

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

**MÁRCIA NUNES CAMARGO**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS *IN VITRO*  
DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO  
MUSSARELA**

**Itaqui**

**2016**

**MÁRCIA NUNES CAMARGO**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS *IN VITRO*  
DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS ISOLADAS DE QUEIJO  
MUSSARELA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Pohl Sehn

**Itaqui**

**2016**

**MÁRCIA NUNES CAMARGO**

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS *IN VITRO*  
DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO  
MUSSARELA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Pohl Sehn

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 14 de junho de 2016.  
Banca examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Pohl Sehn  
Orientadora  
Nutrição – UNIPAMPA

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Fernanda Pinto da Costa  
Ciência e Tecnologia de Alimentos – UNIPAMPA

---

Mestranda PPG Bioquímica Franciane Cabral Pinheiro

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos  
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do  
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

C172a Camargo, Márcia Nunes

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS IN  
VITRO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO  
MUSSARELA / Márcia Nunes Camargo.

37 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Pampa, NUTRIÇÃO, 2016.  
"Orientação: Carla Pohl Sehn".

1. Potencial probiótico. 2. Produtos lácteos. 3.  
BAL. I. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus que me proporciona energia e fé para acreditar que sempre é possível.

À UNPAMPA por mais essa oportunidade de crescimento acadêmico e profissional.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Pohl Sehn, pela orientação, por acreditar na minha capacidade, pela paciência e companheirismo e por se mostrar mais que orientadora, uma amiga, apoiando e incentivando sempre.

À minha mãe Neli, vó Elza e tia Marlene, pela acolhida, por todo o apoio e carinho. E ao Fábio, pelo incentivo e compreensão.

Ao Prof. Wladimir Padilha da Silva da Universidade Federal de Pelotas, pela concessão dos isolados de bactérias ácido lácticas, cepas e reagentes utilizados neste trabalho.

À banca examinadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Costa e a Mestranda Franciane Pinheiro, por aceitarem o convite, contribuindo para o enriquecimento deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>1- INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2- METODOLOGIA .....</b>	<b>11</b>
2.1 MATERIAL.....	11
2.2 MÉTODOS.....	11
2.2.1 Avaliação da capacidade de resistência a diferentes concentrações de sal (NaCl), pH e sais .biliares.....	11
2.2.2 Capacidade de autoagregação e coagregação.....	12
2.2.3 Avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos.....	12
2.2.4 Avaliação da resistência à passagem do trato gástrico de forma simulada.....	13
2.2.5 Análise estatística.....	13
<b>3- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>4- CONCLUSÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>5- REFERÊNCIA.....</b>	<b>17</b>
<b>6- ANEXOS.....</b>	<b>20</b>

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS *IN VITRO* DE BACTÉRIAS  
ÁCIDO LÁCTICAS ISOLADAS DE QUEIJO MUSSARELA**

**EVALUATION OF THE PROBIOTIC *IN VITRO* CHARACTERISTICS OF LACTIC  
ACID BACTERIA ISOLATED FROM MOZZARELLA CHEESE**

Márcia Nunes Camargo  
Discente do Curso de Nutrição  
Universidade Federal do Pampa – Campus Itaqui-RS  
Rua Luiz Joaquim de Sá Britto, s/n – Bairro: Promorar – Itaqui-RS – CEP: 97650-000  
marciacamargo@live.com  
orcid.org/0000-0002-3261-2971

Carla Pohl Sehn  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> do Curso de Nutrição  
Universidade Federal do Pampa – Campus Itaqui-RS  
Rua Luiz Joaquim de Sá Britto, s/n – Bairro: Promorar – Itaqui-RS – CEP: 97650-000  
carlasehn@unipampa.edu.br

## RESUMO

As Bactérias Ácido Láticas (BAL) são micro-organismos com capacidade de produzir ácido láctico, motivo pelo qual são bastante utilizadas na indústria, para produção de derivados do leite, como bebidas lácteas e queijo. Além disso, BAL podem apresentar características probióticas, que conferem benefícios a saúde do consumidor, quando consumido em quantidades adequadas. Sendo assim, objetivou-se com este estudo avaliar as características probióticas *in vitro* de 4 isolados de BAL provenientes de queijo mussarela fatiado comercializado em mercados e minimercados na cidade de Pelotas/RS. Os isolados foram submetidos aos testes de resistência a diferentes concentrações de sal (NaCl), pH e sais biliares, capacidade de autoagregação e coagregação, suscetibilidade a antimicrobianos e capacidade de suportar a passagem ao trato gástrico, na presença e ausência de alimento. Os 4 isolados foram capazes de sobreviver às diferentes condições de NaCl (4,5% e 6%) e sais biliares (0,3% e 1%), e não apresentaram crescimento em pH 2. O isolado *Leuconostoc mesenteroides* LM42 foi o que apresentou maior sensibilidade à maioria dos antimicrobianos testados. Na avaliação da resistência à passagem do trato gástrico de forma simulada foi possível observar que todos os isolados foram capazes de sobreviver por até 240 min na presença de alimento., bem como capacidade de autoagregação e coagregação a *Listeria monocytogenes*, características importantes para caracterizá-los como potenciais probióticos.

Palavras-Chave: Potencial probiótico. Produtos lácteos. BAL

## ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are micro-organisms capable of producing lactic acid, which is why they are widely used in industry for the production of dairy products such as milk drinks and cheese. In addition, LAB may have probiotic characteristics which give benefits to consumer health when consumed in adequate amounts. Thus, the aim of this study was to evaluate the probiotic characteristics in vitro of 4 isolated from BAL of sliced mozzarella cheese sold in markets and minimarkets in the city of Pelotas / RS. Isolates were subjected to endurance tests at different concentrations of salt (NaCl), pH and bile salts, capacity autoagregação and coaggregation, susceptibility to antimicrobial and ability to support the transition to the gastric tract in the presence and absence of food. The 4 strains were able to survive the various conditions of NaCl (4.5% and 6%) and bile salts (0.3% and 1%), and showed no growth at pH 2. The isolated *Leuconostoc mesenteroides* LM42 was with the highest sensitivity to most antimicrobials tested. In the evaluation of the resistance to gastric tract of mock it was observed that all the strains were able to survive up to 240 min in the presence of food. And autoagregação capacity and coagregação *Listeria. monocytogenes*, characterized important features them as potential probiotics.

Keywords: Potential probiotic. Dairy products. LAB.

## 1 INTRODUÇÃO

O queijo é um concentrado lácteo composto principalmente de proteínas, lipídios e carboidratos, possuindo ainda, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas A e B. A classificação dos queijos baseia-se em características decorrentes do tipo de leite, coagulação, teor de gordura, tempo de maturação, entre outros. O queijo do tipo mussarela é um dos mais fabricados e consumidos no Brasil. De origem italiana, originalmente é preparado com leite de búfala e, atualmente, também é utilizado o leite de vaca e a mistura dos dois tipos de leites no seu preparo (1).

As Bactérias Ácido Lácticas (BAL) fazem parte de um grupo de micro-organismos heterogêneos, Gram positivos, anaeróbios facultativos e produtores de ácido láctico (2). BAL tem sido muito utilizadas na indústria, principalmente na fermentação de produtos como o queijo. As BAL possuem a capacidade de redução do teor de lactose, conferem características sensoriais desejáveis, permitindo também conservar ou aumentar o valor nutritivo da matéria-prima, entre outros (3).

Ademais, são encontradas em diversos nichos ecológicos, que vão desde produtos lácteos, como queijos, até produtos cárneos, vegetais e vinhos, além da mucosa dos seres humanos, como a cavidade oral e o trato gastrointestinal (4). Podendo ainda, apresentar propriedades probióticas, pois quando utilizados periodicamente podem trazer benefícios ao consumidor, tais como a redução do colesterol, no tratamento de doenças intestinais, como síndrome do intestino irritável, redução dos sintomas de constipação, entre outros (5).

O termo probiótico é uma palavra relativamente nova e significa “para a vida” (6). O conceito mais aceito é de que probióticos são micro-organismos vivos que ao serem administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (7). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (8), um micro-organismo pode ser considerado probiótico se a quantidade mínima estiver na faixa entre  $10^8$  a  $10^9$  unidades formadoras de colônias (UFC), comprovando a quantidade mínima viável do micro-organismo no produto até o final do prazo de validade, apresentar resistência a sais biliares e a acidez gástrica. Também é importante possuir elevados níveis de autoagregação e coagregação, formando biofilme ou aderindo a superfície da mucosa do hospedeiro, o que pode conferir vantagem competitiva sobre micro-organismos não agregantes (5).

Para tanto, probióticos depois de ingeridos devem ser capazes de sobreviver as condições presentes no trato gastrointestinal, como suco gástrico, presença de sais, biliares e enzimas digestivas. Mantendo sua viabilidade no intestino para realizar os efeitos benéficos aos hospedeiros. E na produção industrial as células devem manter-

se em níveis satisfatórios durante todo o prazo de validade do produto (9). Ainda, segundo, sugere Badaró *et al* (10), a segurança e eficácia dos produtos devem ser demonstradas para cada cepa e cada produto.

Diante disso, para Nespolo (2009) seriam úteis estudos sobre a diversidade das bactérias envolvidas no processamento de queijos, uma vez que, a diferenciação e avaliação da contribuição real de diferentes espécies na maturação de queijos, permitiria a seleção de cepas adequadas para utilização como culturas iniciadoras. Dessa forma, considerando a potencial utilização de BAL como probióticos, a identificação de novas linhagens se faz necessário, o que vem ao encontro do principal objetivo deste estudo, que é avaliar as características probióticas BAL isoladas de queijo mussarela.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 MATERIAL**

Foram utilizados 4 isolados de BAL provenientes de queijo mussarela fatiado comercializado em mercados e minimercados na cidade de Pelotas/RS, sejam eles: *Leuconostoc mesenteroides* LM42, *Lactobacillus lactis* LL95, *Pediococcus pentosaceus* PP170, *Enterococcus faecium* EF255 e, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, como micro-organismo indicador. Os micro-organismos utilizados pertencem a coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas (DCTA-FAEM-UFPel). Os isolados de BAL e o micro-organismo indicador foram mantidos sob refrigeração em tubos contendo ágar MRS e ágar Triptona de Soja (TSA, Acumedia®), respectivamente.

### **2.2 MÉTODOS**

2.2.1 Avaliação da capacidade de resistência a diferentes concentrações de sal (NaCl), pH e sais biliares.

A capacidade de multiplicação em diferentes concentrações de sal (NaCl, Synth®), pH e sais biliares foi realizada de acordo com Drosinos *et al.* (11), com algumas modificações. Foi realizado o cultivo do isolado em caldo MRS (Himedia®) e posterior passagem (1% v/v) do cultivo para as diferentes condições. Para testar a multiplicação na presença de sal, pH e sais biliares, utilizou-se caldo MRS modificado com 4,5 e 6 % de NaCl, pH 2,0 (HCl) e adicionado de bile bovina a 0,3% e 1 % (v/v), respectivamente.

O isolado foi incubado a 37 °C por 24h e, após esse período, os cultivos foram repassados para MRS ágar e incubados a 37 °C. A presença de crescimento no meio, após 24h de incubação, foi considerado como capacidade de suportar as diferentes condições.

### 2.2.2 Capacidade de autoagregação e coagregação

A capacidade de autoagregação e coagregação foi avaliada conforme metodologia descrita por Collado, Meriluoto, Salminen (12). Suspensão celular foi obtida a partir do cultivo do isolado em caldo MRS, e do micro-organismo indicador em BHI, a 37 °C, por 24 h. O cultivo foi centrifugado a 6800 x g por 10 min, a 4 °C, e o *pellet* lavado duas vezes com Tampão Fosfato Salina (PBS, Laborclin®). Em seguida, as células foram ressuspensas em solução salina 0,5 % e a absorbância (600 nm) ajustada a  $0,25 \pm 0,02$ .

A autoagregação foi determinada a partir da leitura da absorbância (600 nm) das suspensões celulares, denominada suspensão bacteriana total (tempo zero) e, após 2 h, 20 h e 24 h de incubação a 37 °C, e 20 °C denominadas de suspensão superior. Os resultados foram expressos em percentual, conforme a fórmula: % autoagregação =  $1 - (As/At) \times 100$ , sendo As corresponde a absorbância da suspensão superior e At, a absorbância da suspensão total.

Para determinar a capacidade de coagregação, suspensões celulares foram preparadas conforme descrito acima, incubadas a 37 °C e a 20°C isoladamente (controles) e, em igual proporção do isolado e do micro-organismo indicador (1:1). A leitura da absorbância (600 nm) foi realizada nos tempos 0, 2 h, 20 h e após 24 h de incubação. Os resultados foram expressos em percentual, conforme a fórmula: % coagregação =  $[(At0) - (Atx)] / (At0) \times 100$ , onde At0 corresponde a absorbância das suspensões bacterianas no tempo inicial (zero) e Atx, a absorbância das suspensões bacterianas nos diferentes tempos avaliados (2h, 4h e 24h).

### 2.2.3 Avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos

A suscetibilidade a antimicrobianos foi avaliada pelo teste de difusão em ágar Müller-Hinton (MH, Oxoid®), realizado de acordo com as normas do documento M100-S22 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (14). Após o cultivo em ágar MRS a 37 °C por 24h, o isolado de BAL foi repicado para solução salina 0,85% até atingir turbidez equivalente a 0,5 na escala de McFarland. Em seguida, com o auxílio de *swab*, a cultura foi semeada em ágar MH e foram adicionados os discos impregnados com diferentes tipos de antimicrobianos. Foram utilizados 12 agentes antimicrobianos: amicacina (30 µg), ampicilina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), ciprofloxacina (5 µg),

sulfonamida (300 µg), eritromicina (15 µ), gentamicina (10 µg), penicilina G (10 µg), sulfametoxazol-trimetoprim (25 µg), tetraciclina (30 µg), vancomicina (30 µg) e clindamicina (2 µg). Após, as placas foram incubadas a 37 °C por 24h e os diâmetros das zonas de inibição foram medidos utilizando-se paquímetro Digimess® e expressos em milímetros. Os resultados foram expressos seguindo a seguinte classificação, conforme descrito por Liasi *et al.* (15): isolado resistente ( $\leq 15\text{mm}$ ), sensibilidade intermediária (16 – 20mm) ou sensível ( $\geq 21\text{mm}$ ).

#### 2.2.4 Avaliação da resistência à passagem do trato gástrico de forma simulada

A resistência à passagem do trato gástrico foi realizada conforme Huang e Adams (13). Primeiramente, foi realizado o cultivo em 5 mL de caldo MRS e incubação a 37 °C, por 24 h cada, seguido de centrifugação a 6800 x g por 10 min a 4 °C. O *pellet* obtido, foi lavado duas vezes com PBS, com posterior ressuspensão em solução salina a 0,5 %. Uma alíquota de 200 µL da suspensão celular foi misturada em 300 µL de solução salina e à 1 mL de suco gástrico, com posterior incubação à 37 °C.

O suco gástrico simulado consistiu de 3 mg.mL<sup>-1</sup> de pepsina (Sigma-Aldrich®) e pH 2,5. A influência da presença de um alimento na sobrevivência dos isolados à passagem do trato gástrico de forma simulada, foi avaliada substituindo a solução salina por 300 µL de leite integral ou leite desnatado, reconstituído a 10 % (m/v).

A contagem do número de células viáveis durante a passagem pelo trato gástrico foi realizada nos tempos 0, 15, 30, 60, 120, 180 e 240 min.

#### 2.2.5 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey utilizando o programa Statistica (Statsoft versão 8.0.550). Em todas as análises foi considerado nível de significância  $p \leq 0,05$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 4 isolados foram capazes de sobreviver às diferentes condições de NaCl (4,5% e 6%) e sais biliares (0,3% e 1%), e não apresentaram crescimento em pH 2.

A capacidade de tolerar diferentes concentrações de NaCl sugere que estes micro-organismos podem persistir durante processos de maturação de alimentos fermentados como queijos e salames (16; 17). Cepas sensíveis ao NaCl podem ter seu crescimento inibido à medida que a atividade de água do produto reduz, devido ao aumento da concentração de NaCl (18).

A concentração de sais biliares de 0,15 a 0,3% tem sido recomendada para a avaliação *in vitro* da passagem pelo intestino (13). Sendo assim, a tolerância aos sais biliares demonstra que estes isolados provavelmente são resistentes ao estômago e condições intestinais. No entanto, segundo Hung e Adams (13) para sobreviver no intestino, os organismos devem ser tolerantes ao pH do estômago, que varia entre 2,5 a 3,5, e ainda pode ser tão baixo quanto 1,5 em jejum ou tão alto quanto 4,5, após refeição. Em estudo realizado por Costa *et al.* (19), todas as amostras de BAL isoladas de queijos artesanais da Serra da Canastra demonstram tolerância ao pH 2,0.

Os resultados encontrados no teste de avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos (Tabela 1, Anexo 1) mostram que, dos 4 isolados de BAL utilizados no estudo, o isolado *L. mesenteroides* LM42 foi o que apresentou maior sensibilidade à maioria dos agentes testados. Apresentando sensibilidade a 8 antimicrobianos: penicilina; amicacina; gentamicina; eritromicina; cloranfenicol; clindamicina; tetraciclina; ciprofloxacina, sensibilidade intermediária a Ampicilina e resistência a 3 antimicrobianos: vancomicina; sulfonamida; sulfametoxazol - trimetoprim. O isolado *P. pentosaceus* PP170 demonstrou sensibilidade a 6 antimicrobianos: ampicilina; penicilina; vancomicina; eritromicina; cloranfenicol; ciprofloxacina. Sensibilidade intermediária a amicacina e gentamicina e, resistência a 4 antimicrobianos: clindamicina; tetraciclina; sulfonamida; sulfametoxazol-trimetoprim. Já os isolados *L. lactis* LL95 e *E. faecium* EF255 apresentaram comportamentos similares, com sensibilidade a 6 antimicrobianos: ampicilina; penicilina; vancomicina; eritromicina; cloranfenicol; ciprofloxacina, sensibilidade intermediária a gentamicina e, resistência a 5 dos antimicrobianos testados: amicacina; clindamicina; tetraciclina; sulfonamida; sulfametoxazol – trimetoprim. Todos os isolados utilizados no estudo demonstraram sensibilidade aos seguintes antimicrobianos: penicilina, eritromicina, cloranfenicol e clindamicina. Este aspecto está de acordo com o que foi referido por Camara (20) para o perfil de resistência a antimicrobianos para *Lactobacillus* e *Lactococcus* e de acordo com Nieto- Arribas *et al.* (21) para *Enterococcus*. Já para os antimicrobianos Sulfamitoxazol-trimetoprim e Sulfonamidas, todos os isolados apresentaram resistência. O que difere do estudo de Câmara (20) no qual apenas uma parte dos isolados do estudo, apresentou sensibilidade ao Sulfamitoxazol-trimetoprim. Porém, Ammor *et al.* (22) relatam que os *Lactobacillus* e *Lactococcus* possuem uma resistência natural a este antimicrobiano. De acordo com Jeronymo - Ceneviva *et al.* (5) a resistência a um antimicrobiano pode ser específica de uma espécie ou gênero (intrínseca ou adquirida). Podendo ser uma ameaça à saúde humana, pois as bactérias presentes nos alimentos são capazes de tornarem-se multirresistentes.

Na avaliação da resistência à passagem do trato gástrico de forma simulada foi possível observar que todos os isolados foram capazes de sobreviver por até 240 min na presença de alimento (leite desnatado e integral). *L. mesenteroides* LM42 e *L. lactis* LL95, (tabela 2 e 3, Anexo 2) obtiveram diminuição considerável na contagem de células viáveis em Solução Salina (SS) a partir de 120 min enquanto, o isolado *P. pentosaceus* PP170, demonstrou diminuição de células viáveis a partir de 60 min. O isolado *E. faecium* EF255 foi o único que manteve um número de células viáveis nas três condições avaliadas em até 240 min. Esses resultados apontam a influência positiva do alimento à passagem do suco gástrico artificial de forma simulada dos isolados avaliados.

Esses dados estão em conformidade com estudos realizados por outros autores (23, 26), os quais indicam a influência do alimento no crescimento e viabilidade de cepas com potencial probiótico, observando que pode haver ação protetora dos componentes do leite. Mesmo com redução de células viáveis durante a simulação *in vitro*, os isolados podem apresentar potencial para alcançar o intestino e promover os efeitos benéficos se estiverem entre 4 a 7 Log UFC.mL<sup>-1</sup>. Porém dos 4 isolados quando em Solução salina, um (*E. faecium* EF255) manteve-se no nível mínimo até 180 min, dois (*L. mesenteroides* LM42 e *L. lactis* LL95) mantiveram-se até 120 min, um (*P. pentosaceus* PP170) até 60 min. Sendo fundamental que os produtos probióticos possuam células viáveis no momento do consumo, e que para o propósito terapêutico as concentrações variem de 5 a 7 Log UFC.mL<sup>-1</sup> (3; 23; 24).

Considerando as informações apresentadas anteriormente, o isolado *E. faecium* EF255 destacou-se dentre os 4 isolados testados, pois apresentou contagem pouco maior que 3 Log UFC.mL<sup>-1</sup> no tempo 240 min em Solução salina, mantendo a contagem de células viáveis nas outras duas condições em 7 Log UFC.mL<sup>-1</sup> no mesmo tempo (240 min).

Quanto aos resultados de autoagregação (Anexo 3, Figura 1), foi possível verificar que no tempo 2 h à 37 °C e a 20 °C, o isolado *L. lactis* LL95 demonstrou maior capacidade de autoagregar-se, frente aos outros. Após 20 h a 37 °C, *L. mesenteroides* LM42 apresentou maior capacidade de autoagregação, bem como o *P. pentosaceus* PP170 no mesmo tempo, a 20 °C. Mantendo-se assim, com estes dois isolados apresentando maior capacidade frente aos outros no tempo 24 h para as duas temperaturas (20 °C e 37 °C). Autoagregação torna-se indispensável para a adesão de linhagens probióticas às células epiteliais e a capacidade de coagregação podem formar uma barreira para prevenir a colonização por patógenos (12).

O percentual de autoagregação de *L. monocytogenes* ATCC 7644 manteve-se entre 12 % e 27,10 %, aproximadamente, durante os 3 tempos (2 h, 20 h e 24 h) e nas

duas temperaturas (20 °C e 37 °C) avaliadas. A capacidade de autoagregação do isolado *P. pentosaceus* PP170 e *L. monocytogenes* ATCC 7644 aumentou consideravelmente durante o transcorrer do tempo a 37 °C atingindo cerca de 60,86% em 24 h. Porém, a 20 °C manteve-se entre 27,20 % e 27,69 %, em 20 e 24 h respectivamente, não diferindo entre si.

Entretanto, os dados de coagregação (Anexo 4, Figura 2) demonstram que o isolado *P. pentosaceus* PP170 obteve os maiores percentuais de capacidade de agregação nas diferentes temperaturas (20 °C e 37 °C), seguido do *L. mesenteroides* LM42. De acordo com os resultados de Hermanns (3) foi possível perceber, após 16 h de incubação, que a maior parte do isolados, apresentaram capacidade de autoagregação, de no mínimo 50 %.

Lima (26), apresentou dados do estudo de BAL isoladas de ração de peixe, e todos isolados apresentaram taxas de coagregação baixas, com uma variação de 9% a 22 %, identificadas como *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. e *Pediococcus* spp.

É possível considerar que na autoagregação os isolados mostraram-se mais favoráveis a 37 °C, no entanto na coagregação mantiveram os percentuais semelhantes nas duas temperaturas, com leve aumento a 20 °C.

#### **4 CONCLUSÃO**

Os isolados analisados neste estudo não apresentaram capacidade de suportar baixo pH e possuem resistência a alguns antimicrobianos. No entanto, demonstraram tolerância aos sais biliares, diferentes concentrações de sal, capacidade de suportar à passagem do trânsito gástrico na presença de alimento por até 240 min e capacidade de autoagregação e coagregação à *L. monocytogenes*, características importantes para caracterizá-los como potenciais probióticos.

## 5 REFERÊNCIA

1. PERRY, K.S.P. Queijos: Aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Química nova*. 2004. 27(2): 293-300.
2. SCHLEIFER, K.H.; EHNNANN, M.; REUNFOLAR, C. Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. *The International Dairy Journal*. 1995. 5: 1081-1089.
3. HERMANN, G. Potencial bacteriocinogênico e probiótico de bactérias ácido lácticas isoladas de leite e queijos artesanais [doutorado]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2013.
4. SCHROETER, J.; KLAENHAMMER, T. Genomics of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 2009; 292: 1-6.
5. JERONIMO- CENEVIVA, A. B; PAULA, A. T; SILVA, L. F; TODOROV, S. D; FRANCO, B.D.G.M; PENNA, A. L. Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Water- Buffalo Mozzarella Cheese. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2014; 6: 141-156.
6. SANTOS, R. B., BARBOSA, P. J. L.; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: Microrganismos funcionais. *Ciência Equatorial*. 2011; 1 (2).
7. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, 2001 [acesso 22 out. 15]; 34. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>>
8. ANVISA (2008) - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. [acesso 20 out. 15]; Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>.
9. SAAD, S. M. I. Probióticos e Prebióticos: O estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2006; 42(1):2- 12.
10. BADARÓ, A.C.L.; GUTTIERRES, A.P.M.; REZENDE, A.C.V.; STRINGHETA, P.C. ALIMENTOS PROBIÓTICOS: APLICAÇÕES COMO PROMOTORES DA SAÚDE HUMANA. *Revista Digital de Nutrição*. 2008 [acesso 25 mar 16]; 2(3). Disponível em: <[http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/volume3/artigo\\_5\\_rng\\_alimentos\\_probioticos.pdf](http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/volume3/artigo_5_rng_alimentos_probioticos.pdf)>.
11. DROSINOS, E. H., MATARAGAS, M., XIRAPHI, N., MOSCHONAS, G., GAITIS, F., & METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage, 2005. *Meat Science*, 69(2), 307–317. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.012>
12. COLLADO, M.C.; MERILUOTO, J.; SALMINEN, S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European Food Research and Technology*. 2008; 226: 1065-1073.

13. HUANG, Y.; ADAMS, M.C. In vitro assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propionibacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 2004; 91: 253–260.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved standard - Eleventh Edition*. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
15. LIASI, S. A.; AZMI, T. I.; HASSAN, M. D.; SHUHAIMI, M.; ROSFARIZAN, M.; ARIFF, A. B.. Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, Budu. *Malaysian Journal of Microbiology*, 2009; 5(1): 33-37.
16. BARBOSA, M. de S., TODOROV, S. D., IVANOVA, I., CHOBERT, J.-M., HAERTLÉ, T., & DE MELLO FRNCO, B. D. G. Improving safety of salami by application of bacteriocins produced by an autochthonous *Lactobacillus curvatus* isolate. 2015. *Food Microbiology*. 46: 254–62. <http://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.004>
17. GIRAFFA, G. Functionality of enterococci in dairy products, 2003. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 215–222. [http://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00183-1](http://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00183-1)
18. THAPA, N.; PAL, J.; TAMANGA, J. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas, 2006. *International Journal of Food Microbiology*, 107: 33-38.
19. COSTA, H.H.S.; SOUZA, M.R.; ACURCIO, L.B. CUNHA, A.F. RESENDE, M.F.S. NUNES, Á.C. Potencial probiótico *in vitro* de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo-de-minas artesanal da Serra da Canastra, MG, 2013. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 65:1858-1866. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v65n6/38.pdf>
20. CÂMARA, S. P.A. Estudo do potencial bioactivo e tecnológico de bactérias do ácido láctico isoladas de queijo do pico artesanal [mestrado]. Angra do Heroísmo: Universidade dos Açores; 2012.
21. NIETO-ARRIBAS, P., SEEËÑA, S., POVEDA, J.M., CHICÓN, R., CABEZAS, L., PALOP. L., Enterococcus populations in artisanal Machego cheese: Biodiversity, technological and safety aspects. *Food Microbiology*, 2011; 28: 891-899.
22. AMMOR, M.S., FLÓREZ, A.B., MAYO, B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*. 2007; 24: 559-570.
23. MEIRA, M.M.S. Potencial probióticos de bactérias lácticas e atividades biológicas de leite e queijos de ovelha [mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2012.
24. JERONYMO, A. B.O. Avaliação do potencial probiótico de bactérias acidoláticas produtoras de substância antimicrobiana isoladas de mussarela de

búfala [mestrado]. São Jose do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2013.

25. MEIRA, M.M.S VELHO, V. H.V. MEDINA, L.F.C. BRANDELLI, A. Identificação e resistência a barreiras biológicas de bactérias lácticas isoladas de leite e queijo de ovelha, 2010. [acesso 26 abr. 16]; Brazilian Journal Food Technology. Disponível em: <[http://bjft.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/2010/artigos\\_bjb\\_v70ne/13\\_bjft\\_v13ne\\_13e0111.pdf](http://bjft.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/2010/artigos_bjb_v70ne/13_bjft_v13ne_13e0111.pdf)>. <https://doi.org/10.4260/BJFT20101304112>
26. LIMA, E. C. Potencial probiótico de Bactérias Ácido lácticas isoladas de ração de peixe. [mestrado]. Teresina: Universidade Federal do Piauí. 2016.

## 6 ANEXOS

## ANEXO 1

Tabela 1. Resultado teste de Suscetibilidade a antimicrobianos

Isolados	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> LM42		<i>Lactobacillus lactis</i> LL95		<i>Pediococcus pentosaceus</i> PP170		<i>Enterococcus faecium</i> EF255	
	T.h	Class.	T.h	Class.	T.h	Class.	T.h	Class.
Amicacina	38	S	15	I.R	38	S	15	I.R
Ampicilina	20	S.I.	23	S	30	S	28	S
Cloranfenicol	43	S	31	S	32	S	30	S
Eritromicina	45	S	23	S	25	S	23	S
Gentamicina	35	S	16	S.I	17	S.I	17	S.I
Penicilina	36	S	23	S	22	S	23	S
Sulf.-trimetoprim	0	I.R	0	I.R	0	I.R	0	I.R
Tetraciclina	30	S	15	I.R	15	I.R	13	I.R
Vancomicina	0	I.R	22	S	23	S	21	S
Clindamicina	50	S	9	I.R	11	I.R	10	I.R
Ciprofloxacina	25	S	29	S	30	S	29	S
Sulfonamida	0	I.R	0	I.R	0	I.R	0	I.R

Th= Tamanho do halo (mm); Class= Classificação. S= Sensível ( $\geq 21$ mm); S.I = Sensibilidade intermediária (16 - 20mm); I.R = Isolado resistente ( $\leq 15$ mm).

## Anexo 2

Tabela 2 - Contagem de células viáveis (log UFC.mL<sup>-1</sup>) de *Leuconostoc mesenteroides*- LM42 quando submetido ao trânsito gástrico simulado

Tempo (minutos)	SS		LD		LI	
	Contagem de células (log UFC.mL <sup>-1</sup> )					
0	8,54±0,16a	<sup>1/</sup>	8,57±0,06	a	8,57±0,02	a
15	8,60±0,25	a	8,59±0,08	a	8,54±0,04	a
30	8,65±0,03	a	8,48±0,00	ab	8,26±0,17	b
60	8,54±0,16	a	8,82±0,06	a	8,75±0,07	a
120	4,16±0,11	b	8,65±0,03	a	8,74±0,00	a
180	3,40±0,00	c	8,74±0,05	a	8,51±0,02	b
240	0±0	b	8,57±0,02	a	8,65±0,03	a

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) comparando os sucos gástricos artificiais dentro de cada tempo. SS: solução salina; LI: leite integral; LD: leite desnatado.

Tabela 3 - Contagem de células viáveis (log UFC.mL<sup>-1</sup>) de *Lactobacillus lactis*- LL95 quando submetido ao trânsito gástrico simulado

Tempo (minutos)	SS		LD		LI	
	Contagem de células (log UFC.mL <sup>-1</sup> )					
0	8,22±0,01	c <sup>1/</sup>	8,27±0,02	b	8,40±0,00	a
15	8,45±0,04	a	8,30±0,00	b	8,50±0,03	a
30	8,23±0,00	a	8,38±0,13	a	8,26±0,00	a
60	7,57±0,11	b	8,27±0,18	a	7,86±0,21	ab
120	5,43±0,18	b	8,46±0,11	a	8,42±0,04	a
180	2,93±0,31	b	8,18±0,00	a	8,02±0,21	a
240	0,57±0,76	b	8,25±0,10	a	8,27±0,18	a

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) comparando os sucos gástricos artificiais dentro de cada tempo. SS: solução salina; LI: leite integral; LD: leite desnatado.

Tabela 4 - Contagem de células viáveis (log UFC.mL<sup>-1</sup>) de *Pediococcus pentosaceus*- PP170 quando submetido ao trânsito gástrico simulado

Tempo
-------

(minutos)	SS		LD		LI	
	Contagem de células (log UFC.mL <sup>-1</sup> )					
0	7,55±0,02	b <sup>1/</sup>	7,47±0,00	b	7,65±0,03	a
15	7,62±0,05	b	7,80±0,01	a	7,47±0,05	b
30	7,09±0,26	a	7,62±0,09	a	7,66±0,12	a
60	6,35±0,03	b	7,57±0,02	a	7,67±0,05	a
120	3,95±0,02	b	7,96±0,17	a	8,03±0,22	a
180	2,70±0,00	b	7,96±0,17	a	7,96±0,17	a
240	0±0	b	7,72±0,04	a	7,84±0,04	a

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) comparando os sucos gástricos artificiais dentro de cada tempo. SS: solução salina; LI: leite integral; LD: leite desnatado.

Tabela 5 - Contagem de células viáveis (log UFC.mL<sup>-1</sup>) de *Enterococcus faecium*- EF255 quando submetido ao trânsito gástrico simulado

Tempo (minutos)	SS		LD		LI	
	Contagem de células (log UFC.mL <sup>-1</sup> )					
0	6,86±0,11	a <sup>1/</sup>	6,58±0,12	a	6,68±0,02	a
15	6,91±0,25	a	6,86±0,08	a	7,09±0,06	a
30	6,87±0,04	c	7,11±0,02	b	7,39±0,06	a
60	7,24±0,04	a	7,30±0,00	a	6,98±0,00	b
120	6,44±0,03	b	7,18±0,00	a	7,16±0,06	a
180	4,86±0,11	c	7,16±0,11	b	7,20±0,03	a
240	3,70±0,00	b	7,09±0,26	a	7,00±0,04	a

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) comparando os sucos gástricos artificiais dentro de cada tempo. SS: solução salina; LI: leite integral; LD: leite desnatado.

ANEXO 3

Tabela 6 - Percentual de autoagregação de bactérias ácido lácticas isoladas de queijo mussarela e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 em função da temperatura e tempo

Tempo (horas)	Micro-organismos									
	LM42		LL95		PP170		EF255		LM	
	Temperatura (°C)									
	20 °C	37 °C	20 °C	37 °C	20 °C	37 °C	20 °C	37 °C	20 °C	37 °C
Autoagregação (%)										
2	0±0,00 b <sup>1/</sup>	13,76±0,23 a	22,13±0,12 b	24,10±0,14 a	0±0,00 b	16,75±0,22 a	10,26±0,46 b	12,26±0,14 a	12,00±0,15 b	19,26±0,31 a
20	0,67±0,45 b	48,99±0,41 a	11,70±0,14 b	16,80±0,52 a	27,20±0,22 b	38,47±0,44 a	7,55±0,37 b	13,91±0,53 a	20,18±0,31 b	22,72±0,31 a
24	0,81±0,27 b	9,31±1,06 a	15,18±0,13 b	21,32±0,28 b	27,69±0,44 b	60,86±0,44 a	9,67±0,30 b	23,47±0,55 a	18,22±0,15 b	27,10±0,31 a

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste t (p≤0,05) comparando as temperaturas dentro de cada micro-organismo e tempo. LL42: *Leuconostoc mesenteroides* LM42; LL95: *Lactobacillus lactis* LL95; PP170: *Pediococcus pentosaceus* PP170; EF255: *Enterococcus faecium* EF255; LM: *Listeria monocytogenes* ATCC 7644

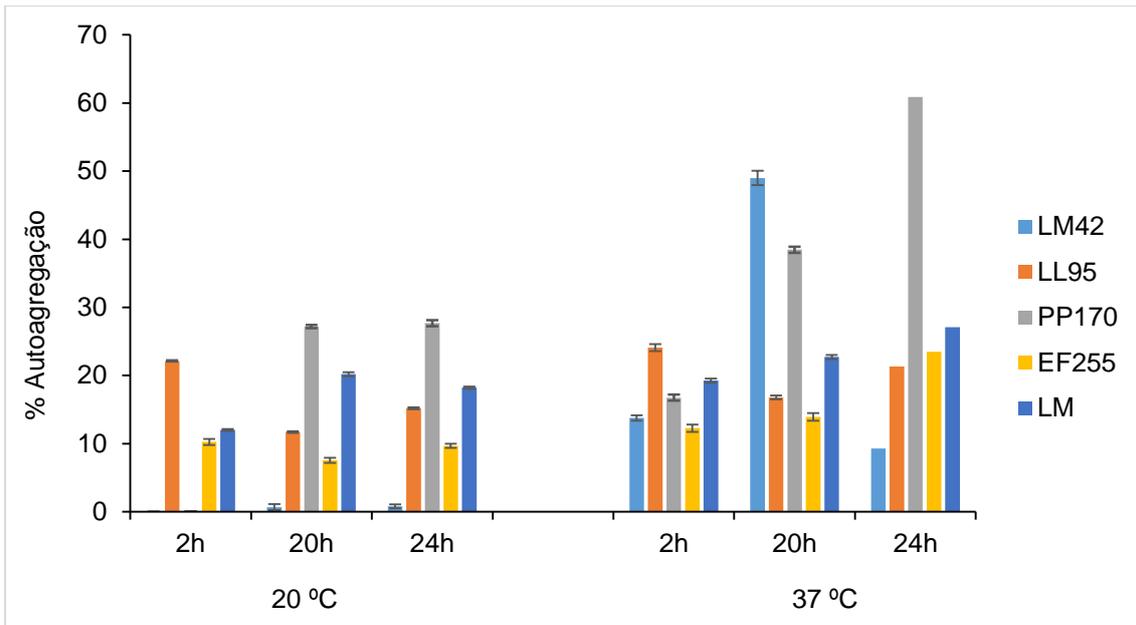


Figura 1. Percentual de autoagregação (%) dos isolados *Leuconostoc mesenteroides* LM42, *Lactobacillus lactis* LL95, *Pediococcus pentosaceus* PP170, *Enterococcus faecium* EF255 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, nas temperaturas de 20 °C e 37 °C.

#### Anexo 4

Tabela 7. Percentual de coagregação entre *Leuconostoc mesenteroides* LM42 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 em função da temperatura e do tempo

Tempo (horas)	Temperatura (°C)		Coagregação (%)	
	20	37		
2	10,41±0,42	a <sup>1/</sup>	4,44±1,98	b
20	17,19±0,08	b	24,21±2,62	a
24	41,64±5,49	a	26,20±4,44	b

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste t (p≤0,05) comparando as temperaturas dentro de cada tempo.

Tabela 8. Percentual de coagregação entre *Lactobacillus lactis* LL95 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 em função da temperatura e do tempo

Tempo (horas)	Temperatura (°C)		Coagregação (%)	
	20	37		
2	7,90±0,42	a <sup>1/</sup>	0±1,98	b
20	4,95±0,08	b	12,73±2,62	a
24	0±5,49	b	18,86±4,44	a

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste t (p≤0,05) comparando as temperaturas dentro de cada tempo.

Tabela 9. Percentual de coagregação entre *Pediococcus pentosaceus* PP170 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 em função da temperatura e do tempo

Tempo (horas)	Temperatura (°C)		Coagregação (%)	
	20	37		
2	33,08±0,42	a <sup>1/</sup>	25,46±1,98	b
20	37,45±0,08	a	37,82±2,62	a
24	29,74±5,49	b	36,06±4,44	a

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste t (p≤0,05) comparando as temperaturas dentro de cada tempo.

Tabela 10. Percentual de coagregação entre *Enterococcus faecium* EF255 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 em função da temperatura e do tempo

Tempo (horas)	Temperatura (°C)		Coagregação (%)	
	20	37		
2	6,36±0,42	a <sup>1/</sup>	2,94±1,98	b
20	12,25±0,08	b	28,74±2,62	a
24	20,49±5,49	a	16,49±4,44	b

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste t (p≤0,05) comparando as temperaturas dentro de cada tempo.

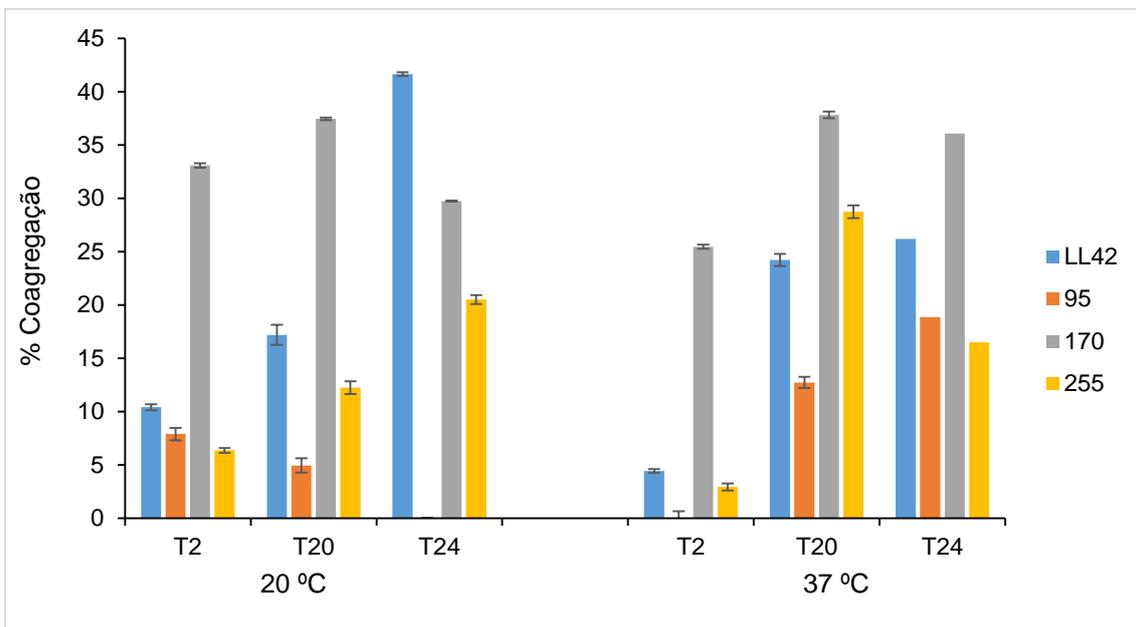


Figura 2. Percentual de coagregação dos isolados *Leuconostoc mesenteroides* LM42, *Lactobacillus lactis* LL95, *Pediococcus pentosaceus* PP170 e *Enterococcus faecium* EF255, nas temperaturas de 20 °C e 37 °C.

## Anexo 3



ISSN 1415-5273 versão impressa ISSN 1678-9865 versão on-line

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo e política](#)
- [Categoria artigo](#)
- [autoria](#)
- [Processo de Avaliação Manuscrito](#)
- [Preparação do manuscrito](#)
- [Checklist](#)
- [documentos](#)

#### Escopo e política

A *Revista de Nutrição* (Brazilian Journal of Nutrition) (e-ISSN1.678-9.865) é um periódico especializado que publica artigos que contribuem para o estudo da Nutrição em suas diversas subáreas e interfaces. É publicada bimestralmente e aberto a contribuições da comunidade científica nacional e internacional.

Artigos submetidos podem ser rejeitados sem comentários detalhados após análise inicial por pelo menos dois *Revista de Nutrição* (Revista Brasileira de Nutrição) editores se os manuscritos são considerados inadequados ou de prioridade científica insuficiente para publicação no Journal.

Todos os artigos devem ser submetidos eletronicamente em <<http://mc04.manuscriptcentral.com/rnscielo>>.

Todas as avaliações manuscrito terminará na segunda e última versão.

A *Revista de Nutrição* (Revista Brasileira de Nutrição) não publica mais de 1 (um) artigo do mesmo autor no mesmo ano (volume) para evitar endogeneidade. Este procedimento tem como objetivo aumentar o número de temas e colaborações feitas por autores nacionais e estrangeiros

#### Política aberta de acesso

The Journal proporciona acesso público a todo seu conteúdo, que é protegido pela licença Creative Commons (CCBY). Pesquisa envolvendo seres vivos resultados de pesquisas envolvendo seres humanos e animais, deve conter uma cópia da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

#### Registro de ensaios clínicos

artigos com resultados de pesquisas clínicas devem apresentar um número de identificação em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios estabelecidos ao Comitê da Organização Mundial da Saúde (OMS) e Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE), cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE < <http://www.icmje.org> >.

O número de identificação deve ser incluído no final do resumo.

#### Conflito de interesses

Autores: Os autores devem declarar de forma explícita e individualmente qualquer potencial conflito, direto ou indireto, financeira ou não financeira de interesse, etc., bem como qualquer conflito de interesses com *ad hoc* árbitros.

*Ad hoc* árbitros: Se qualquer um dos árbitros declarar um conflito de interesses, o Conselho Editorial encaminhará o manuscrito a outro *ad hoc* árbitro.

#### Plágio

O Jornal irá utilizar uma ferramenta para detecção de plágio em todos os artigos submetidos após o processo de revisão por pares.

#### Redes sociais

A fim de aumentar a sua divulgação, a *Revista de Nutrição* (Revista Brasileira de Nutrição) pede aos autores para divulgar seus artigos publicados no site do SciELO nas redes sociais abaixo, entre outros:

Academia.edu [https:// www. academia.edu/](https://www.academia.edu/)

Mendeley <https://www.mendeley.com/>

ResearchGate <http://www.researchgate.net/>

Google Scholar <https://scholar.google.com.br/schhp?hl=ptBR>

#### Categoria artigo

O Jornal publica apenas artigos originais em Inglês. No entanto, os autores podem enviar os artigos em Português, e se o artigo for aceito para publicação, o Jornal irá fornecer o nome e informações de contato de tradutores certificados pelo Journal. A tradução é paga pelos autores.

**Originais:** contribuições destinadas a divulgar os resultados de pesquisas inéditas, tendo em conta a relevância do tema, o alcance e o conhecimento gerado para a área de pesquisa (limite máximo de 3.500 mil palavras).

**Comente (por convite):** síntese do conhecimento disponível sobre um determinado tema, com base na análise e interpretação da literatura pertinente, com o objetivo de fazer uma análise crítica e comparativa dos trabalhos na área e discutir as limitações metodológicas e seu escopo. Ele também permite a indicação de perspectivas de prosseguimento de estudos em que a linha de pesquisa (limite máximo de 4 mil palavras).

**Nota Científica:** dados inéditos parciais de uma pesquisa em andamento (limite máximo de 1.500 mil palavras).

**Seção Temática (por convite):** seção cujo objetivo é publicar 2 ou 3 artigos coordenados de diferentes autores que cobrem um tema de interesse atual (máximo de 10 mil palavras). Haverá um máximo de dois comentários por edição.

#### Artigos de categoria e área de assunto

Os autores devem indicar a categoria do artigo e área de assunto, a saber: alimentação e ciências sociais, avaliação nutricional, bioquímica nutricional, nutrição, educação nutricional, epidemiologia e estatística, micronutrientes, nutrição clínica, nutrição experimental, nutrição e geriatria, nutrição, nutrição materna e infantil na produção de refeição, políticas de alimentação e nutrição e saúde.

O Journal of Nutrition não avaliar estudos que já foram apresentados em eventos nacionais ou estrangeiros e / ou traduzido para outras línguas, a fim de preservar a originalidade do estudo.

#### Autoria

A lista de autores, incluída abaixo do título, deve ser limitado a 6. O crédito de autoria deve ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho, ou análise e interpretação dos dados. A inclusão de autores cuja contribuição não se incluem nos critérios acima mencionados não se justifica. Os indivíduos que fizeram

contribuições menores podem ser listados na seção de agradecimentos. A primeira página do artigo deve conter a principal afiliação institucional e titulação acadêmica de cada autor.

Avaliação de Manuscrito só começarão após a inclusão dessas informações na página de título.

A página de identificação deve conter também um parágrafo descrevendo claramente a contribuição feita por cada autor.

Informar o ORCID® (Open pesquisador e colaborador ID) Número da ficha. Se você não tiver um, cadastre-se gratuitamente no < <https://orcid.org/register> >. Clique [aqui](#) para saber mais.

Os autores podem indicar três árbitros para avaliar o manuscrito e seus e-mails e afiliações institucionais respectivos. Como alternativa, os autores podem indicar três árbitros que não deve avaliar o seu manuscrito.

### Processo de Avaliação Manuscrito

Manuscritos originais serão aceitos para avaliação desde que não tenham sido submetidos a outra revista e / ou publicados em eventos de preservar o carácter original do artigo. Os manuscritos devem conter uma carta assinada por todos os autores solicitam o Jornal de publicar seu manuscrito.

Todos os manuscritos só vão começar a sofrer o processo de publicação se eles estão de acordo com as Instruções aos Autores. Se não, eles vão ser devolvidos para os autores a fazer os ajustes apropriados, incluem uma carta ou outros documentos que se fizerem necessários. Veja preparação produto do manuscrito.

Artigos com qualquer um dos erros mencionados acima serão devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Pré-análise: a avaliação é feita pelos Editores Científicos com base na originalidade, pertinência, qualidade acadêmica e relevância do manuscrito para a área da nutrição. Manuscritos aprovados nesta etapa será enviado para *ad hoc* árbitros. Cada manuscrito será enviado para três árbitros de reconhecida competência no tema. Os autores podem escolher um deles. Se houver discordância, o manuscrito será enviado para o quarto árbitro.

Artigos com qualquer um dos erros mencionados acima serão devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Todo o processo manuscrito terminará na segunda versão, que será final.

O processo de revisão por pares utilizado é o blind review, onde a identidade dos autores e os revisores não é mutuamente conhecido. Assim, os autores devem fazer todo o possível para evitar a identificação dos autores do manuscrito.

As opiniões dos usuários são um dos seguintes procedimentos: a) aprovado; b) nova análise necessários; c) se recusou. Os autores serão sempre informados da opinião dos colaboradores.

As opiniões dos pareceres dos relatores serão analisados pelos editores associados, que, então, sugerir ao Editor Científico se o manuscrito deve ser publicado. O Editor-in-

Chief vai tomar a decisão final sobre a publicação do manuscrito (aprovado ou rejeitado). Manuscritos rejeitados que podem ser reformulados pode ser apresentado novamente como um novo manuscrito e passam por um novo processo de avaliação.

Quando as mudanças são solicitadas pelos árbitros, o manuscrito será devolvido aos autores juntamente com opiniões e sugestões dos árbitros. Os autores têm 30 (trinta) dias para fazer os ajustes, respeitando o horário de Greenwich (Londres).

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos para publicação poderão retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações efectuadas durante os processos de edição e formatação, de acordo com o estilo do Journal.

Publicação em Inglês: se for aprovado, os artigos indicados pelo Conselho Editorial serão publicados em Inglês. Para o manuscrito a ser publicado, os autores devem fornecer a tradução em Inglês da versão aprovada pelo Journal. A tradução é pago pelos autores.

A fim de garantir a qualidade e uniformidade dos manuscritos traduzidos, o manuscrito deve ser traduzida por um tradutor altamente qualificado, com experiência comprovada na tradução de textos científicos, indicados e certificados pelo Journal.

Se o manuscrito precisa rever por um dos tradutores indicados pelo Journal, os autores devem seguir as instruções de formatação fornecidos por e-mail pelo jornal. Os autores são responsáveis por verificar toda a tradução (corpo do texto, ilustrações, tabelas, gráficos, etc.).

#### Provas

Provas PDF serão enviadas aos autores para a correção da arte final do manuscrito. As provas devem retornar para o Centro Edição da Revista antes do prazo (até 48 horas). Outras mudanças no manuscrito não serão aceitos durante este estágio.

Somente correções ortográficas ou a substituição de uma ou outra palavra, e os dados numéricos nas tabelas e gráficos serão aceitos. A inclusão e / ou exclusão de frases, parágrafos, imagens e referências não serão aceitos. Se algo precisa ser corrigido, faça-o da seguinte forma:

1. No arquivo PDF usando os recursos disponíveis; ou
2. Coloque uma nota em letras maiúsculas na margem do papel e enviar apenas as páginas digitalizadas com correções; ou
3. Faça uma lista em um documento do Word informando: página, coluna (direita ou esquerda), parágrafo correspondente, início da frase, e sua respectiva linha.

Os autores devem assinar os termos do acordo com a arte final (texto e ilustrações), cujos modelos serão enviados juntamente com as provas.

### Preparação do manuscrito

#### Apresentação de documentos

Os manuscritos devem ser acompanhados de uma carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho e da área temática, uma declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas ao Journal of Nutrition, um acordo para transferir os direitos de cópia e uma carta informando o a principal contribuição do estudo para a área.

Se o manuscrito contém figuras ou tabelas que já foram publicados em outros lugares, um documento dado pelo editor original que autoriza a sua utilização deve ser incluído.

Os manuscritos devem ser enviados para o Centro Editorial da Revista, ao site <<http://mc04.manuscriptcentral.com/rnscielo>> com um espaçamento entre linhas de 1,5, fonte Arial 11. O arquivo deve estar no Microsoft Word (doc) formato da versão 972003 ou melhor.

Qualquer outra forma de envio não será aceite pelos editores.

O corpo do artigo não pode ter qualquer informação que pode levar à identificação do (s) autor, que inclui referências aos estudos anteriores pelo mesmo autor (es) e a instituição, por exemplo.

As páginas devem ser numeradas iniciando na página de capa, que devem ser numeradas 1. Use página de tamanho A4, com margens superior e inferior de pelo menos 2,5 cm e as margens esquerda e direita de pelo menos 3 cm. Use espaçamento entre linhas de 1,5 e tamanho de fonte Arial 11. Salve o arquivo em um editor de texto similar ao Microsoft Word 2010.

É altamente recomendável que o (s) autor procurem os serviços de linguagem profissional (revisores e / ou tradutores certificados nos idiomas português ou inglês) antes de enviar artigos que podem ter semântica, gramática, erros morfológicos, idiomáticas ou estilísticas sintáticas.

Os autores ainda deve evitar (i) o uso de pronomes pessoais (meu estudo, observe-se, etc.). O discurso científico deve ser impessoal, sem juízo de valor, e usando a terceira pessoa do singular; (ii) os números iniciais frases devem ser escritos por extenso, não em algarismos arábicos; (iii) frases deve ser curto, claro e objetivo; (iv) os parágrafos que contenham apenas uma frase não são aceitáveis.

Os artigos devem ter, aproximadamente, 30 referências, exceto para artigos de revisão, que podem conter cerca de 50 referências. A referência deve conter sempre o Digital Object Identifier (DOI). Avaliado versão: envie as cópias da versão revisada do site <<http://mc04.manuscriptcentral.com/rnscielo>. > O autor (es) deve enviar apenas a última versão da obra.

Todas as correções solicitadas pelos árbitros devem ser feita com fonte azul ou sublinhado. O (s) autor deve anexar uma carta ao editor para a versão corrigida do manuscrito, reiterando o interesse em publicar no Jornal e listando as alterações que foram feitas no manuscrito. Se o autor (s) não concordar com qualquer das recomendações feitas pelos árbitros, eles devem apresentar argumentos que justificam sua posição. O título do trabalho e número de protocolo deve ser especificado.

A página de rosto deve conter: título completo em Português: (i) o título deve ser conciso e evitar palavras desnecessárias e / ou redundantes, como "avaliação do", "considerações sobre", "um estudo exploratório sobre"; (ii) não usar abreviaturas ou indicar a localização geográfica do estudo.

Sugerir um título curto em Inglês e Português ou Espanhol para o cabeçalho com não mais de 40 caracteres com espaços.

Incluir título completo em Inglês compatível com o título em Português incluem o nome completo de cada autor. Não abrevie os primeiros nomes.

Informar a origem, título, e afiliação institucional atual de cada autor na íntegra. Não use abreviações. Indicar o endereço completo da instituição do autor correspondente.

Informar o número de telefone e e-mail de todos os autores.

Indicação da categoria e área temática do artigo.

Informar explicitamente a contribuição feita por cada autor.

O crédito de autoria deve ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho do estudo, análise e interpretação dos dados, artigo de revisão e aprovação da versão final. Incluindo os nomes dos autores que não tenham feito qualquer uma das contribuições acima não se justifica.

Informar o ORCID® (Open pesquisador e colaborador ID) número recorde. Se você não tiver um, cadastre-se gratuitamente em: < <https://orcid.org/register> >. Saiba mais [aqui](#).

Informar se o artigo é baseado em uma dissertação ou tese, indicando o título, autor, universidade, e ano de publicação.

Os autores podem incluir uma nota de rodapé para reconhecer o patrocinador e indicar o número do processo e / ou aviso prévio, e reconhecer a colaboração de colegas e técnicos. O número não pode exceder três linhas. Nota: esta deve ser a única parte do texto identificação dos autores.

Abstract: todos os artigos submetidos em Espanhol Português ou deve conter um resumo em língua original e em Inglês, com pelo menos 150 palavras e máximo de 250 palavras.

Os artigos submetidos em Inglês devem conter um resumo em Português, além do resumo em Inglês.

Os artigos originais devem conter resumos estruturados contendo objetivos, métodos básicos de pesquisa, informações sobre local de estudo, população e amostra, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicando formas de continuidade do estudo.

As outras categorias devem conter um sumário narrativo, mas com as mesmas informações.

O texto não deve conter citações e abreviaturas. Fornecer de 3 a 6 palavras chave Usando descritores de Ciências da Saúde da BIREME. <[Http://decs.bvs.br](http://decs.bvs.br)>.

Texto: com exceção dos manuscritos apresentados como Revisão, Comunicação, Nota Científica e Ensaio, os trabalhos deverão seguir a estrutura formal para trabalhos científicos:

Introdução: deve conter uma revisão atual da literatura pertinente ao tema e apropriada para a apresentação do problema, salientando também a sua relevância. Não deve ser extensa com exceção dos manuscritos apresentados como artigos de revisão.

Métodos: deve conter descrição clara e sucinta do método, incluindo a literatura correspondente: procedimentos, universo e amostra, ferramentas de medição e método de validação e tratamento estatístico quando aplicável.

Com relação à análise estatística, os autores devem demonstrar que os procedimentos não eram somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também foram interpretados corretamente. Os níveis de significância estatística (por exemplo,  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ) devem ser mencionados.

Informar que a pesquisa foi aprovada por uma Comissão de Ética credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde e fornecer o número do protocolo.

Quando experimentos com animais são relatados, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e uso de animais de laboratório foram seguidos.

Resultados: sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas e figuras autoexplicativas e com análise estatística. Evitar a repetição dos dados no texto.

Ilustrações: Todos os tipos de tabelas, figuras, gráficos, desenhos, esquemas, fluxogramas, fotografias, mapas, organogramas, diagramas, esquemas, gráficos, imagens, ilustrações etc. são considerados, que servem para ilustrar os dados do estudo. Todos os estudos empíricos devem incluir o local de estudo e ano. Figuras não devem repetir os dados em tabelas ou já descrito no texto.

O número máximo de ilustrações aceites por artigo é de 5 (cinco), independentemente do tipo.

As ilustrações devem ser inseridas após as referências, e também apresentadas separadamente em seus formatos de arquivo originais na plataforma ScholarOne.

As ilustrações devem ser editáveis. Arquivos dos seguintes aplicativos são aceites: Excel, GraphPrism, SPSS 22, Corel Draw Suíte X7, e Word. Se outro aplicativo é usado, use a fonte padrão Frutiger tamanho 7, que é a fonte usada pelo jornal durante a edição.

As imagens devem ter uma resolução mínima de 600 dpi.

Gráficos e desenhos devem ser gerados em programas de design gráfico, como o Microsoft Excel, CorelDraw, Adobe Illustrator, etc., e acompanhados de seus parâmetros quantitativos em uma tabela. Incluir os nomes de todas as variáveis.

Os gráficos não deve conter as linhas de grade, e os seus elementos (bares, círculos) deve ser bidimensional (3D não são aceites).

O autor é responsável pela ilustração de qualidade. Deve ser possível reduzir o tamanho da ilustração, sem perda de definição para o tamanho de uma ou duas colunas (7 cm e 15 cm, respectivamente). O formato de paisagem não é aceite.

Fornecer um título curto e conciso a cada ilustração e numerá-los consecutivamente e de forma independente usando dígitos arábicos, na ordem em que são mencionadas no texto. Gráficos e tabelas terão as bordas laterais abertas.

Gráficos deve conter o título de todos os eixos e todas as colunas de tabelas e gráficos devem ter cabeçalhos.

As palavras Figura, Tabela, e anexo no texto devem ser capitalizados e acompanhado pelo respectivo número. Indique no texto onde as ilustrações devem ser inseridas. Mantenha os títulos concisa.

Sempre incluir notas explicativas. Se qualquer abreviação ou símbolo (negrito, asterisco, etc.) é usado, informe o seu significado na legenda da ilustração.

Se forem utilizados ilustrações publicadas em outras referências, anexar o documento contendo a autorização para a sua utilização e citar a fonte.

O conteúdo de ilustrações, tabelas, gráficos e figuras em artigos bilíngues ou artigos em qualquer idioma diferente do Português deve ser traduzido, e os números devem concordar com a linguagem do artigo. Por exemplo, artigos em Inglês usar um período para indicar a marca decimal: 1,254.76 gramas.

O uso de imagens coloridas é recomendado, e artigos de cores são publicados gratuitamente.

Discussão: a discussão deve corretamente e objetivamente explorar os resultados sob a luz de outras observações já publicadas na literatura.

Conclusão: apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. Citações bibliográficas não serão aceitas nesta seção.

Agradecimentos: podem ser feitas em um parágrafo não maior que três linhas a instituições ou indivíduos que prestaram efetiva colaboração para o trabalho.

Anexos : devem ser incluídos apenas quando eles são essenciais para a compreensão do texto. Os editores irá decidir sobre a necessidade da sua publicação.

Abreviaturas e siglas: deve ser usado de uma forma padronizada e restrita às utilizadas convencionalmente ou sancionados pela utilização, seguido pelo significado na totalidade quando é primeiramente mencionada no texto. Eles não devem ser usados no título e no resumo.

As referências devem seguir o estilo Vancouver

Referências devem ser numeradas consecutivamente de acordo com a ordem em que foram mencionadas pela primeira vez no texto, de acordo com o estilo Vancouver.

Todos os autores devem ser citados nas referências com dois a seis autores; se houver mais de seis autores, apenas os seis primeiros devem ser citados seguido por *et al.*

As abreviaturas dos periódicos citados deverão estar de acordo com o Index Medicus. Pelo menos 80% das referências devem ter sido publicados nos últimos cinco anos em revistas indexadas, e 20% nos últimos dois anos.

Citações / referências de monografias de graduação, trabalhos apresentados em congressos, simpósios, workshops, reuniões, entre outros, e de textos não publicados (aulas, entre outros) não serão aceitos.

Se um estudo inédito é citado (artigo in press), os autores devem enviar uma cópia da carta de aceitação (o artigo deve ser aprovado e tem uma data de publicação) da revista que irá publicar o artigo.

Se os dados não publicados obtidos por outros pesquisadores forem citados pelo manuscrito, é necessário incluir uma carta que autoriza a utilização desses dados pelos autores originais.

Citações de literatura no texto devem estar em ordem numérica, numerais arábicos, colocados após a citação em sobrescrito, e incluídos nas referências. Se dois autores são mencionados, ambos são citados usando o "&" entre; Se houver mais de dois autores, o primeiro autor é citado seguido pelo *et al.* expressão.

As citações diretas traduzido pelos autores devem ser acompanhados de uma nota de rodapé que contém o texto no idioma original. Indicam que a citação foi traduzido pelo autor como se segue: (Rodgers *et al.*, 2011, tradução nossa).

A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são da responsabilidade autor (es) . Todos os estudos citados no texto devem ser listados nas referências.

## Exemplos

### Artigo com mais de seis autores

Oliveira JS, Lira PIC, Veras ICL, Maia SR, Lemos MCC, Andrade SLL, *et ai* . Estado nutricional e insegurança Alimentar de adolescentes e Adultos em Duas Localidades de Baixo índice de Desenvolvimento Humano. Rev Nutr. 2009; 22 (4): 45366. [http://dx.doi.org/10.1590 / S141552732009000400002](http://dx.doi.org/10.1590/S141552732009000400002).

### Artigo com um autor

Burlandy L. A construção da Política de Segurança Alimentar e nutricional no Brasil: Estratégias e Desafios Para a Promoção da intersectorialidade no Âmbito Federal de Governo. Ciênc Saúde Coletiva. 2009; 14 (3): 85160. [http://dx.doi.org/10.1590 / S141381232009000300020](http://dx.doi.org/10.1590/S141381232009000300020).

### Artigo em meio eletrônico

Sichieri R, Moura EC. Análise das Multinível Variações no índice de massa Adultos Entre corporal, Brasil, 2006. Rev. Saúde Pública [Internet]. 2009 [Acesso 2009 dez 18]; 43 (suppl.2): 907. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003489102009000900012&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003489102009000900012&lng=pt&nrm=iso)>. [http://dx.doi.org/10.1590 / S003489102009000900012](http://dx.doi.org/10.1590/S003489102009000900012).

### Livro

Alberts B, Lewis J, Raff MC. Biologia molecular da célula. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; De 2010.

### Livro eletrônico

Brasil. Alimentação Saudável parágrafo Pessoa Idosa: um Manual para o Profissional da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2009 [Acesso 2010 Jan 13]. Disponível em: <[http://200.18.252.57/services/ebooks/alimentacao\\_saudavel\\_idosa\\_profissionais\\_sau\\_de.pdf](http://200.18.252.57/services/ebooks/alimentacao_saudavel_idosa_profissionais_sau_de.pdf)> .

### Capítulos de livros

Aciolly E. Banco de Leite. In: Aciolly E. Nutrição em Obstetrícia e Pediatria. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009. Unidade 4.

### Capítulos de livros eletrônicos

pímulas anticoncepcionais de emergência (PAEs). In: Organização Mundial da Saúde. Critérios Médicos de Elegibilidade para uso de anticoncepcionais. 4a ed. Genebra: OMS; 2009 [cited 2010 Jan 14]. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563888\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563888_eng.pdf)> .

### Dissertações e teses

Duran ACFL. Qualidade da dieta de Adultos Vivendo com HIV / SIDA e SEUs Fatores Associados [mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; De 2009.

## Textos eletrônicos

Sociedade Brasileira de Nutrição Parental e enteral. Assuntos de Interesse Farmacêutico fazer atuante na terapia nutricional. 2008/2009 [Acesso 2010 Jan 14]. Disponível em: <<http://www.sbnpe.com.br/ctdpg.php?pg=13&ct=A>>.

## Software

Software de avaliação nutricional. DietWin Professional [Programa de Computador]. Versão 2008. Porto Alegre: Brubins Comércio de Alimentos e Supergelados; 2008. Para outros exemplos, consulte as normas do Comitê de Editores de Revistas Médicas (Grupo Vancouver) a <<http://www.icmje.org>>.

## Checklist

Documentos: (i) Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais assinada por todos os autores, respeitando a ordem de autoria usado no artigo. (ii) Incluir a permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas em outros lugares. (iii) Cópia da autorização dada pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Verificar se o texto, incluindo o resumo, tabelas e referências use fonte Arial tamanho 11 e tem 1,5 espaçamento entre as linhas.

Verifique se as margens superiores e inferiores têm pelo menos 2,5 cm e as margens esquerda e direita têm, pelo menos, 3,0 cm.

Verifique se as informações das legendas das figuras e tabelas está completa. Prepare uma página de título com as informações solicitadas.

Cubra página com identificação completa dos autores como recomendado na preparação produto do manuscrito.

Incluir resumos estruturados para trabalhos originais e resumos narrativos para as outras categorias, com um máximo de 250 palavras, em ambas as línguas, português e inglês, ou espanhol quando aplicável, com as respectivas palavras chave.

Verificar se as referências estão listadas de acordo com o estilo Vancouver, numeradas de acordo com a ordem em que aparecem pela primeira vez no texto e se todas estão citadas no texto.

Ao submeter o manuscrito no local do ScholarOne, incluem todas as ilustrações em seus arquivos originais (para além da sua inserção após as referências no arquivo de texto) e todos os documentos assinados por todos os autores.

## documentos

Os seguintes documentos devem acompanhar artigos submetidos à Revista de Nutrição: (1) Declaração de responsabilidade; (2) A transferência dos direitos de autor; e (3) Estudo justificação. Quando aplicável, também incluem um documento que autoriza o uso de ilustrações (tabelas, gráficos, figuras, etc.) publicados em outras fontes.

Todos os documentos devem conter:

- Título do manuscrito;
- Nome completo de todos os autores (na mesma ordem em que aparecem no manuscrito) ;
- Autor correspondente;
- Assinatura de todos os autores.

modelos de documentos:

#### Declaração de responsabilidade

"Certifico que participei da concepção do trabalho e tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo e que não omiti quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo".

"Certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na totalidade, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, não foi enviado a outra revista e não será enviado a outra revista enquanto a sua publicação estiver sendo considerada pela Revista de Nutrição, seja em formato impresso ou eletrônico".

Autor (s) assinatura (s):

Encontro \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

#### Transferência de direitos autorais

"Se o manuscrito for aceito para publicação pelo Journal of Nutrition, o Journal of Nutrition terá o direito de autor manuscrito e nós, os autores, pode reproduzir, distribuir, transmitir, ou reutilizar o manuscrito imediatamente após a sua publicação no o site da SciELO na <http://www.scielo.br/rn>, necessariamente, citando a fonte."

Autor (s) assinatura (s):

Encontro \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

#### Justificação do artigo

I salientar que a principal contribuição do estudo para a área a que pertence é o seguinte: \_\_\_\_\_

(Escreva um parágrafo justificando por que a revista deve publicar seu artigo, destacando sua relevância científica, e sua contribuição para as discussões sobre a área a que pertence, o ponto (s) que caracteriza a sua originalidade e o consequente potencial para ser citada).

Dada a competência da área de estudo, indico o nome dos seguintes (três) pesquisadores que possam atuar como revisores do manuscrito. Declaro também que não há conflito de interesses para esta indicação.

Todos os autores listados na página de rosto devem assinar os documentos. Os documentos assinados devem ser enviados em fase 6 do processo de submissão da plataforma ScholarOne.

Fotos de assinaturas não serão aceitos. Apenas digitalizada ou assinaturas electrónicas são aceitos para evitar qualquer tipo de fraude. Os documentos devem ser apresentados em imagem e PDF.

#### Journal of Nutrition

Todos os artigos devem ser submetidos eletronicamente de acordo com as instruções publicadas em <http://mc04.manuscriptcentral.com/rnscielo>.

#### Núcleo de Editoração SBI Campus

Av II. John Boyd Dunlop, s / n, Prédio de Odontologia Jd.

Ipaussurama 13060904 Campinas,SP, Brasil. Fone / Fax: + 551933436875

Email: [sbi.submissionrn@puccampinas.edu.br](mailto:sbi.submissionrn@puccampinas.edu.br)

URL: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rnscielo>

*Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons*

*Revista de Nutrição*  
Núcleo de Editoração SBI Campus  
II Av.  
John Boyd Dunlop, s / n. Prédio de Odontologia  
Jd. Ipaussurama 13059900 Campinas SP  
Tel./Fax: +55 19 33436875

[sbi.submissionrn@puccampinas.edu.br](mailto:sbi.submissionrn@puccampinas.edu.br)