊNDICE E	39

RESUMO

O aproveitamento do amido tem sido avaliado através da sua velocidade de digestão e absorção, que altera as respostas glicêmicas produzidas após sua digestão.

Do ponto de vista clínico, os efeitos dos alimentos sobre os níveis plasmáticos de insulina são de grande importância na prevenção e controle da diabetes e de hiperlipidemias.

Neste estudo analisamos o efeito do amido presente em alimentos brasileiros na resposta glicêmica de humanos e animais, com o objetivo de agrupar os alimentos que produzem respostas glicêmicas iguais. Analisamos, também, a correlação entre as respostas glicêmicas produzidas por experimentos “in vivo” e “in vitro” com a finalidade de estabelecer uma relação funcional entre esses experimentos.

No experimento com animais, foram considerados 16 alimentos. Dentre eles destacam-se dois grupos, um com 10 e outro com 4 alimentos que produziram respostas glicêmicas médias diferentes. Dois experimentos com humanos foram realizados. No primeiro, consideraram-se 4 dietas e detectou-se diferença apenas na resposta glicêmica média de duas delas. No segundo experimento foram analisados os efeitos de 3 dietas, não sendo detectadas diferenças entre as suas respostas glicêmicas.

Paralelamente foi executado um experimento “in vitro” com os mesmos alimentos analisados em animais e humanos.

Na análise de correlação entre as respostas “in vivo” e “in vitro” foram estabelecidos modelos de regressão linear para explicar a relação entre os dois tipos de respostas nos experimentos com humanos e com animais. Concluímos que as retas de regressão nos dois experimentos são paralelas e não coincidentes, o que significa que para qualquer resposta “in vitro”, a resposta “in vivo” para humanos é igual à resposta “in vivo” para animais acrescida de uma constante.

1. INTRODUÇÃO

O aproveitamento de amido por humanos e animais tem sido avaliado através da sua velocidade de digestão e absorção, que altera as respostas glicêmicas produzidas após sua digestão: o alimento com amido é digerido e absorvido lentamente, produzindo reduzida resposta pós-prandial, com redução na liberação da insulina plasmática, o que aumenta a resposta glicêmica.

Do ponto de vista clínico, os efeitos dos alimentos sobre os níveis plasmáticos de insulina são de grande importância na prevenção e controle da diabetes e de hiperlipidemias.

Esse estudo foi realizado para avaliar o efeito do amido presente em alimentos brasileiros na resposta glicêmica de ratos e humanos, com o objetivo de determinar quais são os alimentos que provocam maior e menor resposta glicêmica. Deseja-se também, correlacionar a resposta glicêmica ao amido medida através de uma análise “in vivo” com a obtida em uma análise “in vitro” (realizada em laboratório) em experimentos envolvendo humanos e animais.

2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO

2.1. EXPERIMENTO COM ANIMAIS “IN VIVO”

Um experimento “in vivo” com ratos, considerando dezesseis tipos de alimentos com amido (polenta, pão de forma, arroz branco, extrusado de milho, pão branco, curau, batata, farinha de milho, beiju, macarrão, canjica, farinha de mandioca crua, mandioca, feijão Carioca, feijão Fradinho e farelo de trigo) foi realizado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Dispunham-se de dezesseis grupos de ratos, compostos de 4 a 12 animais. A cada grupo foi ministrada de forma aleatória, por sonda, uma quantidade de um dos dezesseis alimentos contendo 200 mg de hidrato de carbono por 100 g de massa corporal do animal. A resposta glicêmica foi avaliada

coletando-se amostras de sangue em quatro instantes distintos: 30 min, 60 min, 120 min e 180 min após a ingestão dos alimentos. Os valores do nível de glicose (m mol/l) foram marcados em gráficos para cada animal e traçou-se a curva glicêmica. Um grupo distinto de animais foi utilizado para medir a glicemia no ponto de jejum. A média das glicemias neste grupo foi considerada como a resposta no instante zero para os demais grupos. A Figura 2.1 ilustra as etapas do experimento. A variável de interesse é a área entre a curva glicêmica e a reta horizontal que passa no ponto de jejum (Figura 2.2). Esta variável é uma medida resumo da glicemia de cada animal. Os dados obtidos são apresentados na Tabela A1.

Figura 2.1. Ilustração das etapas do experimento com animais.

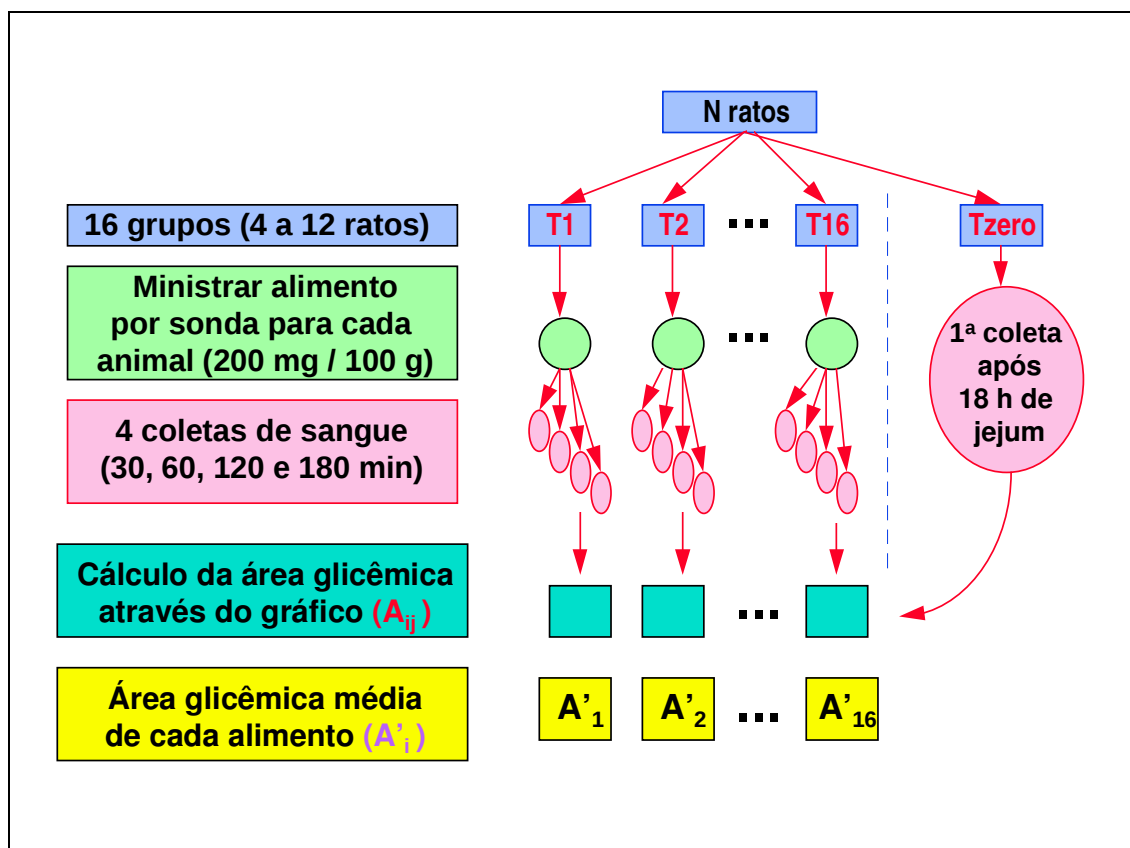
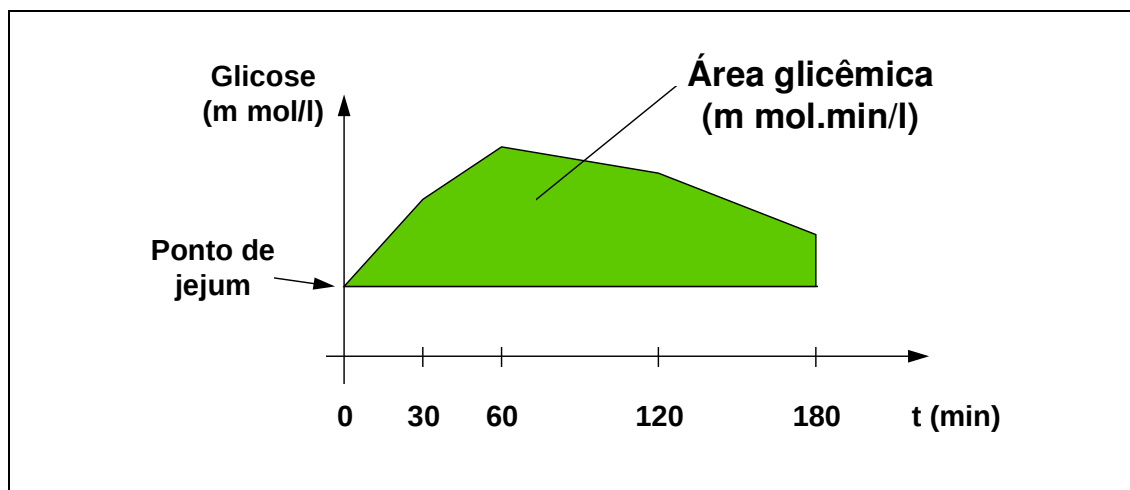


Figura 2.2. Representação gráfica da medida resumo *Área glicêmica* em animais.



2.2. EXPERIMENTO COM HUMANOS “IN VIVO”

A análise “in vivo” com humanos, feita no hospital clínico da Escola de Medicina de Ribeirão Preto, foi realizada em dois grupos distintos de indivíduos, denominados Humanos I e Humanos II. Os grupos foram formados por indivíduos saudáveis do sexo masculino. Inicialmente cada indivíduo recebeu 50 g de glicose para um teste de tolerância, sendo incluídos no estudo os que apresentaram tolerância normal à glicose. Receberam então, de forma aleatória e em dias alternados, tipos diferentes de dietas contendo 50 g de hidrocarboneto. Em cada dia foram coletadas amostras de sangue em intervalos de 30 min, num período de três horas, após o início da degustação, para determinar o nível de glicose no plasma (Figura 2.3). A variável de interesse é a área entre a curva glicêmica e a reta horizontal que passa pelo ponto de jejum (Figura 2.4).

No experimento Humanos I, o grupo foi composto por sete indivíduos que receberam quatro tipos de dieta: polenta, arroz branco, arroz com feijão (Carioca), feijão (Carioca) com casca. No experimento Humanos II, o grupo foi composto por cinco indivíduos com três dietas distintas: polenta, feijão com casca (Carioca) e feijão sem casca (Carioca). Os dados obtidos são apresentados nas Tabelas A2 e A3.

Figura 2.3. Ilustração das etapas do experimento Humanos I.

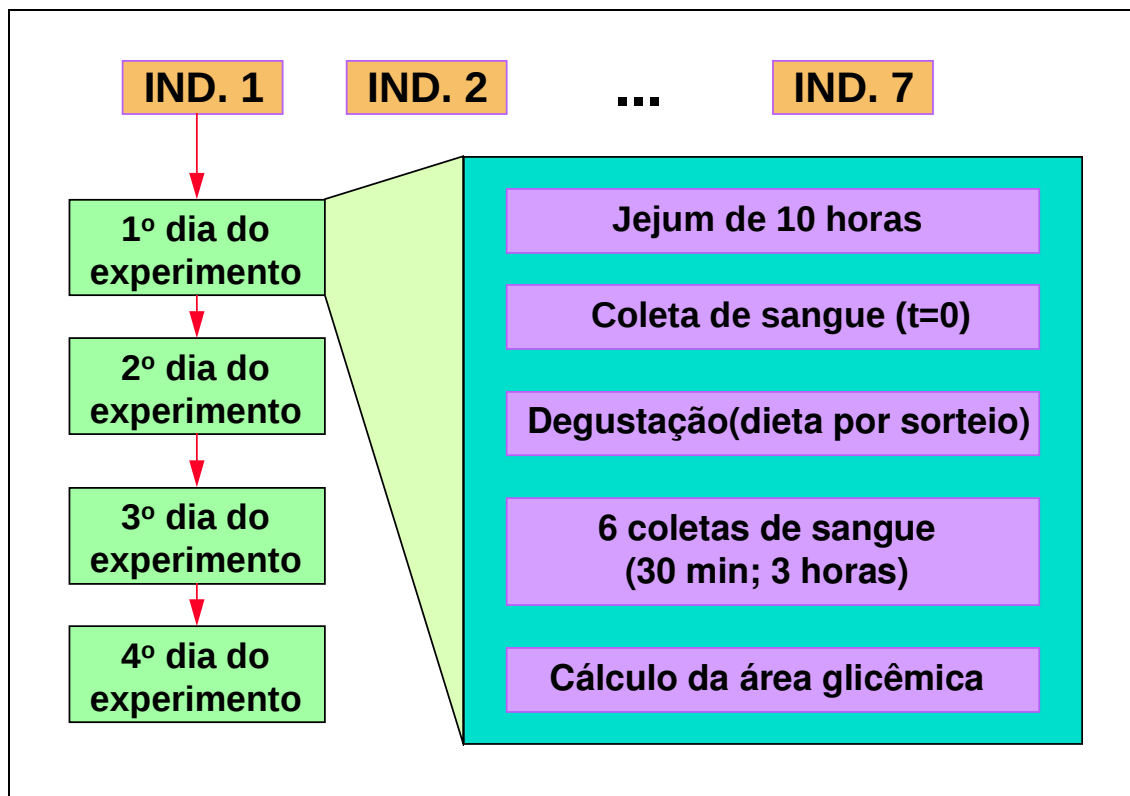
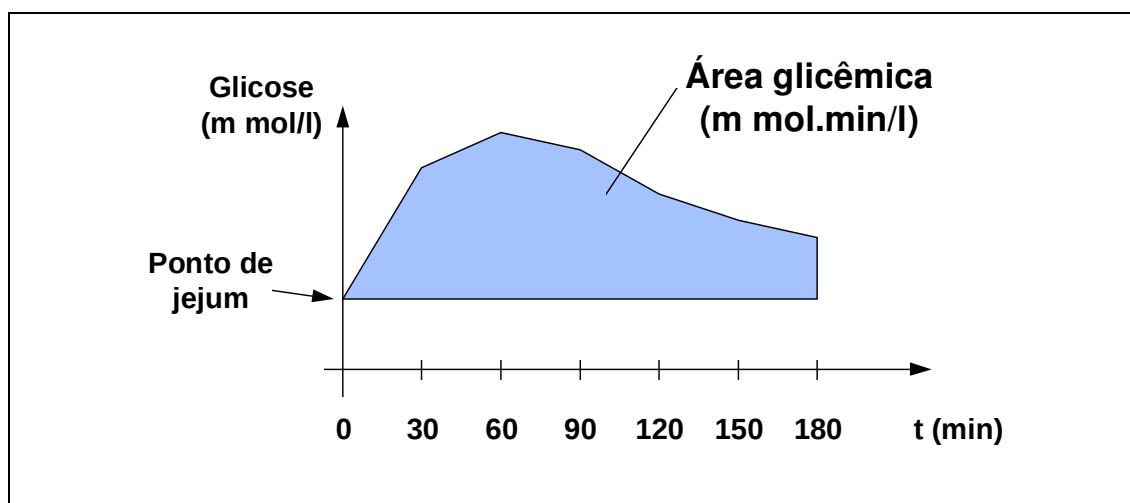


Figura 2.4. Representação gráfica da medida resumo *Área glicêmica* em humanos.



2.3. HIDRÓLISE DO AMIDO “IN VITRO”

A velocidade de hidrólise do amido “in vitro” é definida como sendo a porcentagem de amido disponível hidrolisado após 30 min de incubação a 50 °C com amiloglucosidase. Este método foi descrito por Snow e O’Dea (1981) e baseia-se na técnica de quantificação do amido disponível.

As amostras dos dezesseis alimentos considerados no experimento com animais “in vivo” e das dietas utilizadas nos dois experimentos com seres humanos contendo exatamente 200 mg de hidrato de carbono foram hidrolisadas, fornecendo os valores em porcentagem apresentados nas Tabelas A4 e A5.

3. DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS

3.1. VARIÁVEIS INDEPENDENTES (FATORES)

Alimento (experimentos com animais “in vivo” e hidrólise “in vitro”): 16 tipos de alimento: polenta, pão de forma, arroz branco, extrusado de milho, pão branco, curau, batata, farinha de milho, beiju, macarrão, canjica, farinha de mandioca crua, mandioca, feijão Carioca, feijão Fradinho e farelo de trigo.

Dieta (experimentos com humanos “in vivo” e hidrólise “in vitro”): 7 dietas ao todo, sendo quatro dietas para experimentos com Humanos I (polenta, arroz branco, arroz com feijão (Carioca), feijão (Carioca) com casca) e três para Humanos II (polenta, feijão com casca (Carioca) e feijão sem casca (Carioca)).

Indivíduo : em Humanos I temos 7 indivíduos (1, 2, ..., 7);
em Humanos II temos 5 indivíduos (1, 2, ..., 5).

3.2. VARIÁVEIS DEPENDENTES

Área glicêmica (em m mol.min/litro): área entre a curva glicêmica e a reta horizontal que passa pelo ponto de jejum. A área glicêmica é uma medida resumo da glicemia do indivíduo.

Amido hidrolisado (em %): porcentagem de amido disponível hidrolisado, de alimento ou dieta, após 30 min de incubação a 50 °C com amiloglucosidase.

4. OBJETIVOS DO ESTUDO

Os objetivos do estudo são:

1. Agrupar alimentos com respostas glicêmicas próximas, em experimentos com humanos e animais “in vivo”.
2. Correlacionar a resposta glicêmica ao amido de alimentos obtida na análise “in vivo” com a da análise “in vitro” realizada em laboratório, em humanos e animais.

5. ANÁLISE DESCRITIVA

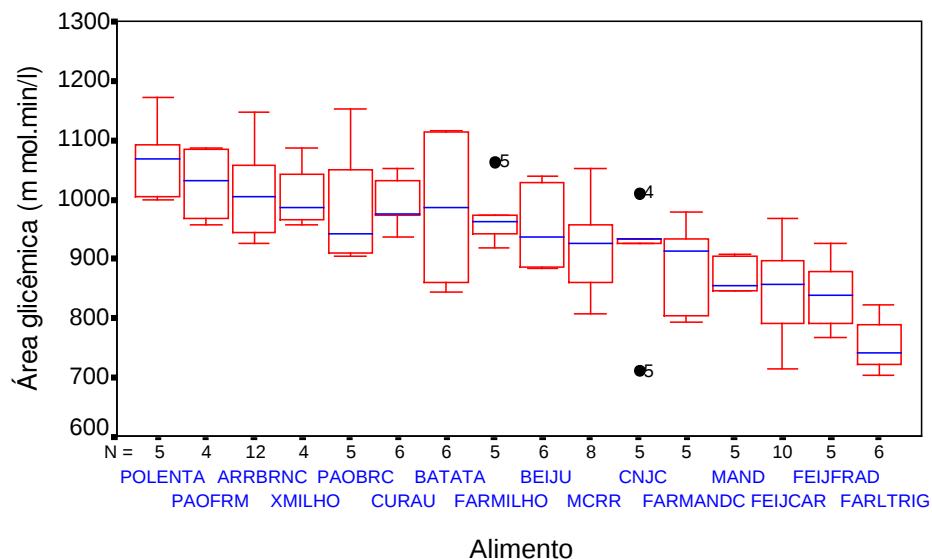
Vamos descrever os resultados obtidos nos experimentos através da construção de tabelas e gráficos que nos fornecem informações sobre a distribuição dos dados e a existência de valores aberrantes (*outliers*).

5.1. EXPERIMENTO COM ANIMAIS “IN VIVO”

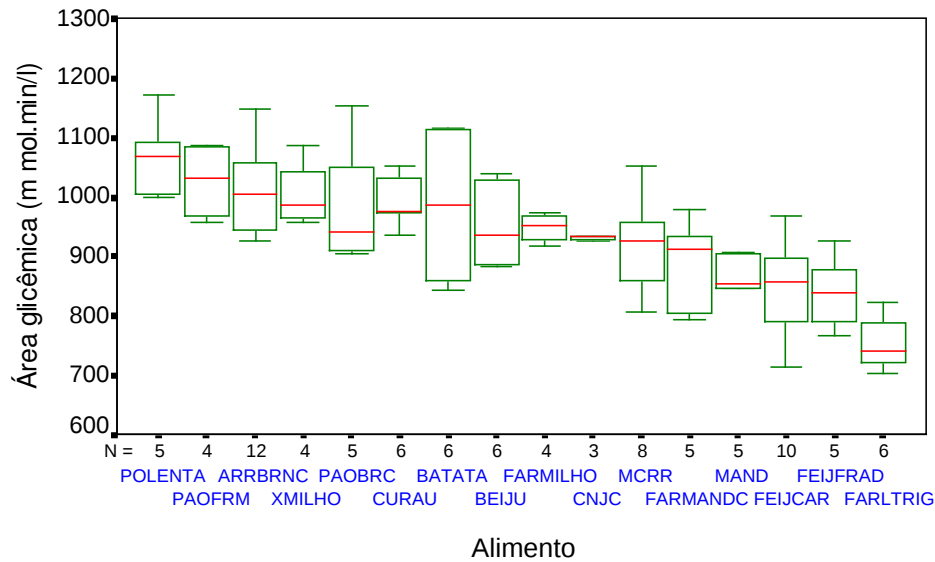
No Gráfico 5.1 apresentamos os *boxplots* (Bussab e Morettin (1990)) da área glicêmica nos dezesseis alimentos¹. Esse gráfico aponta a existência de três dados discrepantes: a observação 5 da farinha de milho e as observações 4 e 5 da canjica. Após consulta à pesquisadora, esses dados foram suprimidos do estudo e construímos o Gráfico 5.2. Este gráfico sugere que a dispersão dos valores observados da área glicêmica, bem como o seu valor mediano não são os mesmos para todos os alimentos.

Estatísticas descritivas da variável área glicêmica nos dezesseis alimentos, após a retirada de valores discrepantes, são apresentadas na Tabela B1. No Gráfico 5.3 representamos as médias amostrais e os respectivos erros padrão. Esses procedimentos sugerem que as áreas glicêmicas médias e as dispersões nos alimentos estudados não são iguais.

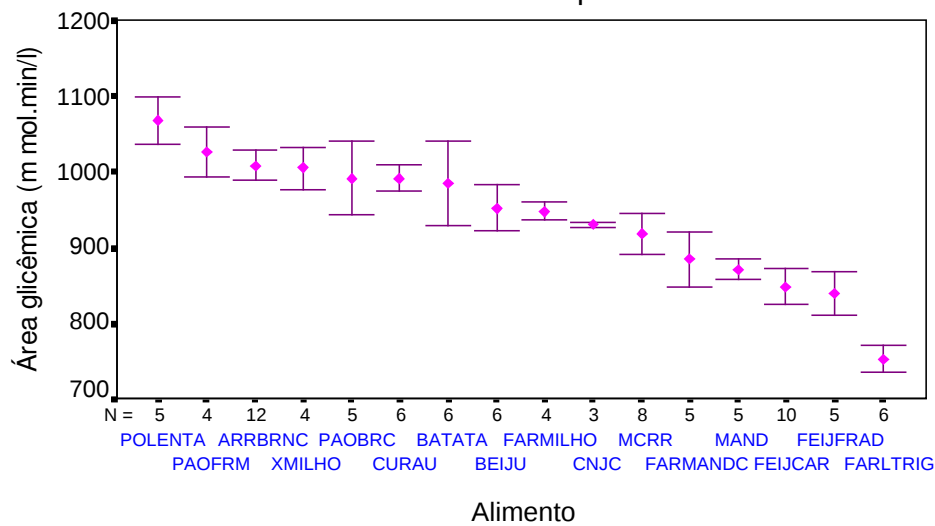
Gráfico 5.1. Boxplot - Experimento com Animais “in vivo”



¹ Para a confecção dos gráficos, os alimentos e as dietas foram codificadas conforme as Tabelas C1 e C2 do Apêndice C.

Gráfico 5.2. Boxplot - Experimento com Animais “in vivo”**Gráfico 5.3.** Experimento com Animais “in vivo” (m mol.min/l)

Média +/- erro padrão

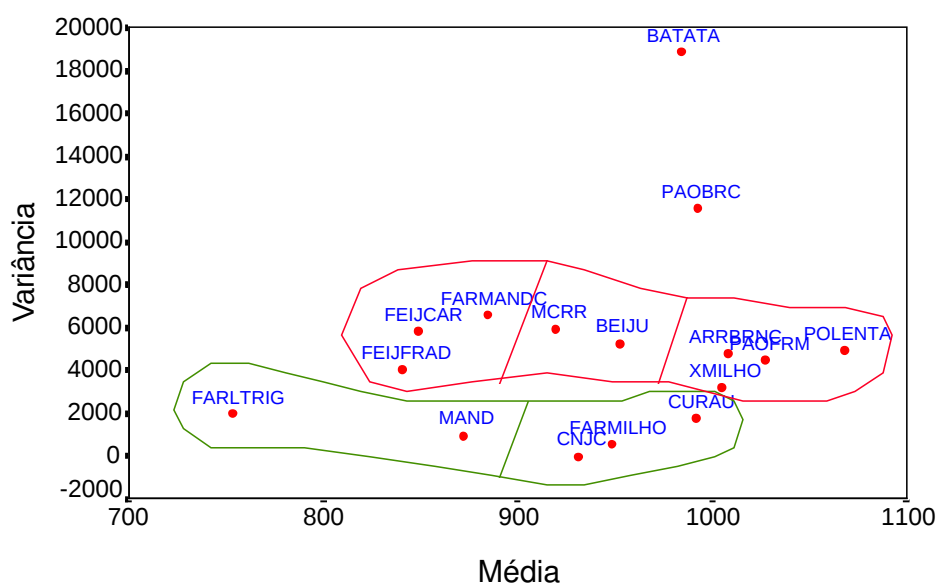


Uma forma exploratória de agrupar os alimentos com respostas glicêmicas próximas é, inicialmente, formar grupos de alimentos com variâncias iguais. Em seguida, dentro de cada grupo, formar agrupamentos de alimentos que apresentam áreas glicêmicas médias próximas. Isto foi realizado através do método do centróide de

análise de agrupamentos (Johnson e Wichern (1992)) e obtivemos os seguintes resultados:

- Grupo A (variâncias iguais):
Grupo A1: Curau, farinha de milho e canjica;
Grupo A2: Mandioca e farelo de trigo.
- Grupo B (variâncias iguais):
Grupo B1: Polenta, pão de forma, arroz branco e extrusado de milho;
Grupo B2: Beiju e macarrão;
Grupo B3: Farinha de mandioca, feijão Carioca e feijão Fradinho.
- Pão branco (Grupo C) e batata (Grupo D) têm variâncias distintas dos demais alimentos. Estes resultados foram esquematizados na Figura 5.1.

Figura 5.1. Agrupamento dos alimentos segundo as médias e variâncias de suas área glicêmicas.



5.2. EXPERIMENTO COM HUMANOS

Nos Gráficos 5.4 e 5.5 apresentamos os *boxplots* da área glicêmica nos experimentos Humanos I e Humanos II, respectivamente. O Gráfico 5.4 aponta a existência de dois dados discrepantes (as observações número 4 e 5 da dieta *arroz branco*). Estes dados, entretanto, não foram considerados aberrantes pela pesquisadora, o que nos levou a mantê-los no estudo. Nos dois experimentos observamos que a dieta *polenta* possui mediana da área glicêmica maior que as outras dietas, enquanto que o *feijão com casca* apresenta o menor valor mediano.

Nos Gráficos 5.6 e 5.7 representamos a área glicêmica de cada indivíduo nas dietas a que foram submetidos.

Tabelas com estatísticas descritivas para os dois experimentos são apresentadas no Apêndice B (Tabelas B2 e B3). Notamos que a área glicêmica média observada com a dieta *polenta* é maior que a das outras dietas, e o *feijão com casca* apresenta menor valor médio observado da área glicêmica nos dois experimentos.

Gráfico 5.4. Boxplot - Experimento Humanos I “in vivo”

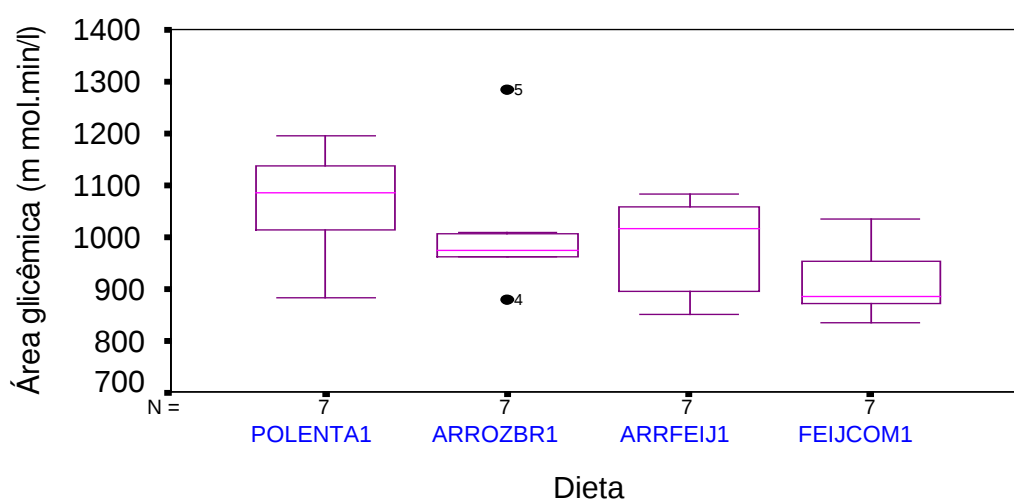
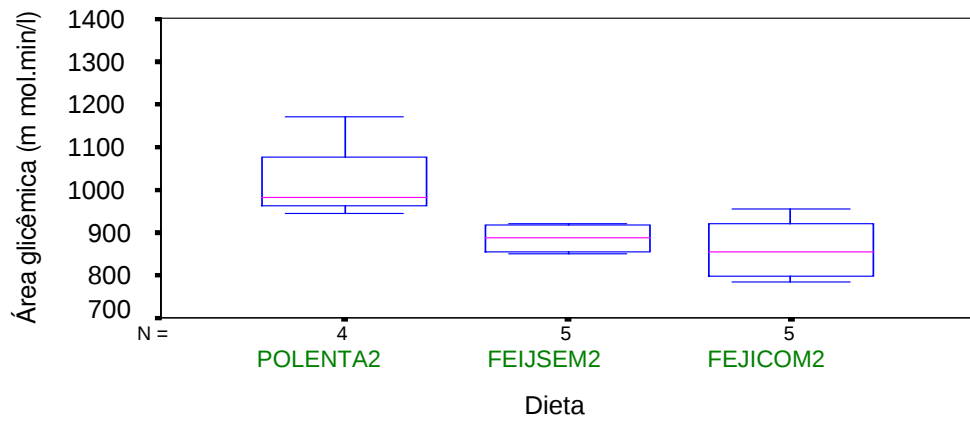
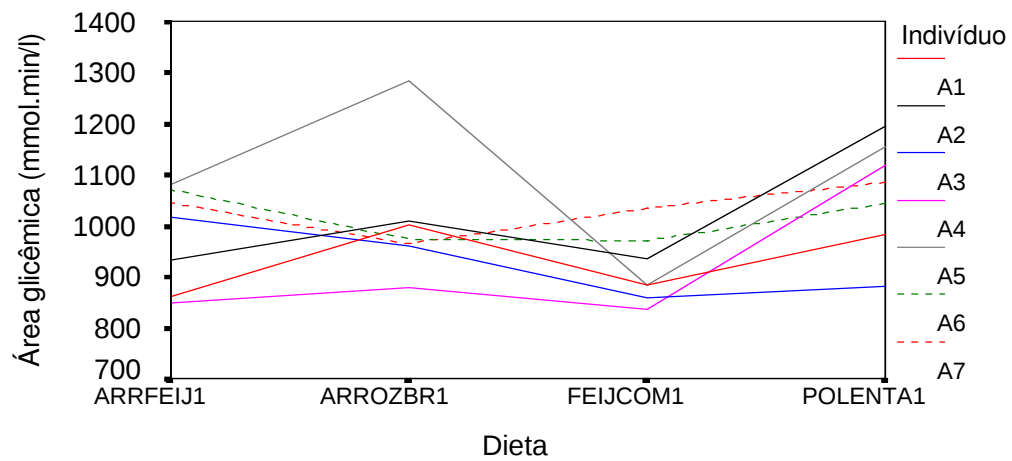
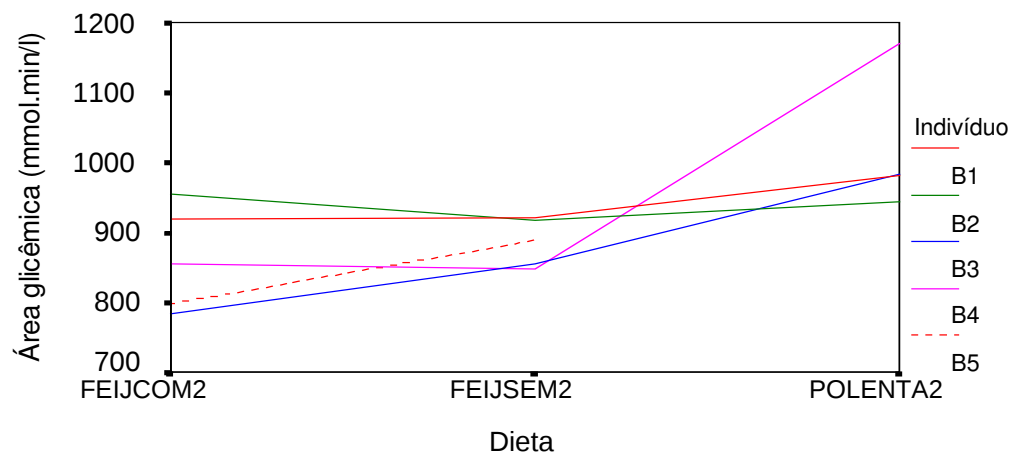
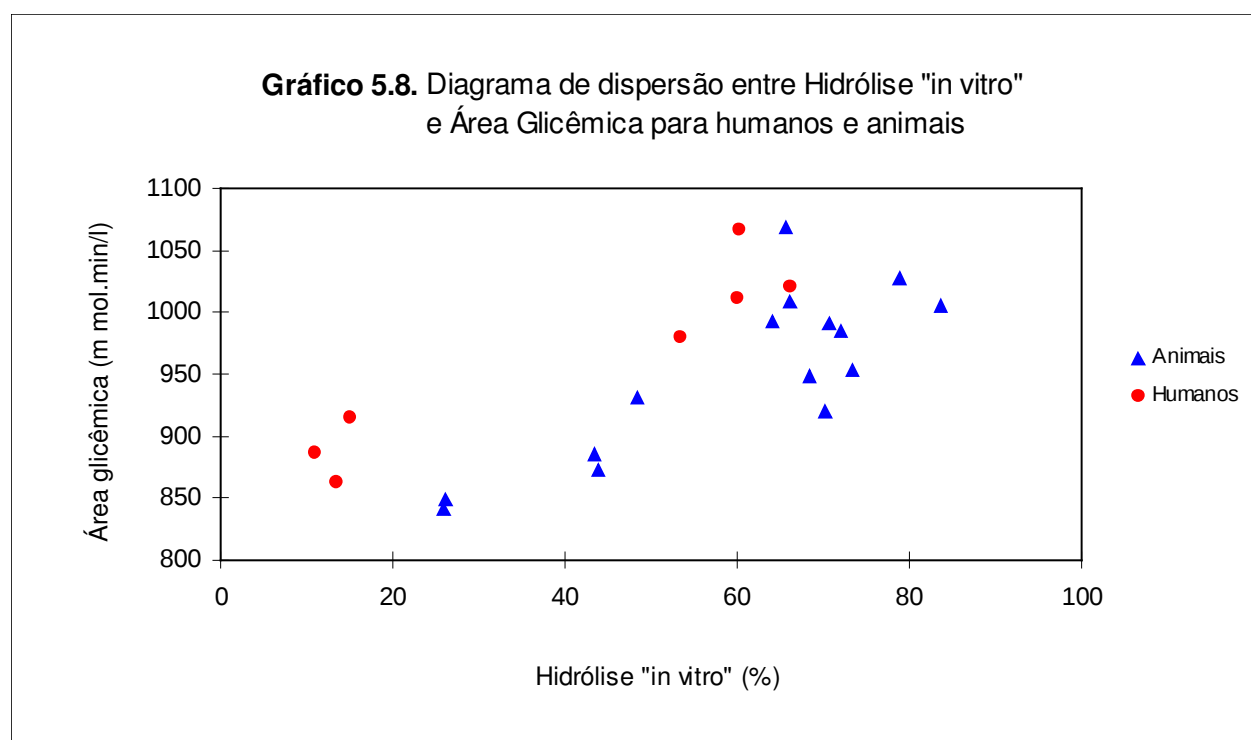


Gráfico 5.5. Boxplot - Experimento Humanos II “in vivo”**Gráfico 5.6. Experimento Humanos I “in vivo”****Gráfico 5.7. Experimento Humanos II “in vivo”**

5.3. RELAÇÃO ENTRE HIDRÓLISE “IN VITRO” E ÁREA GLICÊMICA

No Gráfico 5.8 representamos os diagramas de dispersão entre as variáveis hidrólise “in vitro” e área glicêmica para humanos e animais. As coordenadas de cada ponto são a porcentagem de amido hidrolisado “in vitro” e a área glicêmica média observada “in vivo” obtidas em cada alimento ou dieta. O gráfico sugere a existência de uma correlação linear positiva entre as duas variáveis. Uma medida dessa correlação é dada pelo coeficiente de correlação linear de Pearson, cujo valor observado para os humanos é $r = 0,94$ ($p=0.002$) e para animais é $r = 0,81$ ($p<0.001$), que indicam alta correlação nos dois casos.



6. ANÁLISE INFERENCIAL

6.1. EXPERIMENTOS COM ANIMAIS “IN VIVO”

- Objetivo

Agrupar os alimentos que apresentam respostas glicêmicas médias estatisticamente iguais.

- Descrição da Análise Estatística

Inicialmente analisamos os efeitos dos 16 alimentos na área glicêmica média, adotando para isto um modelo de análise de variância com um fator fixo (ver, por exemplo, Neter et al. (1996)). Esse modelo supõe que as áreas glicêmicas observadas correspondem a amostras independentes (16 amostras) de populações normais com a mesma variância. A validade dessas suposições foi verificada antes do prosseguimento da análise.

A análise descritiva dos dados indicou heterocedasticidade (Tabela B1), ou seja, as variâncias das áreas glicêmicas nos diferentes alimentos não são iguais. Esta indicação foi confirmada inferencialmente através do Teste de Levene para Igualdade de Variâncias ($p < 0.001$).

O gráfico de probabilidade normal (Neter et al. (1996)) (Figura D1) apresenta uma tendência linear entre os resíduos padronizados e seus valores esperados sob a hipótese de normalidade, o que indica que os dados provêm de distribuições normais. Este fato foi confirmado pelo Teste de Shapiro-Wilk (Neter et al. (1996)) no qual a hipótese de normalidade não foi rejeitada ao nível de significância de 1%.

O procedimento completamente aleatorizado adotado no experimento sugere a validade da suposição de independência.

Como apenas a suposição de igualdade de variâncias não está satisfeita, comparamos as áreas glicêmicas nos diferentes alimentos através da técnica de

Análise de Variância, adotando as modificações propostas por Brown e Forsythe (1974). Obtivemos que as áreas glicêmicas médias não são iguais ($p < 0.001$).

Para localizar as diferenças existentes, fizemos comparações múltiplas entre as médias duas a duas pelo método de Tukey (Neter et al. (1996)), com as correções propostas por Brown e Forsythe (1974) para experimentos nos quais não é válida a suposição de igualdade de variâncias nos tratamentos.

- Resultados

Analisando a matriz de contrastes dos 16 alimentos (Figura E1), notamos que se destacam dois grupos de alimentos dentro dos quais os alimentos produzem áreas glicêmicas médias iguais:

Grupo 1: *Polenta, Pão de Forma, Arroz Branco, Extrusado de Milho, Pão Branco, Curau, Batata, Beiju, Farinha de Milho e Canjica.*

Grupo 2: *Farelo de Trigo, Feijão Fradinho, Feijão Carioca e Mandioca.*

Os alimentos do *Grupo 1* apresentaram área glicêmica média maior que os alimentos do *Grupo 2*.

Os alimentos *Farinha de Mandioca* e *Macarrão* apresentaram respostas glicêmicas médias estatisticamente iguais aos alimentos dos dois grupos.

6.2. EXPERIMENTO HUMANOS I “IN VIVO”

- Objetivo

Avaliar o efeito das dietas *Polenta*, *Arroz Branco*, *Arroz com Feijão* e *Feijão com Casca* na resposta glicêmica média em humanos, e agrupar as dietas que produzem respostas glicêmicas médias estatisticamente iguais.

- Descrição da Análise Estatística

O estudo consistiu em medir a área glicêmica de um mesmo indivíduo em diferentes dietas que foram oferecidas de forma aleatorizada. Portanto, o plano experimental adotado foi o de medidas repetidas (Neter et al. (1996)).

O modelo de análise de variância correspondente a esse plano supõe que as observações em cada dieta correspondem a amostras de distribuições normais com a mesma variância. O gráfico de resíduos apresentado na Figura D2 indica a validade da suposição de homocedasticidade. O gráfico de probabilidade normal dos resíduos não sugere desvios da normalidade (Figura D3).

O padrão uniforme requerido pelo modelo para a matriz de variâncias e covariâncias das observações em um mesmo indivíduo foi avaliado através do teste de esfericidade (Winer (1974)). Não tivemos evidências para rejeitar o padrão uniforme ($p=0.694$).

Utilizando a técnica de Análise de Variância com Medidas Repetidas, comparamos as áreas glicêmicas médias das dietas e constatamos que elas não são iguais ($p=0.038$). Finalmente, testamos a igualdade das médias duas a duas pelo método de Tukey. Ao aplicarmos esse método, consideramos a possibilidade de existir correlação entre medidas feitas em um mesmo indivíduo.

- Resultados

Detectamos diferença significativa entre as áreas glicêmicas médias produzidas pelas dietas *Polenta* e *Feijão com Casca*, ao nível de significância de 5%.

6.3. EXPERIMENTO HUMANOS II “IN VIVO”

- Objetivo

Nesta seção, como na anterior, vamos agrupar as dietas que apresentam respostas glicêmicas médias estatisticamente iguais.

- Descrição da Análise Estatística

O plano experimental utilizado, assim como em Humanos I, foi o de medidas repetidas e, portanto, a metodologia estatística adotada foi idêntica à da análise desse experimento.

O modelo de análise de variância correspondente a esse plano supõe que as observações em cada dieta correspondem a amostras de distribuições normais com a mesma variância. Nas Figuras D4 e D5, os gráficos dos resíduos não sugerem indícios de desigualdade de variâncias e desvios da normalidade. Notemos que o número de observações é muito pequeno, apenas 12 observações.

O padrão de esfericidade requerido pelo modelo para a matriz de variâncias e covariâncias das observações em um indivíduo foi verificado através do teste de esfericidade e aceito ($p=0.056$).

Utilizando a técnica de Análise de Variância com Medidas Repetidas, comparamos as áreas glicêmicas médias das dietas e constatamos que não há evidências para rejeitar a hipótese de igualdade de médias ($p=0.087$).

Convém lembrar que neste experimento há uma observação perdida (área glicêmica da polenta no indivíduo 5), o que nos levou a efetuar a análise com apenas 4 indivíduos.

- Resultados

Não tivemos evidências para rejeitar a hipótese de igualdade das médias glicêmicas nas 3 dietas.

6.4. ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE RESPOSTA GLICÊMICA “IN VIVO” E “IN VITRO” EM EXPERIMENTOS COM HUMANOS E ANIMAIS

- Objetivo

Investigar a existência de relações funcionais entre as variáveis *resposta glicêmica ‘in vivo’* e *resposta glicêmica ‘in vitro’* em experimentos com humanos e animais e compará-las.

- Descrição da Análise Estatística

O diagrama de dispersão apresentado no gráfico 5.8 sugere a existência de uma relação linear entre as áreas glicêmicas “in vitro” e “in vivo” nos experimentos com animais e humanos. Assim, inicialmente consideramos um modelo no qual a relação entre as variáveis nos dois experimentos é linear, mas permite que as duas retas tenham interceptos e inclinações distintas. Esse modelo é dado por:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i1} X_{i2} + \varepsilon_i \quad (6.1)$$

onde

Y_i : área glicêmica, em m mol.min/l (experimentos 'in vivo');

X_{i1} : porcentagem de amido hidrolisado (experimentos 'in vitro');

$$X_{i2} = \begin{cases} 1, & \text{se experimento com humanos} \\ 0, & \text{se experimento com animais} \end{cases}$$

ε_i : erro casual.

Para interpretar os parâmetros do modelo, notemos que, quando $X_{i2}=0$, o modelo se refere ao experimento com animais e se reduz a:

$$Y_{i, \text{ANIMAIS}} = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \varepsilon_i ,$$

para $X_{i2}=1$, o modelo se refere ao experimento com humanos e pode ser escrito como:

$$Y_{i, \text{HUMANOS}} = (\beta_0 + \beta_2) + (\beta_1 + \beta_3) X_{i1} + \varepsilon_i$$

Assim,

β_0 : representa a área glicêmica média quando a porcentagem de amido hidrolisado é zero para o grupo Animais;

β_1 : é a variação média na área glicêmica para a variação de uma unidade de porcentagem de amido hidrolisado;

β_2 e β_3 : são “acréscimos” em β_0 e β_1 ao passarmos do grupo Animais para o grupo Humanos.

O modelo ajustado através do método de mínimos quadrados é:

$$\hat{Y}_i = 726.32 + 3.63 X_{i1} + 124.41 X_{i2} - 0.80 X_{i1} X_{i2}$$

As estimativas dos desvios padrão dos estimadores dos parâmetros do modelo são:

Parâmetro	β_0	β_1	β_2	β_3
Desvio padrão estimado	39.62	0.64	52.27	0.98

Portanto, para o grupo Animais temos:

$$\hat{Y}_{i, \text{ANIMAIS}} = 726.32 + 3.63 X_{i1}$$

e para o grupo Humanos:

$$\hat{Y}_{i, \text{HUMANOS}} = 850.73 + 2.83 X_{i1}$$

Gráficos dos resíduos em função da porcentagem de amido hidrolisado para humanos e animais são apresentados nas Figuras D6 e D7. Esses gráficos sugerem, individualmente, igualdade de variâncias dos resíduos em cada experimento. A normalidade dos resíduos foi verificada aplicando-se o teste de Shapiro-Wilk aos resíduos de cada experimento, sendo aceita nos dois casos ao nível de 5%. A igualdade entre as variâncias dos resíduos nos dois grupos (animais e humanos) foi testada comparando-se os quadrados médios dos resíduos correspondentes aos modelos de regressão nos dois experimentos. Aceitamos a hipótese de igualdade de variâncias ($p=0.892$).

Para comparar as retas de regressão nos dois experimentos, isto é, verificar se as retas são paralelas e coincidentes, adotamos o procedimento descrito em Neter et al. (1996).

O teste de paralelismo foi feito considerando-se a hipótese:

$$H_{01}: \beta_3 = 0,$$

que foi aceita, ou seja, as retas são paralelas ($p=0.422$).

O modelo (6.1) foi, então, ajustado novamente, eliminando-se o parâmetro β_3 . Obtivemos as seguintes retas estimadas (paralelas):

$$\begin{aligned} \hat{Y}_{i, \text{HUMANOS}} &= 832.61 + 3.28 X_{i1} \\ \hat{Y}_{i, \text{ANIMAIS}} &= 746.85 + 3.28 X_{i1} \end{aligned} \quad (6.2)$$

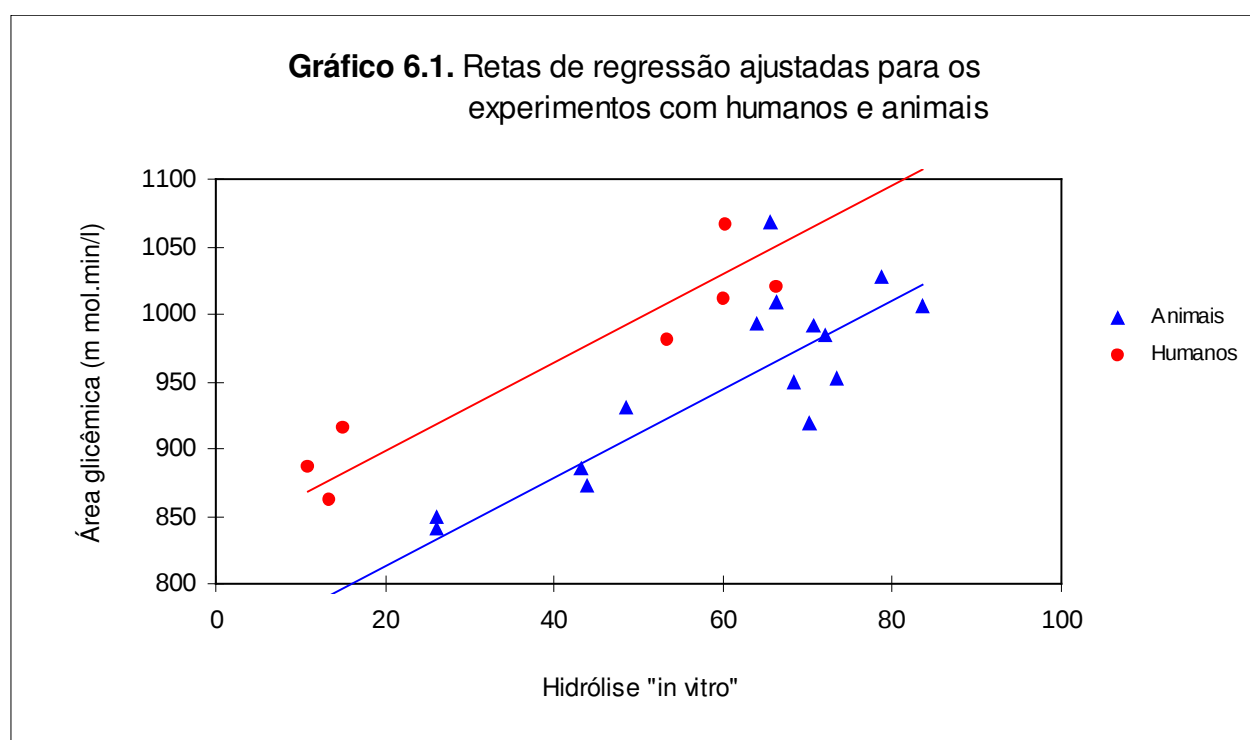
Os desvios padrão dos estimadores dos parâmetros do modelo são:

Humanos				Animais	
Parâmetro	β_0	β_1	β_2	β_0	β_1
Desvio Padrão estimado	30.47	0.48	22.47	30.47	0.48

Dado que as retas são paralelas, verificamos então se elas são ou não coincidentes, testando a hipótese:

$$H_{02}: \beta_2 = 0$$

que foi rejeitada, ou seja, as retas não são coincidentes ($p=0.001$). Portanto, a relação entre resposta “in vivo” e “in vitro” para animais e humanos é dada pelos modelos ajustados (6.2) que estão representados no Gráfico 6.1.



A previsão da resposta glicêmica em humanos pode ser feita através da resposta glicêmica em animais, considerando-se os modelos ajustados (6.2). Temos que:

$$\hat{Y}_{i,ANIMAIS} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 X_{i1}$$

$$\hat{Y}_{i,HUMANOS} = (\hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_2) + \hat{\beta}_1 X_{i1}$$

ou seja:

$$\hat{Y}_{i,HUMANOS} = \hat{Y}_{i,ANIMAIS} + \hat{\beta}_2$$

onde $\hat{\beta}_2$ é o estimador do acréscimo médio na área glicêmica (em m mol.min/l) ao passarmos do grupo Animais para o grupo Humanos. Seu valor observado foi 85.76. O desvio padrão estimado de $\hat{\beta}_2$ é 22.47. Um intervalo de confiança de 95% para o parâmetro β_2 é [38.88 ; 132.65].

- Resultados

a) As equações que relacionam a resposta “in vivo” (Y_i) com “in vitro” (X_i) em experimentos com humanos e animais são dadas por:

$$\hat{Y}_{i, \text{HUMANOS}} = 832.61 + 3.28 X_i$$

$$\hat{Y}_{i, \text{ANIMAIS}} = 746.85 + 3.28 X_i$$

Essas retas são paralelas e não coincidentes (Figura 6.1).

b) É possível prever a resposta glicêmica em humanos a partir da resposta glicêmica estimada em animais, e esta estimativa é dada por:

$$\hat{Y}_{\text{HUMANOS}} = \hat{Y}_{\text{ANIMAIS}} + 85.76 \quad (\text{m mol.min/l})$$

onde o valor 85.76 é o acréscimo médio na área glicêmica (em m mol.min/l) ao passarmos do grupo Animais para o grupo Humanos.

7. CONCLUSÕES

7.1. EXPERIMENTO COM ANIMAIS “IN VIVO”

Destacaram-se dois grupos de alimentos cujos elementos produzem áreas glicêmicas médias iguais:

Grupo 1: *Polenta, Pão de Forma, Arroz Branco, Extrusado de Milho, Pão Branco, Curau, Batata, Beiju, Farinha de Milho e Canjica.*

Grupo 2: *Farelo de Trigo, Feijão Fradinho, Feijão Carioca e Mandioca.*

Os alimentos do *Grupo 1* apresentaram área glicêmica média maior que os alimentos do *Grupo 2*.

Os alimentos *Farinha de Mandioca* e *Macarrão* apresentam respostas glicêmicas médias que são estatisticamente iguais aos alimentos dos dois grupos.

7.2. EXPERIMENTO HUMANOS I “IN VIVO”

As dietas *Polenta* e *Feijão com Casca*, produzem respostas glicêmicas médias diferentes em humanos. As dietas *Polenta*, *Arroz branco* e *Arroz com feijão* produzem a mesma resposta glicêmica média, o mesmo ocorrendo com *Arroz branco*, *Arroz com feijão* e *Feijão com casca*.

7.3. EXPERIMENTO HUMANOS II “IN VIVO”

As dietas *Polenta*, *Feijão com casca* e *Feijão sem casca* produzem a mesma resposta glicêmica média em humanos.

7.4. ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE RESPOSTA GLICÊMICA “IN VIVO” E “IN VITRO” EM EXPERIMENTOS COM HUMANOS E ANIMAIS

a) As equações que relacionam a resposta “in vivo” (Y_i) com “in vitro” (X_i) em experimentos com humanos e animais são dadas por:

$$\hat{Y}_{i, \text{HUMANOS}} = 832.61 + 3.28 X_i$$

$$\hat{Y}_{i, \text{ANIMAIS}} = 746.85 + 3.28 X_i$$

Essas retas são paralelas e não coincidentes (Figura 6.1).

b) É possível prever a resposta glicêmica em humanos a partir da resposta glicêmica estimada em animais, e esta estimativa será dada por:

$$\hat{Y}_{\text{HUMANOS}} = \hat{Y}_{\text{ANIMAIS}} + 85.76 \quad (\text{m mol.min/l}).$$

APÊNDICE A

Tabela A1. Resultados do experimento “in vivo” com animais - Área glicêmica (m mol.min/l).

POLENTA	PAOFRM	ARRBRNC	XMILHO	PAOBRC	CURAU	BATATA	FARMILHO
1000,00	980,83	1071,67	1086,67	1154,17	1032,50	1097,50	940,83
1005,83	1082,50	1045,83	1000,00	905,83	977,50	844,17	972,50
1171,67	958,33	946,67	975,83	909,17	1052,50	874,17	963,33
1069,17	1086,67	930,00	958,33	1050,00	977,50	1117,50	918,33
1093,33		1147,50		943,33	937,50	1113,33	*1064,17
		1034,17			973,33	860,00	
		1076,67					
		992,50					
		945,00					
		967,50					
		1018,33					
		927,50					

(*) Observações removidas do estudo

Tabela A1. Resultados do experimento “in vivo” com animais - Área glicêmica (m mol.min/l) - continuação.

BEIJU	MCRR	CNJC	FARMANDC	MAND	FEIJCAR	FEIJFRAD	FARLTRIG
895,83	808,33	934,17	978,33	846,67	930,00	839,17	704,17
1040,83	935,83	925,00	805,83	905,00	858,33	877,50	824,17
979,17	880,00	933,33	793,33	908,33	790,83	792,50	742,50
887,50	1053,33	*1010,83	913,33	854,17	785,83	767,50	722,50
1028,33	939,17	* 711,67	933,33	845,83	858,33	925,00	738,33
883,33	918,33				967,50		790,00
	841,94				889,17		
	977,50				800,00		
					898,33		
					715,00		

(*) Observações removidas do estudo

Tabela A2. Resultados do experimento Humanos I "in vivo" - Área glicêmica (m mol.min/l).

IND	Dieta			
	POLENTA1	ARROZBR1	ARRFEIJ1	FEIJCOM1
1	983,78	1002,11	861,28	884,61
2	1195,83	1010,44	932,50	937,11
3	882,50	960,83	1018,33	859,61
4	1119,61	880,00	850,44	836,67
5	1155,44	1284,61	1082,94	883,78
6	1044,61	974,61	1071,83	971,28
7	1086,28	965,00	1045,83	1035,00

Tabela A3. Resultados do experimento Humanos II "in vivo" - Área glicêmica (m mol.min/l).

IND	Dieta		
	POLENTA2	FEIJCOM2	FEIJSEM2
1	982,11	919,17	920,83
2	945,00	955,44	918,33
3	983,33	784,17	856,28
4	1170,83	855,83	848,78
5		798,33	889,17

Tabela A4. Porcentagem de amido disponível hidrolisado dos alimentos nos experimentos com animais.

Tipo de alimento	Amido hidrolisado (%)	Tipo de alimento	Amido hidrolisado (%)
Polenta	65.0	Beiju	73.4
Pão de forma	78.8	Macarrão	70.2
Arroz branco	66.2	Canjica	48.5
Extrusado de milho	83.7	Farinha de mandioca crua	43.3
Pão branco	64.0	Mandioca	43.9
Curau	70.6	Feijão Carioca (com casca)	26.1
Batata	72.0	Feijão Fradinho (com casca)	26.0
Farinha de milho	68.4	Farelo de trigo	38.7

Tabela A5. Porcentagem de amido disponível hidrolisado de dietas nos experimentos Humanos I e Humanos II.

Experimento	Dieta	Amido hidrolisado (%) (média ± erro padrão)
Humanos I	Polenta	60.3 ± 2.4
	Arroz branco	60.1 ± 4.4
	Arroz com feijão (Carioca)	53.3 ± 1.8
	Feijão com casca	15.1 ± 0.6
Humanos II	Polenta	66.2 ± 1.5
	Feijão com casca (Carioca)	13.3 ± 1.2
	Feijão sem casca (Carioca)	10.9 ± 1.2

APÊNDICE B

Tabela B1. Estatísticas descritivas - Animais "in vivo" - Área glicêmica (m mol.min/l).

Alimento	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	CV ⁽¹⁾	Erro Padrão	Mín.	Máx.	Q1 ⁽²⁾	Q3 ⁽³⁾
POLENTA	5	1068,0	1069,2	70,5	6,60%	31,5	1000,0	1171,7	1002,9	1132,5
PAOFRM	4	1027,1	1031,7	67,0	6,52%	33,5	958,3	1086,7	964,0	1085,6
ARRBRNC	12	1008,6	1005,4	69,2	6,86%	20,0	927,5	1147,5	945,4	1065,2
XMILHO	4	1005,2	987,9	56,9	5,66%	28,5	958,3	1086,7	962,7	1065,0
PAOBRC	5	992,5	943,3	107,6	10,84%	48,1	905,8	1154,2	907,5	1102,1
CURAU	6	991,8	977,5	42,5	4,29%	17,4	937,5	1052,5	964,4	1037,5
BATATA	6	984,4	985,8	137,4	13,96%	56,1	844,2	1117,5	856,0	1114,4
BEIJU	6	952,5	937,5	72,8	7,64%	29,7	883,3	1040,8	886,5	1031,5
FARMILHO	4	948,7	952,1	24,3	2,56%	12,1	918,3	972,5	924,0	970,2
CNJC	3	930,8	933,3	5,1	0,54%	2,9	925,0	934,2	925,0	934,2
MCRR	8	919,3	927,1	77,3	8,41%	27,3	808,3	1053,3	851,5	967,9
FARMANDC	5	884,8	913,3	81,4	9,20%	36,4	793,3	978,3	799,6	955,8
MAND	5	872,0	854,2	31,8	3,65%	14,2	845,8	908,3	846,2	906,7
FEIJCAR	10	849,3	858,3	76,4	9,00%	24,2	715,0	967,5	789,6	906,3
FEIJFRAD	5	840,3	839,2	63,5	7,56%	28,4	767,5	925,0	780,0	901,2
FARLTRIG	6	753,6	740,4	44,9	5,96%	18,3	704,2	824,2	717,9	798,5

Tabela B2. Estatísticas descritivas - Humanos I "in vivo" - Área glicêmica (m mol.min/l).

Alimento	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	CV ⁽¹⁾	Erro Padrão	Mín.	Máx.	Q1 ⁽²⁾	Q3 ⁽³⁾
POLENTA1	7	1066,9	1086,3	107,3	10,06%	40,5	882,5	1195,8	983,8	1155,4
ARROZBR1	7	1011,1	974,6	127,8	12,64%	48,3	880,0	1284,6	960,8	1010,4
ARRFEIJ1	7	980,5	1018,3	98,3	10,03%	37,2	850,4	1082,9	861,3	1071,8
FEIJCOM1	7	915,4	884,6	69,7	7,61%	26,3	836,7	1035,0	859,6	971,3

Tabela B3. Estatísticas descritivas - Humanos II "in vivo" - Área glicêmica (m mol.min/l).

Alimento	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	CV ⁽¹⁾	Erro Padrão	Mín.	Máx.	Q1 ⁽²⁾	Q3 ⁽³⁾
POLENTA2	4	1020,3	982,7	101,9	9,99%	51,0	945,0	1170,8	954,3	1124,0
FEIJSEM2	5	886,7	889,2	33,7	3,80%	15,1	848,8	920,8	852,5	919,6
FEIJCOM2	5	862,6	855,8	74,4	8,63%	33,3	784,2	955,4	791,3	937,3

¹ Coeficiente de variação² Primeiro quartil³ Terceiro quartil

APÊNDICE C

Tabela C1. Tabela de códigos - Experimento com animais “in vivo”.

Dieta (inglês)	Dieta (português)	Código
Polenta	Polenta	POLENTA
Sandwich loaf	Pão de forma	PAOFRM
White rice	Arroz branco	ARRBRNC
Extruded corn	Extrusado de milho	XMILHO
White bread	Pão branco	PAOBRC
Curau	Curau	CURAU
Batata	Batata	BATATA
Corn flour	Farinha de milho	FARMILHO
Beiju	Beiju	BEIJU
Macarrão	Macarrão	MCRR
Canjica	Canjica	CNJC
Raw manioc flour	Farinha de mandioca crua	FARMANDC
Manioc	Mandioca	MAND
Bean (Carioca)	Feijão Carioca (com casca)	FEIJCAR
Bean (Fradinho)	Feijão Fradinho (com casca)	FEIJFRAD
Wheat bran	Farelo de trigo	FARLTRIG

Tabela C2. Tabela de códigos - Experimentos Humanos I e II “in vivo”.

Dieta (inglês)	Dieta (português)	Código
Polenta	Polenta	POLENTA1
Rice	Arroz branco	ARROZBR1
Rice whit bean (Carioca)	Arroz com feijão (Carioca)	ARRFEIJ1
Bean (Carioca)	Feijão com casca	FEIJCOM1
Polenta	Polenta	POLENTA2
Bean with hull	Feijão com casca (Carioca)	FEIJCOM2
Bean without hull	Feijão sem casca (Carioca)	FEIJSEM2

APÊNDICE D

Figura D1. Gráfico de probabilidade normal
Animais “in vivo”

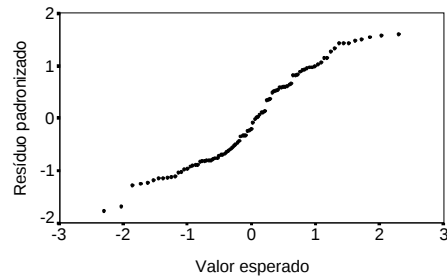


Figura D2. Gráfico de resíduos
Humanos I - “in vivo”

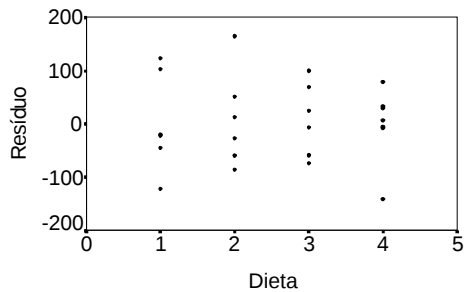


Figura D3. Gráfico de Probabilidade Normal
Humanos I - “in vivo”

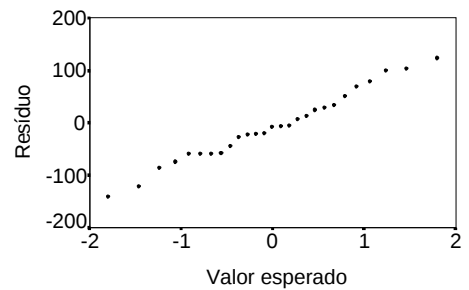


Figura D4. Gráfico de resíduos
Humanos II - “in vivo”

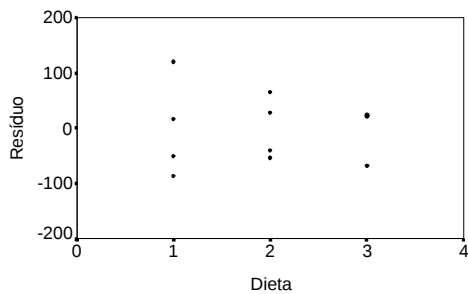


Figura D5. Gráfico de Probabilidade Normal
Humanos II - “in vivo”

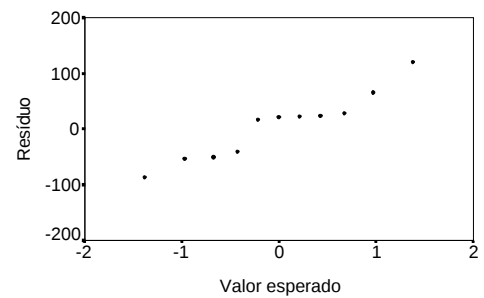


Figura D6. Gráfico de resíduos da regressão
Experimento com animais

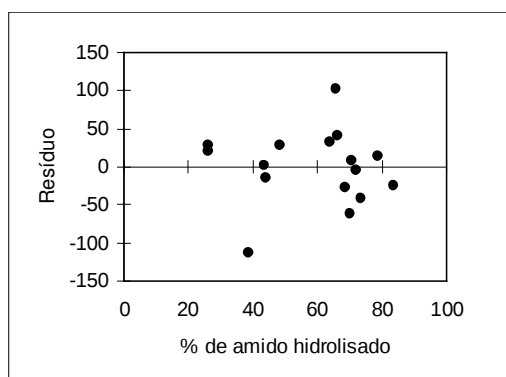
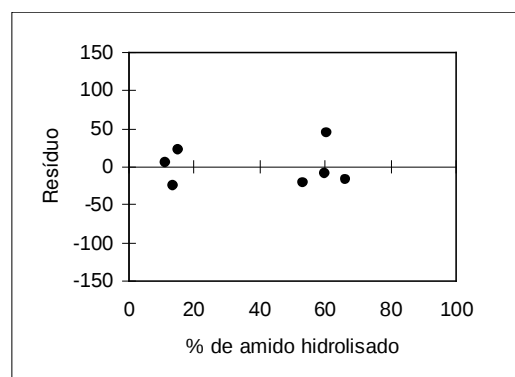


Figura D7. Gráfico de resíduos da regressão
Experimento com humanos



APÊNDICE E

Figura E1. Intervalos de confiança (LI, LS) para as diferenças das áreas glicêmicas médias pelo método de Tukey nos 16 alimentos (coeficiente de confiança de 0.95).

Alimento	Média	Erro padrão	Polenta	Pão de forma	Arroz branco	Extrusado de milho	Pão branco	Curau	Batata	Beiju
			1068,0	1027,1	1008,6	1005,2	992,5	991,8	984,4	952,5
			31,53	33,50	19,98	28,45	48,12	17,35	56,09	29,72
			LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS
Polenta	1068,0	31,53								
Pão de forma	1027,1	33,50	-196,5	278,3						
Arroz branco	1008,6	19,98	-133,2	252,0	-182,8	219,8				
Extrusado de milho	1005,2	28,45	-156,3	281,9	-204,9	248,7	-176,0	182,8		
Pão branco	992,5	48,12	-221,4	372,4	-267,9	337,1	-252,7	284,9	-275,8	301,2
Curau	991,8	17,35	-109,5	261,9	-159,4	230,0	-119,7	153,3	-158,5	185,3
Batata	984,4	56,09	-248,4	415,6	-294,4	379,8	-283,0	331,4	-303,7	345,3
Beiju	952,5	29,72	-108,1	339,1	-156,5	305,7	-128,7	240,9	-159,6	265,0
Farelo de milho	948,7	12,15	-55,0	293,6	-105,5	262,3	-60,7	180,5	-103,1	216,1
Canjica	930,8	2,93	-26,2	300,6	-77,2	269,8	-26,4	181,9	-73,2	221,9
Macarrão	919,3	27,33	-66,6	364,0	-115,3	330,9	-85,4	264,0	-117,7	289,5
Farinha de mandioca	884,8	36,40	-65,3	431,7	-113,0	397,6	-90,5	338,1	-118,0	358,8
Mandioca	872,0	14,22	17,5	374,5	-32,7	342,9	10,1	263,1	-30,9	297,3
Feijão Carioca	849,3	24,16	13,7	423,7	-35,3	390,9	-2,5	321,1	-36,7	348,5
Feijão Fradinho	840,3	28,40	8,7	446,7	-39,8	413,4	-10,9	347,5	-42,5	372,3
Farelo de trigo	753,6	18,33	126,2	502,6	76,5	470,5	115,1	394,9	77,0	426,2

Alimento	Média	Erro padrão	Farelo de milho	Canjica	Macarrão	Farinha de mandioca	Mandioca	Feijão Carioca	Feijão Fradinho	Farelo de trigo
			948,7	930,8	919,3	884,8	872,0	849,3	840,3	753,6
			12,15	2,93	27,33	36,04	14,22	24,16	28,40	18,33
			LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS	LI LS
Polenta	1068,0	31,53								
Pão de forma	1027,1	33,50								
Arroz branco	1008,6	19,98								
Extrusado de milho	1005,2	28,45								
Pão branco	992,5	48,12								
Curau	991,8	17,35								
Batata	984,4	56,09								
Beiju	952,5	29,72								
Farelo de milho	948,7	12,15								
Canjica	930,8	2,93	-46,6	82,4						
Macarrão	919,3	27,33	-124,9	183,7	-130,3	153,4				
Farinha de mandioca	884,8	36,40	-134,1	261,9	-142,4	234,5	-200,4	269,4		
Mandioca	872,0	14,22	-19,8	173,2	-16,1	133,8	-111,7	206,3	-188,9	214,5
Feijão Carioca	849,3	24,16	-40,1	238,9	-44,0	207,1	-118,2	258,2	-189,9	260,9
Feijão Fradinho	840,3	28,40	-51,0	267,8	-56,8	237,8	-124,4	282,4	-193,7	282,7
Farelo de trigo	753,6	18,33	81,6	308,6	81,4	273,0	-4,1	335,5	-79,1	341,5

Obs: Os retângulos em destaque correspondem aos intervalos de confiança de alimentos com área glicêmica média diferentes.

