



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA - GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO
E INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE**

KARINA DE VARGAS CONY

**EFEITO DO CONSUMO DE REFRIGERANTE SOBRE A INGESTÃO
ALIMENTAR EM RATOS**

Porto Alegre/RS

2012

KARINA DE VARGAS CONY

**EFEITO DO CONSUMO DE REFRIGERANTE SOBRE A INGESTÃO
ALIMENTAR EM RATOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Martine Elisabeth Kienzle Hagen

Co-orientador: Prof. Dr. Gilberto Luiz Sanvitto

Colaboradores: MSc. Jéferson Ferraz Goularte, MSc. Amanda Brondani, Acadêmicos Ana Carla de Araújo da Cunha e Rafael Corrêa Caceres.

Porto Alegre/RS

2012

KARINA DE VARGAS CONY

**EFEITO DO CONSUMO DE REFRIGERANTE SOBRE A INGESTÃO
ALIMENTAR EM RATOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição.

Porto Alegre, Dezembro de 2012

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o trabalho de conclusão de curso “**EFEITO DO CONSUMO DE REFRIGERANTE SOBRE A INGESTÃO ALIMENTAR EM RATOS**”, Elaborado por Karina de Vargas Cony, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Comissão Examinadora:

Dr^a Erna Vogt de Jong

Dr^a Maria Flávia Marques Ribeiro

Dr^a. Martine Elisabeth Kienzle Hagen

AGRADECIMENTOS

À minha família que me apoiou e tem me apoiado nessa jornada, especialmente meu pai que foi meu grande incentivador e que hoje, infelizmente, não está mais aqui para ver o resultado de todo o seu esforço para me proporcionar o aprendizado.

À minha orientadora, Prof^a. Dr.^a Martine Elisabeth Kienzle, que me despertou a curiosidade por trabalhos experimentais, dando origem ao presente trabalho de conclusão de curso. Meus sinceros agradecimentos pelo conhecimento transmitido, pela disposição em ajudar e por ter me auxiliado em todos os momentos que precisei para a finalização deste trabalho.

Ao MSc. Jéferson Ferraz Goularte que foi, não só um colaborador para a execução do trabalho, mas também meu orientador e um grande amigo. Obrigada por compartilhar todo o teu conhecimento e experiência e pela grande ajuda desde o ensaio experimental até a redação do presente trabalho. Se eu não tivesse conhecido você nada disso seria possível.

Ao Prof. Dr. Gilberto Luiz Sanvitto que foi o inspirador para o tema deste trabalho e quem concedeu espaço no laboratório de Neuroendocrinologia do Comportamento para execução do mesmo. Obrigada por todo conhecimento compartilhado e por ter acreditado no meu trabalho.

A todos os integrantes do laboratório de Neuroendocrinologia do Comportamento, principalmente, Amanda, Ana Carla e Felipe, pela ajuda que foi fundamental para a execução do experimento e pela troca de conhecimento.

Às minhas amigas e colegas pelo apoio e incentivo em todos os momentos. Obrigada pelos dias que me fizeram descontraír, pelos dias que ouviram meus desabafos e pelos conselhos dados. Amo vocês!

E por último, mas não menos importante, ao meu namorado que esteve sempre ao meu lado, incentivando e apoiando. Obrigada pela compreensão e por fazer parte da minha vida. Te amo!

RESUMO

Introdução: O aumento da ingestão de refrigerantes calóricos foi identificado em diversos países como, Japão, Estados Unidos e Brasil. A ingestão excessiva de refrigerante pode contribuir para o aumento da epidemia de obesidade em todo o mundo ocidental. Existem controvérsias sobre o efeito da ingestão de bebidas calóricas e não-calóricas sobre a ingestão de alimentos sólidos e os estudos que abordam estes efeitos são escassos e inconclusivos.

Objetivo: O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito de refrigerante calórico e não-calórico sobre a ingestão quantitativa e qualitativa de alimentos sólidos e seus efeitos sobre o peso corporal e deposição de gordura intra-abdominal e perigonadal em ratos.

Métodos: Foram utilizados 30 ratos machos Wistar divididos em 3 grupos: grupo controle (ração padrão e água “ad libitum”), grupo refrigerante calórico (ração padrão, refrigerante calórico e água “ad libitum”) e grupo refrigerante não-calórico (ração padrão, refrigerante não-calórico e água “ad libitum”). Os animais receberam o tratamento no período de 17 semanas.

Resultados: A ingestão de refrigerante calórico e não-calórico não provocou mudanças na ingestão total de energia, peso corporal e deposição de gordura intra-abdominal e perigonadal no período analisado. Entretanto, o consumo de refrigerante calórico resultou em drástica redução na ingestão de alimentos sólido e aumento na ingestão total de líquidos. A ingestão de refrigerante não-calórico não influenciou a ingestão total de alimentos sólidos no final do tratamento, no entanto, em algumas semanas isoladas foi encontrada uma ingestão significativamente maior de alimentos no grupo refrigerante não-calórico quando comparado ao grupo controle.

Conclusão: De acordo com os resultados conclui-se que a exposição ao refrigerante calórico e não-calórico não provocou mudanças na ingestão total de energia, peso corporal e deposição de gordura intra-abdominal e perigonadal no período avaliado. Entretanto, a ingestão de refrigerante calórico influenciou a quantidade, e conseqüentemente, a qualidade de alimentos sólidos ingeridos. A ingestão de refrigerante não-calórico não influenciou a ingestão de alimentos e levou a maior ingestão de sódio. Tanto a ingestão de refrigerante calórico quanto a ingestão de refrigerante não-calórico levou ao aumento na ingestão de líquidos e reduziu a ingestão de água que foi substituída pela ingestão de refrigerante.

Palavras-chave: Refrigerante. Ingestão de alimento. Macronutrientes.

ABSTRACT

The effect of consumption of caloric and non-caloric beverages in food intake is controversial and studies in this issue are sparse and inconclusive. The present study aimed to evaluate the effect of caloric and non-caloric soft drink on the quantitative and qualitative intake of solid food in rats. We treated 30 male rats, divided into 3 groups: control group (standard diet and water “ad libitum”), caloric soft drink group (standard diet, caloric soft drink and water “ad libitum”) and non-caloric soft drink group (standard diet, non-caloric soft drink and water “ad libitum”). The animals received treatment within 17 weeks. The consumption of caloric and non-caloric soft drink at the end of treatment did not cause changes in total energy intake, body weight and intra-abdominal fat. However, the caloric soft drink consumption resulted in a reduction in solid food intake, increased carbohydrates consumption and high total liquids intake. While the non-caloric soft drink intake didn’t influence the total intake of solid food at the end of treatment. Based on the results, it was concluded that exposure to caloric and non-caloric soft drink caused no changes in total energy intake, body weight and intra-abdominal fat during the evaluation period. However, the caloric soft drink intake influenced the amount and the quality of solid food consumed. The non-caloric soft drink intake didn’t influence the food intake. The intake non-caloric soft drinks not influence the food intake and led to increased intake of sodium. Both the intake of caloric as non-caloric soft drink the intake led to an increase in fluid intake and reduced intake of water was replaced by intake soft drink.

Key-words: Soft drink. Food intake. Macronutrients.

LISTA DE TABELAS

Artigo original

Tabela 1. Valores nutricionais de refrigerante tipo cola calórico e não-calórico.....	7
Tabela 2. Ingestão diária de energia, ração padrão, nutrientes e líquidos no final do experimento (semana 17).....	20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 CONSUMO DE REFRIGERANTE.....	9
1.2 INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE REFRIGERANTE NA INGESTÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DE ALIMENTOS SÓLIDOS.....	11
1.3 INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE REFRIGERANTE NA INGESTÃO DE LÍQUIDO.....	13
1.4 INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE REFRIGERANTE NO PESO E GORDURA INTRA-ABDOMINAL	13
2 JUSTIFICATIVA	15
3 OBJETIVOS	16
3.1 OBJETIVO GERAL.....	16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
REFERÊNCIAS	17
4 ARTIGO ORIGINAL: “EFEITO DO CONSUMO DE REFRIGERANTE SOBRE A INGESTÃO ALIMENTAR EM RATOS”	20
4.1 PERIÓDICO DE ESCOLHA	20
ANEXOS	23
ANEXO A – NORMAS DA REVISTA BRITISH JOURNAL OF NUTRITION.....	24

1 INTRODUÇÃO

Importantes modificações no padrão alimentar humano surgiram nas últimas décadas, principalmente, nos países em desenvolvimento, como o Brasil, a China, o México, entre outros. Essas modificações são caracterizadas pelo aumento na ingestão de alimentos industrializados, ricos em gordura e sacarose (POPKIN, 2001; POPKIN; LARSEN, 2004; RIVERA *et al.*, 2004).

Simultaneamente a estas alterações no comportamento alimentar, encontra-se maior prevalência de sobrepeso e obesidade (RIVERA *et al.*, 2004). Alguns autores sugerem que a ingestão excessiva de bebidas açucaradas como o refrigerante pode contribuir para o aumento da epidemia de obesidade, alterando o padrão de alimentação e promovendo o ganho de peso (LINDQVIST; BAELEMANS; ERLANSON-ALBERTSSON, 2008; MALIK *et al.*, 2010).

Dados epidemiológicos recentes apontam a ingestão de refrigerante como uma das principais contribuições para a obesidade e problemas de saúde relacionados (VARTANIAN; SCHWARTZ; BROWNELL, 2007; MALIK *et al.*, 2010), como o *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) e a síndrome metabólica (BRAY, 2010; VARTANIAN; SCHWARTZ; BROWNELL, 2007; HOSTMARK, 2010; MALIK *et al.*, 2010). Entretanto tais estudos possuem limitações, pois não é possível estabelecer relação de causa e efeito.

1.1 CONSUMO DE REFRIGERANTE

O aumento da ingestão de refrigerantes calóricos foi identificado em diversos países como o Japão, os Estados Unidos e o Brasil (YAMADA *et al.*, 2008; NIELSEN; POPKIN, 2004; RIVERA *et al.*, 2004), fato que se deve, principalmente, à ocidentalização do comportamento alimentar que é caracterizado por uma maior ingestão de alimentos processados, ricos em sacarose e gordura (RIVERA *et al.*, 2004). Há um século, como início da produção industrial dos refrigerantes, a ingestão de sacarose aumentou ainda mais, pois este é o principal adoçante utilizado nessas bebidas calóricas (BRAY, 2010). Os refrigerantes

tipo cola têm em sua composição ácido fosfórico, cafeína, extrato de noz de cola, corantes e acidulantes (HOSTMARK, 2010), além de sacarose ou xarope de milho de alta frutose presente nos refrigerantes calóricos ou edulcorantes (ciclamarato de sódio, acesulfame de potássio e aspartame) utilizados em refrigerantes não-calóricos.

Nielsen e Popkin (2004) analisaram mudanças na ingestão de bebidas no período de 1977 a 2001, nos EUA, com resultados indicando aumento na ingestão de refrigerantes em todas as faixas etárias, sendo os maiores aumentos observados em crianças (2-18 anos), de 3% para 6,9% e em adultos jovens (19-39 anos) de 4,1% para 9,8%. Em consonância, um estudo, realizado na Alemanha, compreendendo dados secundários de inquéritos alimentares realizados em 1997 (National Diet and Nutrition Survey for Young People) também evidenciou aumento na ingestão de refrigerantes entre crianças e adolescentes (4-18 anos) (FENG; MARRERO; MACGREGOR, 2008). Neste trabalho cinquenta e seis por cento da ingestão total de líquidos foi sob a forma de refrigerante, dos quais 55% foram refrigerantes calóricos e 45% foram refrigerantes de baixas calorias.

No Brasil, segundo dados obtidos da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), o refrigerante tipo cola foi o mais adquirido pela população brasileira no período de 2008-2009 (BRASIL, 2010a). Nos últimos 6 anos, segundo a mesma pesquisa, a média de aquisição “per capita” anual de refrigerante tipo cola aumentou aproximadamente 3,6 litros/ano, passando de 9 litros/ano em 2002-2003 para 12,6 litros/ano em 2008-2009 (BRASIL, 2004, 2010a). Entre todas as regiões brasileiras pesquisadas, a região sul mostrou o maior aumento de aquisição per capita anual de refrigerante tipo cola, passando de 13 litros/ano em 2002-2003 para 20,3 litros/ano em 2008-2009 (BRASIL, 2004, 2010a). Recentemente, identificou-se que 30,9% dos homens e 25,7% das mulheres ingerem refrigerante 5 vezes por semana no Brasil (BRASIL, 2010b).

Os refrigerantes não-calóricos, por outro lado, representam parcela menor das bebidas ingeridas em alguns países. No Canadá, a maior prevalência de ingestão de refrigerantes não-calóricos, aproximadamente 10%, foi encontrada entre indivíduos de 31 a 70 anos de idade (GARRIGUET, 2008). Aqueles que relataram beber refrigerantes não-calóricos beberam porções semelhantes aos que relataram ingerir refrigerantes calóricos. Nos Estados Unidos, o número de indivíduos que ingerem produtos não-calóricos (adoçados com edulcorantes) aumentou mais que o dobro no período de 1987-2000 (SWITHERS; DAVIDSON, 2007). Em 1987, aproximadamente 70 milhões de indivíduos faziam o uso de produtos adoçados com

edulcorantes e no ano de 2000 esta ingestão aumentou para cerca de 160 milhões. Estudos mais recentes, que analisaram o período de 2003-2004, indicaram que 15,1% de todos os americanos consumiam alimentos ou bebidas adoçadas com edulcorantes (MATTES; POPKIN, 2009). A prevalência de ingestão de refrigerantes não-calóricos no Brasil é de aproximadamente 1,6% (BRASIL, 2011). Um levantamento em 2012 com adultos norte-americanos, realizado pelo International Food Information Council Foundation, descobriu que as principais razões dos indivíduos para consumir refrigerantes não-calóricos são por considerarem uma opção para diabéticos, para reduzir o teor calórico dos alimentos e para controlar ou perder peso (GARDNER *et al.*, 2012).

1.2 INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE REFRIGERANTE NA INGESTÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DE ALIMENTOS SÓLIDOS

Em diversos estudos experimentais com animais foi evidenciada a redução da ingestão de alimentos sólidos durante a exposição a refrigerantes calóricos (MILEI *et al.*, 2011; CONTRERAS-GARCÍA *et al.*, 2000; BELPOGGI *et al.*, 2006; GOULARTE; FERREIRA; SANVITTO, 2012) e outras bebidas adoçadas com sacarose (LINDVIST *et al.*, 2005; LINDQVIST; BAELEMANS; ERLANSON-ALBERTSSON, 2008; SWITHERS; DAVIDSON, 2007). Nestes, apesar de haver uma redução na ingestão de alimentos sólidos, foi observado um aumento na ingestão energética total, devido principalmente a uma maior ingestão de refrigerante, o que contribui para o aumento da ingestão energética total (MILEI *et al.*, 2011; CONTRERAS-GARCÍA *et al.*, 2000). Animais com acesso “ad libitum” a refrigerantes calóricos apresentaram redução da ingestão energética de alimentos sólidos (ração padrão e dieta de cafeteria), como demonstrado em um estudo com animais em que a ingestão de refrigerante calórico contribuiu tanto para a redução da ingestão de ração padrão quanto dos alimentos sólidos da dieta de cafeteria (GOULARTE; FERREIRA; SANVITTO, 2012), sendo esta última considerada altamente palatável. No entanto, em uma pesquisa experimental envolvendo um grupo de 44 mulheres que receberam bebidas calóricas (leite com 1% de gordura, suco de fruta e refrigerante cola calórico) ou não-calóricas (refrigerante cola não-calórico e água) para ingerir simultaneamente com uma única refeição, um almoço “ad libitum”, por seis semanas, não foi observada diferença na ingestão de alimentos sólidos, a única diferença foi o aumento da ingestão energético, resultado do conteúdo de energia das

bebidas (DELLA VALLE; ROE; ROLLS, 2005). A sensação de saciedade também foi semelhante entre os grupos que ingeriram bebidas calóricas e não-calóricas. A interpretação do estudo pode ser limitada, pois levou em consideração apenas uma refeição diária.

Entre os compostos presentes nos refrigerantes não-calóricos e que parecem afetar a saciedade estão os edulcorantes, um grupo de substâncias que produzem sabor doce e que contém pouca ou nenhuma caloria (GARDNER *et al.*, 2012). A intensidade do sabor doce dos edulcorantes é maior do que a encontrada em adoçantes calóricos como a sacarose e o xarope de milho de alta frutose. Os principais edulcorantes utilizados como adoçantes em refrigerantes não-calóricos e alimentos são o aspartame, o acesulfame de potássio, a sucralose e a sacarina (GARDNER *et al.*, 2012). Existem controvérsias se há relação entre a ingestão de edulcorante e o apetite. Alguns estudos de revisão da literatura sugerem aumento no apetite em indivíduos que foram submetidos à exposição aguda a edulcorante em produtos contendo pouca ou nenhuma energia, porém, outros sugerem que não há alteração no apetite quando indivíduos são expostos a produtos adoçados com edulcorante comparados com produtos adoçados com sacarose (MATTES; POPKIN, 2009). Em experimentos com animais, Milei e colaboradores (2011) não observaram alteração na ingestão de alimentos e na ingestão energética total em animais tratados com refrigerante não-calórico comparados aos animais tratados com água, por outro lado, Swithers e Davidson (2007) identificaram aumento na ingestão energética total dos animais tratados com uma bebida não-calóricas.

Estudos sobre os efeitos da ingestão de refrigerante nos hábitos alimentares são muito recentes (YAMADA *et al.*, 2008; VARTANIAN; SCHWARTZ; BROWNELL, 2007). Alguns trabalhos sugerem que a ingestão de refrigerante parece influenciar a qualidade e a quantidade de ingestão de nutrientes em humanos. Uma revisão da literatura sugeriu associações positivas entre a ingestão de refrigerante e aumento da ingestão total de energia e de carboidratos e redução na ingestão de proteínas, fibras dietéticas, cálcio e riboflavina (VARTANIAN; SCHWARTZ; BROWNELL, 2007). Em um estudo transversal, os autores descreveram associação positiva entre ingestão de refrigerantes, doces, gorduras e associação negativa entre a ingestão de refrigerantes, legumes, frutas, leguminosas, peixes, arroz, ovos e leite (YAMADA *et al.*, 2008). Portanto, a ingestão de refrigerante parece estar associada à dieta de baixa qualidade (YAMADA *et al.*, 2008; VARTANIAN; SCHWARTZ; BROWNELL, 2007).

1.3 INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE REFRIGERANTE NA INGESTÃO DE LÍQUIDOS

Em um estudo transversal realizado com 3.931 mulheres japonesas, a ingestão de refrigerantes calóricos foi associada positivamente com a ingestão de suco de frutas e refrigerantes não-calóricos, e negativamente com a ingestão de café, leite e chá preto (YAMADA *et al.*, 2008).

Estudos experimentais demonstraram maior ingestão de líquidos por animais tratados com refrigerantes calóricos, como única fonte de líquido, comparados aos animais que receberam água como única fonte de líquidos, por um período experimental igual ou superior a seis meses (LINDVIST *et al.*, 2005; BELPOGGI *et al.*, 2006; MILEI *et al.*, 2011). Outros autores identificaram aumento na ingestão total de líquidos por animais tratados com água e refrigerante calórico “ad libitum” (GOULARTE; FERREIRA; SANVITTO, 2012). No entanto, a maior ingestão de líquidos ocorreu devido a contribuição da ingestão aumentada de refrigerante. Quanto à ingestão total de líquidos por animais tratados com refrigerante não-calórico, não foi observada diferença significativa quando comparados aos animais tratados com água (MILEI *et al.*, 2011).

1.4 INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE REFRIGERANTE NO PESO E GORDURA INTRA-ABDOMINAL

A influência do consumo de refrigerante sobre o peso corporal é controversa. Revisões da literatura apontam a ingestão de bebidas calóricas (adoçadas com açúcar) como principal contribuinte para o ganho de peso (MALIK *et al.*, 2010). Estudos com animais identificaram aumento no peso corporal nos grupos tratados com refrigerante calórico, como substituto da água, quando comparado aos grupos que foram tratados com água em um período igual ou superior a seis meses (BELPOGGI *et al.*, 2006; MILEI *et al.*, 2011). Por outro lado, outros trabalhos não encontraram diferença no peso corporal dos animais tratados com refrigerante

calórico como a única fonte de líquido comparado ao grupo tratado com água como única fonte de líquido no período de dois meses (CONTRERAS-GARCÍA,2000).

Estudos epidemiológicos mostraram relação positiva entre a ingestão de bebidas não-calóricas e o ganho de peso (FOWLER *et al.*, 2008). Contudo, por serem estudos observacionais não foi possível estabelecer relação de causa e efeito. Além disso, indivíduos com excesso de peso podem optar pelo uso de alimentos e/ou bebidas adoçados com edulcorantes não-calóricos com o objetivo de ingerir menos calorias e perder peso (GARDNER *et al.*, 2012) e assim constituem um viés para estes trabalhos. Uma meta-análise analisou a relação do uso de edulcorantes e o ganho de peso, através de estudos controlados com humanos e concluíram que o uso de edulcorantes como substituto da sacarose auxilia na perda de peso (DE LA HUNTY; GIBSON; ASHWELL, 2006). Em um total de nove estudos, quatro identificaram menor ganho de peso em indivíduos tratados com edulcorantes, enquanto nos demais não foi observada diferença significativa no ganho de peso. Raben e colaboradores (2002) observaram aumento de peso corporal e gordura corporal em indivíduos que receberam bebidas e alimentos adoçados com sacarose e redução no peso corporal e na gordura corporal foi encontrada nos indivíduos que receberam bebidas e alimentos adoçados com edulcorantes. Em consonância, um recente ensaio clínico randomizado, realizado com 641 crianças de 4 a 11 anos, tratadas com bebidas calóricas e não-calóricas, no período de 18 meses, identificou menor ganho de peso e gordura corporal nas crianças tratadas com bebida não-calórica quando comparadas com as crianças tratadas com refrigerante calórico (RUYTER *et al.*, 2012)

2 JUSTIFICATIVA

Visto que, estudos recentes sugerem uma possível alteração do comportamento na ingestão de alimentos sólidos após a administração de refrigerantes e, sendo esta questão pouco explorada pelos autores e ainda inconclusiva, este estudo se propôs a analisar o efeito da ingestão de refrigerantes calóricos e não-calóricos no comportamento de ingestão de alimentos sólidos e, por sua vez, seus possíveis efeitos sobre o peso corporal e peso do tecido adiposo intra-abdominal em ratos. O refrigerante tipo cola foi escolhido por ser o tipo de refrigerante mais consumido no Brasil.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar os efeitos da ingestão de refrigerante tanto calórico como não-calórico, sobre a ingestão alimentar, o peso corporal e deposição do tecido adiposo intra-abdominal (retroperitoneal e mesentérico) e perigonadal em ratos machos Wistar.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Avaliar o efeito da ingestão de refrigerante calórico e não-calórico sobre a ingestão de ração padrão, ingestão total de líquidos, ingestão energética, ingestão de macronutrientes (carboidrato, lipídios e proteína) e ingestão de sódio;

2) Avaliar o efeito da ingestão de refrigerante calórico e não-calórico sobre o peso corporal e deposição do tecido adiposo intra-abdominal (retroperitoneal e mesentérico) e perigonadal.

REFERÊNCIAS

BELPOGGI, F *et al.* Results of Long-Term Carcinogenicity Bioassays on Coca-Cola Administered to Sprague-Dawley Rats. **New York Academy of Sciences**, v. 1076, p.736-752, 2006.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Gestão e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamento Familiar (POF). Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos – período 2002-2003. (2004). Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002aquisicao/tab11.pdf>> Acessado no dia 1º/08/2011.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Gestão e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamento Familiar (POF). Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos – período 2008-2009. (2010a) Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/tabelas_pdf/tab111.pdf> Acessado no dia 1º/08/2011.

BRASIL. Ministério da Saúde (Ministério da Saúde). Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquéritos Telefônicos (VIGITEL). (2010b). Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/vigitel_180411.pdf> Acessado em 1º/08/2011.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Gestão e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamento Familiar (POF). Prevalência de consumo alimentar, por sexo, segundo os alimentos - Brasil - período 2008-2009. (2011). Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_analise_consumo/tabelas_pdf/tab_1_2.pdf> Acessado no dia 1º/08/2011.

BRAY, GA. Soft drink consumption and obesity: it is all about fructose. **Current Opinion in Lipidology**, v.21, p.51–57, 2010.

CONTRERAS-GARCÍA, F *et al.* Cola Beverage Consumption Induces Bone Mineralization Reduction in Ovariectomized Rats. **Archives of Medical Research**, v.31, p. 360–365, October 2000.

DE LA HUNTY, A; GIBSON, S; ASHWELL, M. A review of the effectiveness of aspartame in helping with weight control. **British Nutrition Foundation**, v.31, p.115–128, 2006.

DELLA VALLE, DM; ROE, LS; ROLLS, BJ. Does the consumption of caloric and non-caloric beverages with a meal affect energy intake? **Appetite**, v. 44, p. 187–193, 2005.

FENG, JHe; MARRERO, NM; MACGREGOR, GA. Salt Intake Is Related to Soft Drink Consumption in Children and Adolescents. A Link to Obesity? **Hypertension**, v. 51, p. 629-634, 2008

FOWLER, SP *et al.* Fueling the Obesity Epidemic? Artificially Sweetened Beverage Use and Long-term Weight Gain. **Obesity**, v.16, p.1894–1900, June 2008.

GARDNER, C *et al.* Nonnutritive Sweeteners: Current Use and Health Perspectives. **Diabetes Care**, p. 1798-1808, July 2012.

GARRIGUET, D. Beverage consumption of Canadian adults. **Statistics Canada**, v.19, n. 4, December 2008.

GOULARTE, JF; FERREIRA, MBC; SANVITTO, GL. Efeitos da modificação alimentar e exercício físico sobre alterações produzidas pela dieta de cafeteria em ratas. **British Journal of Nutrition**, p. 1-8, 2012.

HOSTMARK, AT. The Oslo Health Study: Soft drink intake is associated with the metabolic syndrome. **Applied Physiology Nutrition Metabolism**, v. 35, p. 635-642, September 2010

LINDQVIST, A *et al.* Overeating of palatable food is associated with blunted leptin and ghrelin responses. **Regulatory Peptides**, v. 130, p. 123 – 132, June 2005.

LINDQVIST, A; BAELEMANS, A; ERLANSON-ALBERTSSON, C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. **Regulatory Peptides**, v. 150 p. 26–32, June 2008.

MALIK, VS *et al.* Sugar-Sweetened Beverages, Obesity, Type 2 Diabetes Mellitus, and Cardiovascular Disease Risk. **Circulation**, v. 121, p. 1356-1364, 2010.

MATTES, DR; POPKIN, BM. Non-nutritive sweetener consumption in humans: Effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 89, p. 1-14, January 2009.

MILEI, *Jet al.* Chronic cola drinking induces metabolic and cardiac alterations in rats. **World Journal Cardiology**, v. 26, p. 111-116, April 2011.

NIELSEN, SJ; POPKIN, BM. Changes in Beverage Intake Between 1977 and 2001. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 27, p. 205–210, 2004.

POPKIN, BM. The Nutrition Transition and Obesity in the Developing World. **American Society for Nutritional Sciences**, p. 871-873, 2001.

POPKIN, BM; LARSEN, PG. The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. **International Journal of Obesity**, v. 28, p. 2-9, 2004.

RABEN, A *et al.* Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. **American Journal Clinical Nutrition** v. 76, p. 721–729, 2002.

RIVERA, JA *et al.* Nutrition Transition in Mexico and in Other Latin American Countries. **Nutrition Reviews**, v. 62, p. 149-157, July 2004.

RUYTER, J.C *et al.* A Trial of Sugar-free or Sugar-Sweetened Beverages and Body Weight in Children. **N England Journal Medical**, v. 367, October 2012.

SWITHERS, SE; DAVIDSON, TL. A Role for Sweet Taste: Calorie Predictive Relations in Energy Regulation by Rats. **Behavioral Neuroscience**, 2007.

VARTANIAN, LR; SCHWARTZ, MB; BROWNELL, KD. Effects of Soft Drink Consumption on Nutrition and Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. **American Journal of Public Health**, v. 97, n. 4, April 2007.

YAMADA, M *et al.* Soft Drink Intake Is Associated with Diet Quality Even among Young Japanese Women with Low. **Journal American Diet Association**. v. 108, p. 1997-2004, 2008.

4 ARTIGO ORIGINAL: “EFEITO DO CONSUMO DE REFRIGERANTE SOBRE A INGESTÃO ALIMENTAR EM RATOS”

4.1 PERIÓDICO DE ESCOLHA

Revista: British Journal of Nutrition

Área (s): Nutrição clínica humana e animal e ciências básicas aplicadas à nutrição.

Fator de Impacto: 3.013

1 **Efeito do consumo de refrigerante sobre a ingestão alimentar em ratos**

2

3 Karina V. Cony¹, Jéferson F. Goularte², Gilberto L. Sanvitto², Martine E. K Hagen^{1*}

4

5 ¹Internal Medicine Department, Nutrition Course and CESAN-HCPA, Ramiro Barcelos,
6 2.400 – 4ºandar, 90035-003 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto
7 Alegre, RS, Brasil

8 ²Physiology Department, Institute of Basic Health Sciences, Sarmiento Leite, 500, 90050-
9 170 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

10

11 *Autor para correspondência: M. E. K Hagen

12 Internal Medicine Department, Nutrition Course and CESAN-HCPA

13 Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS),

14 Ramiro Barcelos, 2400 - 4º andar - CEP 90035-003 - Porto Alegre - RS

15 Tel: +552151 33085122

16 e-mail: martine.hagen@ufrgs.br

17

18 **Efeito do refrigerante na ingestão alimentar**

19

20 **Resumo**

21 Os efeitos do consumo de bebidas calóricas e não-calóricas na ingestão de alimentos são
22 controversos e as pesquisas que abordam estes efeitos são escassos e inconclusivos. O
23 presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito do consumo de refrigerantes calóricos e não-
24 calóricos, sobre a ingestão quantitativa e qualitativa de alimentos sólidos em ratos. Foram
25 utilizados 30 ratos machos divididos em 3 grupos: grupo controle (ração padrão e água “ad
26 libitum”), grupo refrigerante calórico (ração padrão, refrigerante calórico e água “ad libitum”)
27 e grupo refrigerante não-calórico (ração padrão, refrigerante não-calórico e água “ad
28 libitum”). Os animais receberam o tratamento no período de 17 semanas. O consumo de
29 refrigerante calórico e não-calórico não provocou mudanças na ingestão total de energia,
30 peso corporal e gordura intra-abdominal no período do estudo. Entretanto, o consumo de
31 refrigerante calórico resultou em uma redução na ingestão de alimentos sólidos, aumento do
32 consumo de carboidratos e elevada ingestão total de líquidos. Enquanto que a ingestão de
33 refrigerante não-calórico não influenciou a ingestão total de alimentos sólidos no final do
34 tratamento. A partir dos resultados, concluiu-se que a exposição a refrigerante calórico e não-
35 calórico não provocou mudanças na ingestão total de energia, peso corporal e gordura intra-
36 abdominal no período avaliado. Entretanto, a ingestão de refrigerante calórico influenciou a
37 quantidade e a qualidade de alimentos sólidos consumidos. A ingestão de refrigerante não
38 calórico não influenciou a ingestão de alimentos.

57 Abstract

58 The effect of consumption of caloric and non-caloric beverages in food intake is controversial
59 and studies in this issue are sparse and inconclusive. The present study aimed to evaluate the
60 effect of caloric and non-caloric soft drink on the quantitative and qualitative intake of solid
61 food in rats. We treated 30 male rats, divided into 3 groups: control group (standard diet and
62 water “ad libitum”), caloric soft drink group (standard diet, caloric soft drink and water “ad
63 libitum”) and non-caloric soft drink group (standard diet, non-caloric soft drink and water “ad
64 libitum”). The animals received treatment within 17 weeks. The consumption of caloric and
65 non-caloric soft drink at the end of treatment did not cause changes in total energy intake,
66 body weight and intra-abdominal fat. However, the caloric soft drink consumption resulted in
67 a reduction in solid food intake, increased carbohydrates consumption and high total liquids
68 intake. While the non-caloric soft drink intake didn’t influence the total intake of solid food at
69 the end of treatment. Based on the results, it was concluded that exposure to caloric and non-
70 caloric soft drink caused no changes in total energy intake, body weight and intra-abdominal
71 fat during the evaluation period. However, the caloric soft drink intake influenced the amount
72 and the quality of solid food consumed. The non-caloric soft drink intake didn’t influence the
73 food intake.

97 **Introdução**

98 O aumento da ingestão de refrigerantes calóricos foi identificado em diversos países
99 como, o Japão, os Estados Unidos e o Brasil^(1,2,3). Alguns autores sugerem que a ingestão
100 excessiva de bebidas açucaradas como o refrigerante, pode contribuir para o aumento da
101 epidemia de obesidade em todo o mundo ocidental, alterando o padrão de alimentação e
102 promovendo o ganho de peso^(4,5).

103 Há controvérsias sobre o efeito da ingestão de bebidas calóricas e não-calóricas na
104 ingestão de alimentos. Redução na ingestão de alimentos sólidos durante a exposição a
105 refrigerantes calóricos foi evidenciada em diversos estudos experimentais com animais^(6,7,8,9).
106 Por outro lado, estudos com humanos não observaram esta compensação na ingestão de
107 energia através da redução na ingestão de alimentos sólidos quando os indivíduos foram
108 expostos a bebidas contendo sacarose^(10,11), contudo estes estudos são limitados, pois
109 geralmente consideram uma única refeição ao longo do dia e a curto prazo. Em experimentos
110 com animais, não foi observado alteração na ingestão de alimentos e na ingestão energética
111 total em animais tratados com refrigerante não-calórico⁽¹¹⁾, por outro lado, Swithers e
112 Davidson⁽¹²⁾ (2007) descreveram aumento na ingestão energética total nos animais tratados
113 com uma bebida não-calórica. Em humanos, não foi identificado aumento na ingestão de
114 alimentos em indivíduos tratados com edulcorantes⁽¹³⁾.

115 Gardner *et al*⁽¹⁴⁾ (2012) avaliaram os efeitos da ingestão de edulcorantes comparados
116 aos adoçantes calóricos, mas os resultados não são conclusivos para determinar se o uso dos
117 edulcorantes em alimentos auxilia no controle do apetite e da ingestão de energia, na
118 diminuição do peso corporal ou dos riscos cardiometabólicos. Alguns resultados sugerem que
119 o uso moderado de edulcorantes pode auxiliar na redução da ingestão de açúcar, resultando na
120 diminuição da ingestão de energia, redução de peso corporal e melhorando os parâmetros
121 metabólicos. Porém, esses potenciais efeitos benéficos podem não ser atingidos se houver
122 aumento compensatório da ingestão de energia de outras fontes alimentares.

123 A qualidade da dieta com exposição ao refrigerante calórico e não-calórico é pouco
124 explorada, principalmente em estudos controlados. Estudos sobre os efeitos da ingestão de
125 refrigerante calórico sobre os hábitos alimentares são muito recentes. Alguns trabalhos
126 sugerem que a ingestão de refrigerante pode influenciar na quantidade e qualidade da ingestão
127 de nutrientes em humanos, podendo ser caracterizada como uma dieta de baixa qualidade^(15, 3).

128 A influência do consumo de refrigerante sobre o peso corporal é controverso. Estudos
129 experimentais identificaram aumento no peso corporal nos grupos tratados com refrigerante
130 calórico^(7,8), enquanto outros não encontraram diferença no peso corporal dos animais tratados
131 com refrigerante calórico⁽⁶⁾. Estudos epidemiológicos demonstraram relação positiva entre o
132 consumo de bebidas não-calóricas e ganho de peso⁽¹⁶⁾, porém, são estudos limitados, pois não
133 foi possível estabelecer relação de causa e efeito. Um recente ensaio clínico randomizado,
134 realizado com 641 crianças de 4 a 11 anos, tratadas com bebidas calóricas e não-calóricas, no
135 período de 18 meses, identificou menor ganho de peso e de gordura corporal nas crianças
136 tratadas com bebida não-calórica quando comparadas com as crianças tratadas com
137 refrigerante calórico⁽¹⁷⁾.

138 Devido ao aumento na ingestão de refrigerante identificado em diversos países, os
139 estudos sobre o efeito da ingestão de refrigerantes calóricos e não-calóricos na ingestão
140 alimentar serem controversos e por ser a quantidade e a qualidade dos alimentos ingeridos
141 pouco exploradas pelos autores, este estudo se propôs a avaliar o efeito da ingestão de
142 refrigerante calórico e não-calórico sobre a ingestão de alimentos e seus possíveis efeitos no
143 peso corporal e deposição do tecido adiposo intra-abdominal e perigonadal em ratos.

159 **Método Experimental**

160 *Procedimentos Experimentais*

161 O estudo foi realizado de acordo com a Lei N° 11.794, 08 de outubro de 2008, que
162 estabelece procedimentos para uso de animais⁽¹⁸⁾, assim como as contidas nos Princípios
163 Internacionais Orientadores para a pesquisa Biomédica envolvendo Animais provenientes do
164 Council for Internatinal Organizations of Medical Science (CIOMS). O protocolo
165 experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (protocolo n°
166 21811) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

167 Foram utilizados trinta ratos machos “Wistar” com 21 dias de idade e recém
168 desmamados. Os animais foram adquiridos a partir do Centro de Reprodução e
169 Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da Universidade do Rio Grande do Sul
170 (UFRGS). Os animais foram mantidos em caixas plásticas (3-4 animais/caixa), em ambiente
171 com ciclo claro-escuro (luzes acesas às 7h00min e apagadas às 19h00min) e temperatura
172 controlada (24-26 °C). O tratamento foi realizado em biotério setorial do Instituto de Ciências
173 Básicas da Saúde (ICBS) da Universidade do Rio Grande do Sul.

174 Os animais tiveram acesso “ad libitum” à ração padrão, refrigerante e água durante
175 todo o experimento. Os refrigerantes foram adquiridos no comércio local. Os valores
176 nutricionais foram obtidos através do site do fabricante (Coca-cola®) (Tabela 1). A ração
177 padrão utilizada foi a ração para ratos e camundongos Nuvilab CR-1 com densidade
178 energética de 2,95 kcal/g, 2,7mg/g de sódio na proporção de macronutrientes de 55% de
179 carboidrato, 22% de proteína e 4,5% de lipídios.

180 No desmame, os animais foram divididos em três grupos: Grupo Controle (CON, n=10)
181 em que os ratos receberam ração padrão e água “ad libitum”; Grupo Refrigerante Calórico
182 (RC, n=10) em que os ratos receberam ração padrão, água e refrigerante calórico “ad libitum” e
183 Grupo Refrigerante Não-Calórico (RNC, n=10), em que os ratos receberam ração padrão, água
184 e refrigerante não-calórico “ad libitum”.

188

189 *1.5 Ingestão de alimentos e líquidos*

190 A avaliação da ingestão alimentar e de líquidos foi realizada através da pesagem e
191 medida do volume diário, realizada entre às 14:00 e às 15:00 horas. Para a determinação do
192 peso dos alimentos foi utilizada uma balança semianalítica (Shimadzu BL3200) e para
193 determinação do volume de cada líquido foi utilizada uma proveta (1000 mL). A ingestão
194 diária de ração e de líquidos foi calculada a partir da subtração do que foi oferecido pelo que
195 restou após 24 horas. Os dados diários obtidos para ração e líquidos de cada caixa foram
196 somados e divididos pelo número de animais da caixa, resultando na ingestão individual por
197 dia.

198 *Medida do peso corporal*

199 O peso corporal dos animais foi medido individualmente, a cada 3 dias em uma
200 balança semianalítica (Shimadzu BL3200), entre às 15:00 e às 15:30 horas.

201 *1.6 Coleta de tecido adiposo*

202 No final do experimento, depois de 12-13 horas de jejum, os animais foram
203 decapitados por guilhotina sem anestesia. O tecido adiposo intra-abdominal e perigonadal
204 foram removidos e pesados em uma balança semianalítica (Shimadzu BL3200). Foram
205 considerados os tecidos adiposos intra-abdominal (retroperitonal e mesentérico) e
206 perigonadal⁽¹⁹⁾.

207 *Análise estatística*

208 Todos os dados foram analisados pelo programa GraphPad Prism, versão 5.04
209 (GraphPad Software, Inc.). Os efeitos dos diferentes tratamentos sobre a ingestão de ração
210 padrão, ingestão de nutrientes, ingestão de energia, ingestão de água, ingestão total de
211 líquidos, peso corporal e deposição do tecido adiposo intra-abdominal e perigonadal, foram
212 analisados ao final do tratamento por ANOVA seguida pelo pós-teste Bonferroni. Para a
213 análise da ingestão de refrigerante, no final do experimento foi utilizado o teste t-Student. O
214 efeito do tempo e tratamento (tempo versus tratamento) sobre a ingestão de ração padrão,
215 energia e total de líquidos ao longo das 17 semanas de tratamento foram analisados por
216 ANOVA de medidas repetidas seguida pelo pós-teste Bonferroni. Os valores foram expressos

217 como média e seus erros padrões. Todos os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados como
218 estatisticamente significativos.

219

220 **Resultados**

221 *Energia*

222 A média de ingestão de energia por animal por dia na 17^a semana de tratamento foi igual
223 em todos os grupos. No grupo RC (animais que receberam ração padrão e refrigerante
224 calórico) aproximadamente metade da energia total ingerida (45%) foi proveniente do
225 refrigerante calórico (Tabela 2). A evolução na ingestão de energia ao longo do experimento
226 sofreu influência do tempo e do tratamento [$F(288;32)=1,66$; $p\leq 0,05$]. A ingestão de energia
227 foi significativamente maior na 3^a, 8^a, 14^a e 15^a semana ($p\leq 0,05$, Fig.1A) no grupo RC
228 comparado ao grupo CON (animais que receberam ração padrão e água). Nos grupos CON e
229 RNC (animais que receberam ração padrão e refrigerante não-calórico) houve uma ingestão
230 de energia significativamente maior na 6^a, 7^a, 12^a e 13^a semanas de tratamento no grupo RNC
231 quando comparado ao grupo CON ($p\leq 0,05$, Fig.1A). No grupo RC e RNC a ingestão de
232 energia foi igual ao longo do experimento.

233 *Ração padrão*

234 Na 17^a semana, a média de ingestão de ração padrão por animal por dia foi
235 significativamente menor no grupo RC comparado ao grupo CON e ao grupo RNC ($p\leq 0,05$,
236 Tabela 2). Por outro lado, a média de ingestão de ração padrão entre os grupos CON e RNC
237 foi semelhante, A evolução na ingestão de ração padrão ao longo do experimento sofreu
238 influência do tempo e do tratamento [$F(288;32)= 19,66$; $p\leq 0,05$]. A ingestão de ração padrão
239 foi significativamente menor no grupo RC ($p\leq 0,05$, Fig.1B) comparado ao grupo CON e o
240 grupo RNC ao longo do tratamento. O grupo RNC ingeriu significativamente mais ração
241 padrão nas 6^a, 7^a, 12^a e 13^a semana ($p\leq 0,05$, Fig.1B) comparado ao grupo CON ($p\leq 0,05$,
242 Fig.1B).

243 *Líquidos*

244 A média de ingestão de líquidos (incluindo água e refrigerante) por animal por dia na
245 17^a semana foi significativamente maior no grupo RC (106,6mL) ($p\leq 0,05$, Tabela 2)
246 comparado ao grupo CON (39,14mL) e o grupo RNC (60,71mL). O refrigerante calórico
247 contribuiu mais para esta maior ingestão de líquidos no grupo RC, aproximadamente 92,8mL
248 foram provenientes do refrigerante calórico contra um consumo de 13,7mL de água (Tabela
249 2). O grupo RNC teve ingestão total de líquidos significativamente maior que o grupo CON

250 ($p \leq 0,05$, Tabela 2). A ingestão de refrigerante pelo grupo RNC também teve uma
251 contribuição importante do refrigerante para a maior ingestão total de líquidos, mas com uma
252 ingestão menor quando comparado ao grupo RC ($p \leq 0,05$, Tabela 2), aproximadamente
253 39,2mL corresponderam à ingestão de refrigerante não-calórico contra a ingestão de 21,5mL
254 de água. A evolução na ingestão de líquidos ao longo do experimento sofreu influência do
255 tempo e do tratamento [$F(288;32)=66,3$; $p \leq 0,05$]. A ingestão de líquidos no grupo RC foi
256 significativamente maior ao longo do experimento ($p \leq 0,05$, Fig.1C) comparado ao grupo
257 CON e ao grupo RNC. O grupo RNC apresentou uma ingestão total de líquidos
258 significativamente maior a partir da 5ª semana ($p \leq 0,05$, Fig.1C) comparado ao grupo CON.

259 *Nutrientes*

260 A média de ingestão de carboidratos por animal por dia na 17ª semana foi
261 significativamente maior no grupo RC ($p < 0,05$, Tabela 2) comparado ao grupo CON e o
262 grupo RNC. A ingestão de refrigerante teve parcela importante na contribuição da maior
263 ingestão de carboidratos no grupo RC, aproximadamente 53%, sendo estes, considerados
264 carboidratos simples (açúcar/sacarose) (Tabela 2). Não houve diferença significativa na
265 ingestão de carboidratos entre os grupos CON e RNC. Em relação à ingestão de lipídios,
266 proteínas e sódio o grupo RC ingeriu menos destes nutrientes quando comparado ao grupo
267 CON e ao grupo RNC ($p < 0,05$, Tabela 2). Não houve diferença significativa no consumo de
268 lipídios e proteínas entre os grupos CON e RNC (Tabela 2). No que diz respeito à ingestão de
269 sódio, o grupo RNC teve maior ingestão ($p < 0,05$, Tabela 2) comparado aos grupos CON e
270 RC. A maior ingestão de sódio pelo grupo RNC comparado ao CON foi devido ao conteúdo
271 de sódio presente neste tipo de refrigerante que representou 12% de sódio no total de sódio
272 ingerido

273 *Ganho de peso e deposição de gordura intra-abdominal e perigonadal*

274 Não houve diferença significativa no ganho de peso e na deposição de gordura intra-
275 abdominal e perigonadal dos animais ao final do experimento (Figura 2A e B).

276

277 **Discussão**

278 No presente estudo, a ingestão de refrigerante calórico e não-calórico não provocou
279 mudanças na ingestão total de energia, peso corporal e gordura intra-abdominal e perigonadal
280 no final do tratamento. Entretanto, a ingestão de refrigerante calórico resultou em drástica
281 redução na ingestão de alimentos sólidos e aumento na ingestão de líquidos. Em relação à
282 ingestão de refrigerante não-calórico, não houve influência na ingestão total de alimentos
283 sólidos no final do tratamento, no entanto, observou-se um aumento na ingestão de líquidos,
284 mas com ingestão menor quando comparado aos animais que ingeriram refrigerante calórico.

285 Semelhante aos resultados encontrados, em um experimento realizado com animais
286 com duração de 6 meses, houve menor ingestão de ração padrão e maior ingestão de líquido
287 (refrigerante calórico) nos animais tratados com refrigerante calórico⁽⁸⁾. Todavia, os autores
288 encontraram maior ingestão de energia e ganho de peso nos animais que receberam
289 refrigerante calórico o que pode ser atribuído à maior duração do experimento. Outros autores
290 identificaram redução na ingestão de alimentos sólidos em animais que receberam
291 refrigerantes^(6,7,9) e outras bebidas adoçadas com sacarose^(20,12,4), bem como aumento no
292 consumo total de líquidos pela contribuição da maior ingestão destas bebidas, conforme os
293 resultados deste experimento.

294 A excessiva ingestão de refrigerante calórico e a conseqüente menor ingestão de
295 alimentos sólidos, sugere que os animais mantiveram regulação na ingestão de energia,
296 compensando o excesso de energia proveniente do refrigerante com menor ingestão de
297 energia a partir de alimentos sólidos (ração padrão) no período analisado. A ingestão de ração
298 padrão no grupo que recebeu refrigerante calórico pode ter sido influenciada por mecanismos
299 periféricos da saciedade que compreendem os hormônios leptina e grelina. Lindqvist,
300 Baelemans e Erlanson-Albertsson⁽⁴⁾ (2008) identificaram aumento do nível sérico de leptina
301 em jejum, hormônio relacionado à indução da saciedade, e redução no nível sérico de grelina
302 em jejum, hormônio relacionado com a indução da ingestão de alimentos, em animais que
303 receberam ração padrão e solução de sacarose como única fonte de líquido, comparado aos
304 animais que receberam ração padrão e água. Os animais tratados com solução de sacarose
305 obtiveram menor ingestão de alimentos sólidos, mas maior ingestão de líquidos e energia,
306 sugerindo que estes mecanismos periféricos de regulação do apetite podem ter efeito sobre a
307 ingestão de alimentos sólidos, mas não são suficientes para o controle da ingestão de líquidos
308 altamente palatáveis, como o refrigerante adoçado com sacarose.

309 De um modo geral, os resultados obtidos demonstraram que a ingestão de refrigerante
310 não-calórico em um ambiente controlado e com uma oferta de alimentação equilibrada, não
311 exerceu influência na ingestão e qualidade de alimentos sólidos no período analisado, no
312 entanto, desde o início do tratamento houve tendência à maior ingestão de alimentos sólidos
313 no grupo tratado com refrigerante não-calórico. Além disso, em algumas semanas isoladas foi
314 observada ingestão significativamente maior de alimentos sólidos pelo grupo que recebeu
315 refrigerante não-calórico quando comparado ao grupo controle. Em outro estudo realizado
316 com animais, foi identificada redução na ingestão de alimentos sólidos quando retirado o
317 refrigerante não-calórico⁽⁸⁾, sugerindo que a retirada deste tipo de bebida, alterou a ingestão de
318 alimentos. Os resultados deste experimento indicaram que o efeito da ingestão de refrigerante
319 não-calórico, quando incorporadas ao hábito alimentar, ainda é incerto.

320 Diversos centros neuronais do hipotálamo participam no controle da ingestão de
321 alimentos e energia, como núcleos laterais, núcleos ventromediais e núcleos
322 paraventriculares⁽²¹⁾. A regulação na ingestão de energia também depende, pelo menos em
323 parte, de respostas da fase cefálica⁽¹²⁾. As respostas da fase cefálica são respostas fisiológicas
324 antecipatórias à ingestão de alimentos, resultado da estimulação sensorial, como visão, cheiro
325 e gosto dos alimentos que preparam o organismo para uma eficiente digestão e absorção de
326 nutrientes⁽²²⁾. A combinação de sabor e conteúdo de energia é importante para o
327 desencadeamento de respostas da fase cefálica, de modo que o gosto doce com a ausência de
328 energia poderia desregular respostas fisiológicas afetando a regulação de energia⁽¹²⁾. Um
329 experimento realizado com animais tratados com bebidas calóricas, adoçadas com sacarose, e
330 bebidas não-calóricas, adoçadas com edulcorante, ocorreu aumento na ingestão de calorias no
331 grupo tratado com bebida não-calórica⁽¹²⁾. Outras evidências sugerem um papel da amígdala
332 em mediar estímulos orosensoriais. Em um estudo com humanos que faziam o uso habitual de
333 edulcorantes, foi identificada associação inversa entre o uso de edulcorantes e respostas da
334 amígdala a soluções de sacarose⁽²³⁾, ou seja, quanto maior a ingestão habitual de edulcorantes,
335 menor a sensibilidade da amígdala à solução de sacarose. Assim, o uso de edulcorantes
336 poderia levar a maior ingestão de calorias proveniente de alimentos e/ou bebidas adoçadas
337 com sacarose por precisar de um limiar maior para estimular a resposta da amígdala.

338 No presente estudo, observou-se que a ingestão de água foi substituída, em grande
339 parte, pelo consumo de refrigerante tanto calórico quanto não-calórico. A participação da
340 água no consumo total de líquidos compreendeu 13% e 35% no grupo que recebeu

341 refrigerante calórico e no grupo que recebeu refrigerante não-calórico, respectivamente. Um
342 mecanismo que pode estar envolvido no aumento ou preferência pela ingestão de refrigerantes
343 adoçados com sacarose envolve o sistema de recompensa representado pelo sistema
344 dopaminérgico, responsável por aumentar a ingestão de alimentos palatáveis⁽²⁴⁾. Alimentos
345 palatáveis, por exemplo, os ricos em sacarose, ativam o “sistema de recompensa encefálico”
346 afetando o comportamento alimentar na direção da gratificação, ao invés de apenas suprir as
347 necessidades fisiológicas de energia⁽²⁴⁾. A sacarose é um dos principais adoçantes de
348 refrigerantes⁽²⁵⁾ e é altamente palatável. Quando ingerida em solução é capaz de elevar os
349 níveis extracelulares de dopamina no núcleo accumbens de forma proporcional à
350 concentração ingerida, fazendo com que estes níveis elevados de dopamina aumentem a
351 ingestão e a preferência por sacarose⁽²⁶⁾. Há evidências de que a sacarose e os edulcorantes
352 ativam diferentes áreas no cérebro. Além disso, a sacarose ativa mais regiões encefálicas
353 relacionadas ao sistema de recompensa, como o estriado ventral esquerdo, o núcleo caudado
354 dorsal esquerdo, o mesencéfalo e o tálamo bilateral direito, quando comparada a edulcorantes,
355 o que pode explicar a diferença no consumo de refrigerante calórico e não-calórico⁽²⁷⁾.

356 Também foi observada menor ingestão de proteínas e lipídios no grupo que recebeu
357 refrigerante calórico, o que foi atribuído à menor ingestão de alimentos sólidos. Além disso,
358 foi observada maior ingestão de carboidratos no grupo que recebeu refrigerante calórico,
359 sendo que o principal responsável pelo aumento da ingestão de carboidratos neste grupo foi o
360 açúcar presente neste refrigerante, aproximadamente 53% do total de carboidrato ingerido foi
361 a partir de carboidratos simples (açúcar/sacarose).

362 A maior ingestão de sódio observada no grupo que recebeu refrigerante não-calórico
363 ocorreu pelo maior conteúdo de sódio presente neste tipo de bebida. A excessiva ingestão de
364 sódio é considerada um fator importante no desenvolvimento e intensidade da hipertensão
365 arterial⁽²⁸⁾, portanto sua ingestão deve ocorrer com cautela. O menor teor de sódio ingerido
366 pelos animais que receberam refrigerante calórico se deve ao fato deste grupo ter ingerido
367 menos ração padrão.

368 A menor ingestão de ração padrão pelos animais que receberam refrigerante calórico
369 leva a refletir sobre as consequências da ingestão de refrigerante calórico sobre a qualidade da
370 alimentação, que pode ser caracterizada como de baixa qualidade, levando a maior ingestão
371 de carboidratos simples e menor ingestão de carboidratos complexos, proteínas, lipídios e,
372 consequentemente, vitaminas e minerais presentes nos alimentos sólidos. Goularte, Ferreira e

373 Sanvitto⁽⁹⁾ (2012) também identificaram menor ingestão de proteínas nos animais que
374 receberam refrigerante calórico. Estudos epidemiológicos encontraram associações positivas
375 entre a ingestão de refrigerante calórico e a ingestão de carboidratos simples e uma associação
376 negativa entre a ingestão de refrigerante calórico e ingestão de proteínas, fibras, vitaminas e
377 demais micronutrientes^(15,3), corroborando os resultados encontrados no presente estudo.

378 A semelhança entre os animais no padrão de ganho de peso e deposição de gordura
379 intra-abdominal e perigonadal pode ser explicada pela ingestão de energia que foi igual entre
380 os grupos. Outros estudos realizados com animais^(7,4,8) mostraram ganho de peso maior por
381 aqueles que receberam bebidas adoçadas com sacarose. No entanto, dois destes estudos
382 realizaram o tratamento por um período maior e o outro estudo realizou o experimento em
383 menor tempo, mas as bebidas apresentavam densidade calórica muito superior, podendo
384 explicar este maior ganho de peso que não foi encontrado neste estudo. Estudos
385 epidemiológicos demonstraram uma relação positiva entre o consumo de bebidas não-
386 calóricas e ganho de peso⁽¹⁶⁾, porém são estudos limitados, pois não podemos estabelecer
387 relação de causa e efeito. Em 2002, Raben e colaboradores⁽²⁹⁾ em estudo experimental com
388 humanos, observaram aumento de peso e de gordura corporal entre indivíduos que receberam
389 bebidas e alimentos adoçados com sacarose e redução destas variáveis foi encontrada nos
390 indivíduos que receberam bebidas e alimentos adoçados com edulcorantes. Um ensaio clínico
391 randomizado, realizado com 641 crianças de 4 a 11 anos, tratadas com bebidas calóricas e
392 não-calóricas, no período de 18 meses, identificou menor ganho de peso e gordura corporal
393 nas crianças tratadas com bebida não-calórica quando comparada com as crianças tratadas
394 com refrigerante calórico⁽¹⁷⁾.

395

396 Conclusão

397 De acordo com os resultados conclui-se que, em ambiente controlado e com a oferta de
398 alimentação equilibrada, a exposição a refrigerante calórico ou não-calórico não provocou
399 mudanças na ingestão total de energia, peso corporal e deposição de gordura intra-abdominal
400 e perigonadal no período avaliado. Entretanto, a ingestão de refrigerante calórico influenciou
401 a quantidade e a qualidade dos alimentos sólidos ingeridos. A ingestão de refrigerante não-
402 calórico não influenciou a ingestão de alimentos, mas levou a maior ingestão de sódio. Tanto
403 o refrigerante calórico quanto o não-calórico levou à maior ingestão total de líquidos e menor
404 ingestão de água, que foi substituída pelo refrigerante. Esses achados podem servir como base
405 para mais estudos que avaliem alterações no comportamento alimentar com a exposição a
406 refrigerantes calóricos e não-calóricos utilizando maior número de animais, com períodos de
407 tratamento maiores e com a oferta de alimentos sólidos mais palatáveis, pois são mais
408 semelhantes à alimentação humana e podem refletir melhor estes efeitos.

409 **Agradecimentos**

410 A todos os autores que fizeram parte da elaboração do presente trabalho.

411 Ao laboratório de Neuroendocrinologia do comportamento, do Instituto de Ciências Básicas
412 da Saúde da Universidade do Rio Grande do Sul (UFRGS).

413 Ao Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da
414 Universidade do Rio Grande do Sul (UFRGS).

415 Não há conflito de interesses.

430 **Referências**

- 431 1. Nielsen SJ, Popkin BM (2004) Changes in Beverage Intake Between 1977 and 2001.
432 American Journal of Preventive Medicine, 27:205-210.
- 433 2. Rivera JA, Barquera S, González-Cossío T et.al (2004) Nutrition Transition in Mexico and
434 in Other Latin American Countries. Nutrition Reviews, 62:149-157.
- 435 3. Yamada M, Murakami K, Sasaki S et. al (2008) Soft Drink Intake Is Associated with Diet
436 Quality Even among Young Japanese Women with Low. Journal American Diet Association,
437 108:1997-2004.
- 438 4. Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson, C (2008) Effects of sucrose, glucose and
439 fructose on peripheral and central appetite signals. Regulatory Peptides, 150:26-32.
- 440 5. Malik VS, Popkin BM, Bray GA et. al (2010) Sugar-Sweetened Beverages, Obesity, Type
441 2 Diabetes Mellitus, and Cardiovascular Disease Risk. Circulation, 121:1356-1364.
- 442 6. Contreras-García F, Paniagua R, Avila-Días M et. al (2000) Cola Beverage Consumption
443 Induces Bone Mineralization Reduction in Ovariectomized Rats. Archives of Medical
444 Research, 31:360-365.
- 445 7. Belpoggi F, Soffritti M, Tibaldi E et. al (2006) Results of Long-Term Carcinogenicity
446 Bioassays on Coca-Cola Administered to Sprague-Dawley Rats. New York Academy of
447 Sciences, 1076:736-752.
- 448 8. Milei J, Losada MO, Llambí HG et. al (2011) Chronic cola drinking induces metabolic and
449 cardiac alterations in rats. World Journal Cardiology, 26:111-116.
- 450 9. Goularte JF, Ferreira MBC, Sanvitto GL (2012) Efeitos da modificação alimentar e
451 exercício físico sobre alterações produzidas pela dieta de cafeteria em ratas. British Journal of
452 Nutrition, 0:1-8.
- 453 10. Dimeglio DP, Mattes RD (2000) Liquid versus solid carbohydrate: effects on food intake
454 and body weight. International Journal of Obesity, 24:794-800.

- 455 11. Della Valle DM, Roe LS, Rolls BJ (2005) Does the consumption of caloric and non-
456 caloric beverages with a meal affect energy intake? *Appetite*, 44:187-193.
- 457 12. Swithers SE, Davidson TL (2007) A Role for Sweet Taste: Calorie Predictive Relations in
458 Energy Regulation by Rats. *Behavioral Neuroscience*.
459
- 460 13. Anton SD, Martin CK, Han H et. al (2010) Effects of stevia, aspartame, and sucrose on
461 food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*, 55:37-43.
- 462 14. Gardner C, Wylie-Rosett J, Gidding SS et. al (2012) Nonnutritive Sweeteners: Current
463 Use and Health Perspectives. *Diabetes Care*, 1798-1808.
- 464 15. Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD (2007) Effects of Soft Drink Consumption on
465 Nutrition and Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Public
466 Health*, 97:4.
- 467 16. Fowler SP, Williams K, Resendez RG et. al (2008) Fueling the Obesity Epidemic?
468 Artificially Sweetened Beverage Use and Long-term Weight Gain. *Obesity*, 16:1894-1900.
469
- 470 17. Ruyter JC, Olthof MR, Seidell JC (2012) A Trial of Sugar-free or Sugar-Sweetened
471 Beverages and Body Weight in Children. *New England Journal Medical*, 367.
- 472 18. Brasil LEI N° 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE (2008). Presidência da República Casa
473 Civil Subchefia para Assuntos Jurídicos. Estabelece Procedimentos Para O Uso Científico de
474 Animais Brasil, Publicada no D.O.U. DE 09/10/2008, p. 1.
475
- 476 19. Cinti S (2005) The adipose organ. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*
477 73:9-15
- 478 20. Lindqvist A, Dornonville de la Cour C, Stegmark A et. al (2005) Overeating of palatable
479 food is associated with blunted leptin and ghrelin responses. *Regulatory Peptides*, 130:123 -
480 132.
- 481 21. Guyton AC, Hall JE (2006) *Tratado de Fisiologia Médica*. Editora Elsevier - Rio de
482 Janeiro, 11:865-880.

- 483 22. Smeets PAM, Graaf C, Stafleu A et. al (2005) Functional magnetic resonance imaging of
484 human hypothalamic responses to sweet taste and calories. *American Journal Clinical*
485 *Nutrition*, 82:1011-6.
- 486
- 487 23. Rudenga KJ, Small DM (2011) Amygdala response to sucrose consumption is inversely
488 related to artificial sweetener use. *Appetite In Press*.
- 489 24. Albertsson CE (2005) How Palatable Food Disrupts Appetite Regulation. *Basic &*
490 *Clinical Pharmacology & Toxicology*, 97:61-73.
- 491 25. Bray GA (2010) Soft drink consumption and obesity: it is all about fructose. *Current*
492 *Opinion in Lipidology*, 21:51-57.
- 493 26. Hajnal A, Smith GP, Norgren R (2004) Oral sucrose stimulation increases accumbens
494 dopamine in the rat. *American Journal Physiology Regulatory Integrative and Comparative*
495 *Physiology*, 286: R31-R37.
- 496 27. Frank GKW, Oberndorfer TA, Simmons NA et. al (2008) Sucrose activates human taste
497 pathways differently from artificial sweetener. *NeuroImage* 39:1559-156.
- 498 28. Cesarino CB et. al (2004) Abordagem educativa sobre restrição salina ao paciente
499 hipertenso. *Arquivos de Ciências da Saúde*, 11:234-237.
- 500 29. Raben A, Vasilaras TH, Moller C et. al (2002) Sucrose compared with artificial
501 sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of
502 supplementation in overweight subjects. *American Journal Clinical Nutrition*, 76:721-729.

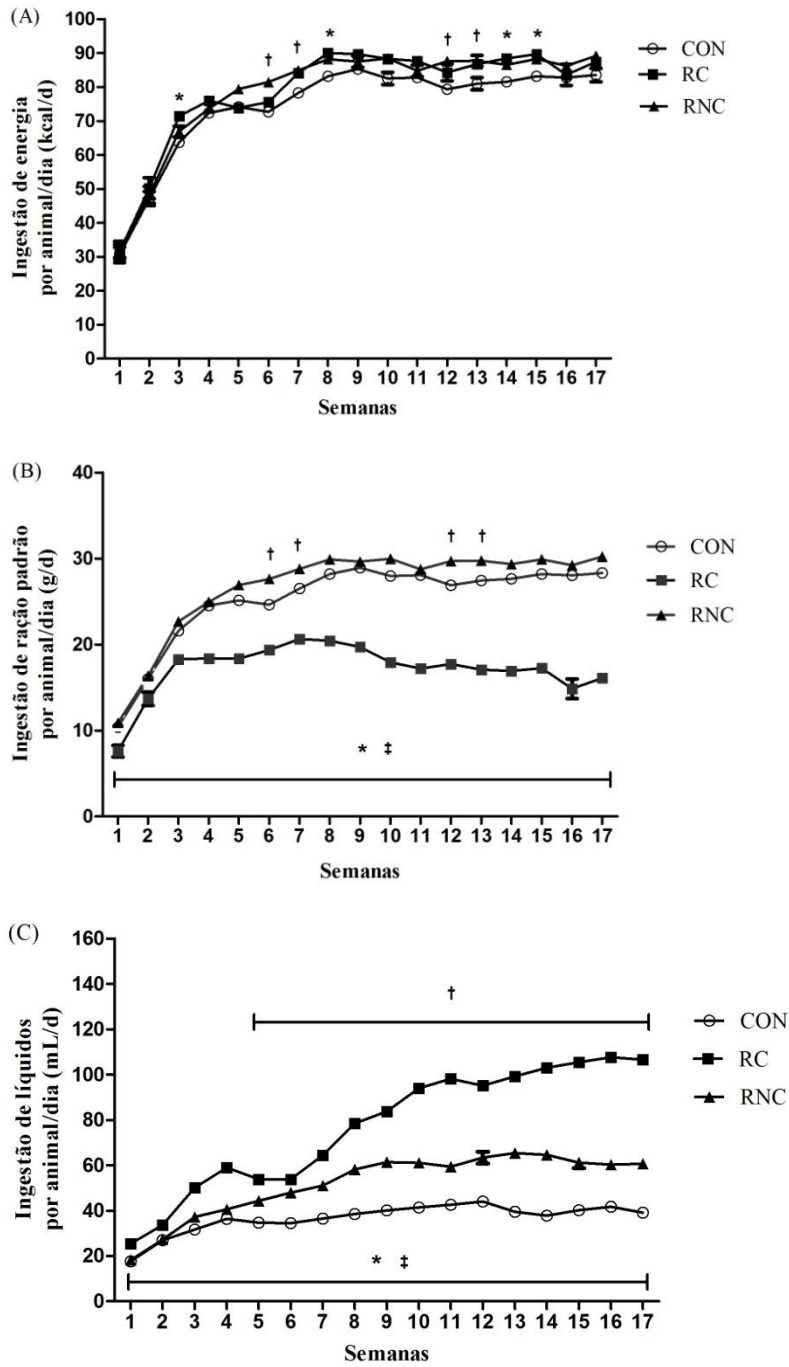
506 **Tabela 1.** Valores nutricionais de refrigerante tipo cola calórico e não-calórico

507		Qtd (mL)	kcal	Carboidratos (g)	Sódio (mg)
508	Refrigerante calórico (Coca-cola®)	1	0,43	0,11	0,05
509	Refrigerante não-calórico (Coca-cola zero®)	1	0,00	0,00	0,28
510	Dados obtidos através do site do fabricante.				

555 **Tabela 2.** Ingestão diária de energia, ração padrão, nutrientes e líquidos no final do
 556 experimento (semana 17)
 557 (Valores médios e seus erros padrões)
 558

	CON		RC		RNC	
	(n 10)		(n 10)		(n 10)	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP
Energia (kcal/dia)	83,5 ^a	1,98	87,4 ^a	1,17	89,16 ^a	1,34
Energia refrigerante (kcal/ dia)	-	-	39,9	0,71	-	-
Ração Padrão (g/ dia)	28,31 ^a	0,67	16,10 ^b	0,40	30,22 ^a	0,45
Carboidrato (g/ dia)	15,57 ^b	0,37	19,06 ^a	0,23	16,62 ^b	0,25
Sacarose (g/ dia)	-	-	10,21	0,18	-	-
Proteína (g/ dia)	6,22 ^a	0,14	3,54 ^b	0,08	6,65 ^a	0,10
Lipídios (g/ dia)	1,27 ^a	0,02	0,72 ^b	0,01	1,36 ^a	0,02
Sódio total (mg/ dia)	76,44 ^b	1,81	48,12 ^c	1,07	92,59 ^a	1,11
Sódio refrigerante (mg/ dia)	-	-	4,64 ^b	0,08	10,98 ^a	0,34
Total de líquidos (mL/ dia)	39,14 ^c	0,96	106,6 ^a	1,25	60,71 ^b	1,14
Água (mL/ dia)	39,14 ^a	0,96	13,79 ^c	1,11	21,5 ^b	1,03

559 CON, controle; RC, refrigerante calórico; RNC, refrigerante não-calórico; EP, erro padrão
 560 a,b,c Valores médios com letras sobrescrita diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (P<0.05; ANOVA
 561 seguida pelo pós-teste Bonferroni e para análise de sódio presente nos refrigerantes foi utilizado o teste t-Student).
 562



566

567

568

569

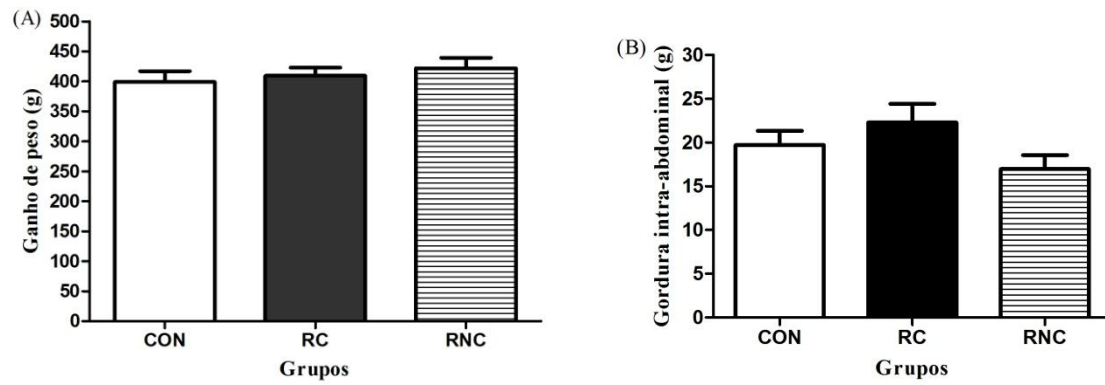
570

571

572

573

Fig. 1. (A) Ingestão energética por animal/dia (kcal/dia) ao longo de 17 semanas de experimento; (B) ingestão de ração padrão por animal/dia (g/dia) e (C) ingestão total de líquidos por animal/dia (mL/dia). Os valores são médias e \pm E.P. CON (controle, n=10); RC (refrigerante calórico, n=10) e RNC (refrigerante não-calórico, n=10). * $p < 0,05$ CON vs RC; † CON vs RNC e ‡ $p < 0,05$ RC vs RNC, ANOVA de medidas repetidas seguida pelo pós-teste de Bonferroni.



576
577

578 **Fig. 2.** (A) Ganho de peso (n=10) e (B) gordura intra-abdominal (n=10) ao final do experimento (17 semanas). CON,
579 controle; RC, refrigerante calórico e RNC, refrigerante não-calórico. ANOVA.

580

ANEXOS

1.7 ANEXO A – NORMAS DA REVISTA BRITISH JOURNAL OF NUTRITION

Directions to Contributors

British Journal of Nutrition

(Revised January 2012)

The *British Journal of Nutrition* is an international peer-reviewed journal that publishes original papers and review articles in all branches of nutritional science. The underlying aim of all work should be, as far as possible, to develop nutritional concepts. The *British Journal of Nutrition* encompasses the full spectrum of nutritional science including epidemiology, dietary surveys, nutritional requirements and behaviour, metabolic studies, body composition, energetics, appetite, obesity, ageing, endocrinology, immunology, neuroscience, microbiology, genetics and molecular and cell biology. The journal does not publish case studies; papers on food technology, food science or food chemistry; or papers of primarily local interest.

As a contributor you are asked to follow the guidelines set out below. Prospective authors may also contact the Publications Office directly on +44 (0)20 7605 6555 (telephone), +44 20 7602 1756 (fax) or edoffice@nutsoc.org.uk (email).

Papers submitted for publication should be written in English and be as concise as possible. If English is not the first language of the authors then the paper should be checked by an English speaker. **The *British Journal of Nutrition* operates an on-line submission and reviewing system (eJournalPress). Authors should submit to the following address: <http://bjn.msubmit.net/>** Receipt of papers will be acknowledged immediately.

Papers should be accompanied by a statement of acceptance of the conditions laid down in the Directions to Contributors. The statement should affirm that the submission represents original work that has not been published previously, that it is not currently being considered by another journal, and that if accepted for the *British Journal of Nutrition* it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the Nutrition Society. It should also confirm that each author has seen and approved the contents of the submitted manuscript. **At the time of acceptance the authors should provide a completed copy of the 'Licence to Publish' (in lieu of copyright transfer), which is available on the Nutrition Society's web pages (<http://www.nutrition-society.org/publications/nutrition-society-journals/british-journal-of-nutrition>);** the Society no longer requires copyright of the material published in the journal, only a 'Licence to Publish.' **The authors or their institutions retain the copyright.**

The manuscript must include a statement reporting any conflicts of interest, all sources of funding and the contribution of each author to the manuscript. This statement should be placed at the end of the text of the manuscript before the references are listed. Conflict of interest exists when an author (or the author's institution) has financial or personal relationships that inappropriately influence (bias) his or her actions (such relationships are also known as dual commitments, competing interests, or competing loyalties); for further detail, see http://www.icmje.org/ethical_4conflicts.html. If there are no conflicts of interest this must be stated. If the work was funded, please state "This work was supported by (for example) The Medical Research Council [grant number xxx (if applicable)]". If the research was not funded by any specific project grant, state "This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors."

This journal adheres to the Committee on Publication Ethics (COPE) guidelines on research and publications ethics <http://publicationethics.org/resources/guidelines>

When substantial revisions are required to manuscripts, authors are normally given the opportunity to do this once only; the need for any further changes should at most reflect only minor issues. If a paper requiring revision is not resubmitted within 3 months, it may, on resubmission, be deemed a new paper and the date of receipt altered accordingly.

The *British Journal of Nutrition* publishes the following: Full Papers, Review Articles, Systematic Reviews, Horizons in Nutritional Science, Workshop Reports, Invited Commentaries, Letters to the Editor/Nutrition Discussion Forums, Obituaries, and Editorials.

Full Papers, Reviews, Systematic Reviews, Horizons Articles and Workshop Reports should be submitted to: <http://bjn.msubmit.net/> Please contact the Publications Office on edoffice@nutsoc.org.uk regarding any other types of article.

Review Articles/Horizons in Nutritional Science. These will be handled by the Reviews Editor. Please contact the Publications Office with any queries regarding the submission of potential review articles.

Systematic Reviews. These will be handled by the Systematic Reviews Editor. Please contact the Publications Office with any queries regarding the submission of potential review articles.

Letters to the Editor/Nutrition Discussion Forum Letters are invited that discuss, criticise or develop themes put forward in papers published in the *British Journal of Nutrition* or that deal with matters relevant to it. They should not, however, be used as a means of publishing new work. Acceptance will be at the discretion of the Editorial Board, and editorial changes may be required. Wherever possible, letters from responding authors will be included in the same issue.

Form of full papers submitted for publication. The onus of preparing a paper in a form suitable for sending to press lies with the author. Authors are advised to consult a current issue in order to make themselves familiar with the *British Journal of Nutrition* as to typographical and other conventions, layout of tables etc. Sufficient information should be given to permit repetition of the published work by any competent reader of the *British Journal of Nutrition*. The requirements of *British Journal of Nutrition* are in accordance with the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals produced by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), and authors are encouraged to consult the latest guidelines, which contain a lot of useful generic information about preparing scientific papers <http://www.icmje.org/> and also the CONSORT guidelines for reporting results of randomised trials <http://www.consort-statement.org/>. The journal endorses the Preferred Reporting Items for Systematic

Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) Statement, a guideline to help authors report a systematic review and meta-analysis (<http://prisma-statement.org>) (see *British Medical Journal* (2009) **339**, b2535). A systematic review or meta-analysis of randomised trials and other evaluation studies should follow the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines (<http://prisma-statement.org>).

Plagiarism: Text taken directly or closely paraphrased from earlier published work that has not been acknowledged or referenced will be considered plagiarism. Submitted manuscripts in which such text is identified will be withdrawn from the editorial process.

Authors are invited to nominate up to four potential referees who may then be asked by the Editorial Board to help review the work.

Typescripts should be prepared with 1.5 line spacing and wide margins (2 cm), the preferred font being Times New Roman size 12. At the ends of lines words should not be hyphenated unless hyphens are to be printed. Line numbering and page numbering is required.

Spelling should generally be that of the *Concise Oxford Dictionary* (1995), 9th ed. Oxford: Clarendon Press. Papers should normally be divided into the following parts:

(a) **Title page:** authors' names should be given without titles or degrees and one forename may be given in full. The name and address of the institution where the work was performed should be given, as well as the main address for each author.

The name and address of the author to whom correspondence should be sent should be clearly stated, together with telephone and fax numbers and email address. Other authors should be linked to their address using superscript Arabic numerals.

Any necessary descriptive material about the authors, e.g. Beit Memorial Fellow, should appear at the end of the paper in the Acknowledgments.

If the paper is one of a series of papers that have a common main title followed by a subtitle specific to the individual paper, numbering should not be used to indicate the sequence of papers. The format should be 'common title: specific subtitle', with a short common title, e.g. Partitioning of limiting protein and energy in the growing pig: testing quantitative rules against experimental data.

The title page should also contain a shortened version of the paper's title, not exceeding forty-five letters and spaces in length, suitable for use as a running title in the published paper.

Authors are asked to supply three or four key words or phrases (each containing up to three words) on the title page of the typescript.

(b) **Abstract:** each paper must open with an abstract of **not more than 250 words**. The abstract should be a single paragraph of continuous text outlining the aims of the work, the experimental approach taken, the principal results and the conclusions and their relevance to nutritional science.

(c) **Introduction:** it is not necessary to introduce a paper with a full account of the relevant literature, but the introduction should indicate briefly the nature of the question asked and the reasons for asking it. It should be **no longer than two pages**.

(d) **Experimental methods:** methods should appear after the introduction.

The notice of contributors is drawn to the guidelines in the World Medical Association (2000) Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects, with notes of clarification of 2002 and 2004 (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>), the *Guidelines on the Practice of Ethics Committees Involved in Medical Research Involving Human Subjects* (3rd ed., 1996; London: The Royal College of Physicians) and the Guidelines for the ethical conduct of medical research involving children, revised in 2000 by the Royal College of Paediatrics and Child Health: Ethics Advisory Committee (*Arch Dis Child* (2000) **82**, 177–182). A paper describing any experimental work on human subjects must include the following statement in the materials/methods section: "This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects/patients were approved by the [insert name of the ethics committee; a specific ethics number may be inserted if you wish]. Written [or Verbal] informed consent was obtained from all subjects/patients. [Where verbal consent was obtained this must be followed by a statement such as: Verbal consent was witnessed and formally recorded]."

Experiments involving the use of vertebrate animals. The Editors will not accept papers reporting work carried out using inhumane procedures. When reporting on experiments involving the use of vertebrate animals, authors must state whether institutional and national guidelines for the care and use of animals were followed and that all experimental procedures involving animals were approved by the [insert name of the ethics committee or other approving body; the authors could insert a specific ethics/approval number following this if they wish]. Please state whether institutional and national guidelines for the care and use of animals were followed and that all experimental procedures involving animals were approved by the [insert name of the ethics committee or other approving body; a specific ethics/approval number can be inserted if you wish].

(e) **Results:** these should be given as concisely as possible, using figures or tables as appropriate.

(f) **Discussion:** while it is generally desirable that the presentation of the results and the discussion of their significance should be presented separately, there may be occasions when combining these sections may be beneficial. Authors may also find that additional or alternative sections such as 'conclusions' may be useful. The discussion should be **no longer than five pages**.

(g) **Acknowledgments:** these should be given in a single paragraph after the discussion and should include information on source of funding, declaration of any conflicts of interest and a brief statement of the contribution(s) of each author, as specified above.

(h) **References:** these should be given in the text using the Vancouver system. They should be numbered consecutively in the order in which they first appear in the text using superscript Arabic numerals in parentheses, e.g. 'The conceptual difficulty of this approach has recently been highlighted^(1,2-4)'. If a reference is cited more than once the same number should be used each time. References cited only in tables and figure legends and not in the text should be numbered in sequence from the last number used in the text and in the order of mention of the individual tables and figures in the text. At the end of the paper, on a page(s) separate from the text, references should be listed in numerical order. When an article has more than three authors only the names of the first three authors should be given followed by 'et al.' The issue number should be omitted if there is continuous pagination

throughout a volume. Names and initials of authors of unpublished work should be given in the text as 'unpublished results' and not included in the References. Titles of journals should appear in their abbreviated form using the NCBI LinkOut page <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/linkout/journals/jourlists.fcgi?typeid=1&type=journals&operation=Show> References to books and monographs should include the town of publication and the number of the edition to which reference is made. Thus:

1. Setchell KD, Faughnan MS, Avades T *et al.* (2003) Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of ¹³C-labeled tracers in premenopausal women. *Am J Clin Nutr* **77**, 411–419.
2. Barker DJ, Winter PD, Osmond C *et al.* (1989) Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet* **ii**, 577–580.
3. Forchielli ML & Walker WA (2005) The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence. *Br J Nutr* **93**, Suppl. 1, S41–S48.
4. Bradbury J, Thomason JM, Jepson NJA *et al.* (2003) A nutrition education intervention to increase the fruit and vegetable intake of denture wearers. *Proc Nutr Soc* **62**, 86A.
5. Frühbeck G, Gómez-Ambrosi J, Muruzabal FJ *et al.* (2001) The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**, E827–E847.
6. Han KK, Soares JM Jr, Haidar MA *et al.* (2002) Benefits of soy isoflavone therapeutic regimen on menopausal symptoms. *Obst Gynecol* **99**, 389–394.
7. Uhl M, Kassie F, Rabot S *et al.* (2004) Effect of common Brassica vegetables (Brussels sprouts and red cabbage) on the development of preneoplastic lesions induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in liver and colon of Fischer 344 rats. *J Chromatogr* **802B**, 225–230.
8. Hall WL, Vafeiadou K, Hallund J *et al.* (2005) Soy isoflavone enriched foods and inflammatory biomarkers of cardiovascular risk in postmenopausal women: interactions with genotype and eouol production. *Am J Clin Nutr* (In the Press).
9. Skurk T, Herder C, Kraft I *et al.* (2004) Production and release of macrophage migration inhibitory factor from human adipocytes. *Endocrinology* (Epublication ahead of print version).
10. Skurk T, Herder C, Kraft I *et al.* (2005) Production and release of macrophage migration inhibitory factor from human adipocytes. *Endocrinology* **146**, 1006–1011; Epublication 2 December 2004.
11. Bradbury J (2002) Dietary intervention in edentulous patients. PhD Thesis, University of Newcastle.
12. Ailhaud G & Hauner H (2004) Development of white adipose tissue. In *Handbook of Obesity. Etiology and Pathophysiology*, 2nd ed., pp. 481–514 [GA Bray and C Bouchard, editors]. New York: Marcel Dekker.
13. Bruinsma J (editor) (2003) *World Agriculture towards 2015/2030: An FAO Perspective*. London: Earthscan Publications.
14. Griinari JM & Bauman DE (1999) Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, vol. 1, pp. 180–200 [MP Yurawecz, MM Mossoba, JKG Kramer, MW Pariza and GJ Nelson, editors]. Champaign, IL: AOCS Press.
15. Henderson L, Gregory J, Irving K *et al.* (2004) *National Diet and Nutrition Survey: Adults Aged 19 to 64 Years*. vol. 2: *Energy, Protein, Fat and Carbohydrate Intake*. London: The Stationery Office.
16. International Agency for Research on Cancer (2004) *Cruciferous Vegetables, Isothiocyanates and Indoles*. *IARC Handbooks of Cancer Prevention* no. 9 [H Vainio and F Bianchini, editors]. Lyon, France: IARC Press.
17. Linder MC (1996) Copper. In *Present Knowledge in Nutrition*, 7th ed., pp. 307–319 [EE Zeigler and LJ Filer Jr, editors]. Washington, DC: ILSI Press.
18. World Health Organization (2003) *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series* no. 916. Geneva: WHO.
19. Keiding L (1997) *Astma, Allergi og Anden Overfølsomhed i Danmark – Og Udviklingen 1987–1991 (Asthma, Allergy and Other Hypersensitivities in Denmark, 1987–1991)*. Copenhagen, Denmark: Dansk Institut for Klinisk Epidemiologi.

References to material available on websites should include the full Internet address, and the date of the version cited. Thus:

20. Department of Health (1997) Committee on Toxicity of Chemicals in Food Consumer Products and the Environment. Statement on vitamin B₆ (pyridoxine) toxicity. <http://www.open.gov.uk/doh/hcf/B6.htm>
21. Kramer MS & Kakuma R (2002) *The Optimal Duration of Exclusive Breastfeeding: A Systematic Review*. Rome: WHO; available at http://www.who.int/nut/documents/optimal_duration_of_exc_bfeeding_review_eng.pdf
22. Hooper L, Thompson RL, Harrison RA *et al.* (2004) Omega 3 fatty acids for prevention and treatment of cardiovascular disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, issue 4, CD003177. <http://www.mrw.interscience.wiley.com/cochrane/clsysrev/articles/CD003177/frame.html>
23. Nationmaster (2005) HIV AIDS – Adult prevalence rate. http://www.nationmaster.com/graph-T/hea_hiv_aid_adu_pre_rat (accessed June 2005).

(j) *Supplementary data*: Additional data (e.g. data files, large tables) relevant to the paper can be submitted for publication online only, where they are made available via a link from the abstract and the paper. The paper should stand alone without these data. Supplementary data should be supplied as a PDF for the review process and must be cited in a relevant place in the text of the paper.

Mathematical modelling of nutritional processes. Papers in which mathematical modelling of nutritional processes forms the principal element will be considered for publication provided: (a) they are based on sound biological and mathematical principles; (b) they advance nutritional concepts or identify new avenues likely to lead to such advances; (c) assumptions used in their construction are fully described and supported by appropriate argument; (d) they are described in such a way that the nutritional purpose is clearly apparent; (e) the contribution of the model to the design of future experimentation is clearly defined.

Units. Results should be presented in metric units according to the International System of Units (see Quantities, Units and Symbols in Physical Chemistry, 3rd ed. (2007) Cambridge: RSC Publishing), and Metric Units, Conversion Factors and Nomenclature in Nutritional and Food Sciences (1972) London: The Royal Society – as reproduced in *Proceedings of the Nutrition Society* (1972) **31**, 239–247). SI units should be used throughout the paper. The author will be asked to convert any values that are given in any other form. The only exception is where there is a unique way of expressing a particular variable that is in widespread use. Energy values must be given in Joules (MJ or kJ) using the conversion factor 1 kcal = 4.184 kJ. If required by the author, the value in kcal can be given afterwards in parentheses. Temperature is given in degrees Celsius (°C). Vitamins should be given as mg or µg, not as IU.

For substances of known molecular mass (Da) or relative molecular mass, e.g. glucose, urea, Ca, Na, Fe, K, P, values should be expressed as mol/l; for substances of indeterminate molecular mass (Da) or relative molecular mass, e.g. phospholipids, proteins, and for trace elements, e.g. Cu, Zn, then g/l should be used.

Time. The 24 h clock should be used, e.g. 15.00 hours.

Units are: year, month, week, d, h, min, s, kg, g, mg, µg, litre, ml, µl, fl. To avoid misunderstandings, the word litre should be used in full, except in terms like g/l. Radioactivity should be given in becquerels (Bq or GBq) not in Ci. 1 MBq = 27.03 µCi (1Bq = 1 disintegration/s).

Statistical treatment of results. Data from individual replicates should not be given for large experiments, but may be given for small studies. The methods of statistical analysis used should be described, and references to statistical analysis packages included in the text, thus: Statistical Analysis Systems statistical software package version 6.11 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Information such as analysis of variance tables should be given in the paper only if they are relevant to the discussion. A statement of the number of replicates, their average value and some appropriate measure of variability is usually sufficient.

Comparisons between means can be made by using either confidence intervals (CI) or significance tests. The most appropriate of such measures is usually the standard error of a difference between means (SED), or the standard errors of the means (SE or SEM) when these vary between means. The standard deviation (SD) is more useful only when there is specific interest in the variability of individual values. The degrees of freedom (df) associated with SED, SEM or SD should also be stated. The number of decimal places quoted should be sufficient but not excessive. Note that pH is an exponential number, as are the log(10) values often quoted for microbial numbers. Statistics should be carried out on the scalar rather than the exponential values.

If comparisons between means are made using CI, the format for presentation is, e.g. 'difference between means 0.73 (95 % CI 0.314, 1.36) g'. If significance tests are used, a statement that the difference between the means for two groups of values is (or is not) statistically significant should include the level of significance attained, preferably as an explicit *P* value (e.g. *P*=0.016 or *P*=0.32) rather than as a range (e.g. *P*<0.05 or *P*>0.05). It should be stated whether the significance levels quoted are one-sided or two-sided. Where a multiple comparison procedure is used, a description or explicit reference should be given. Where appropriate, a superscript notation may be used in tables to denote levels of significance; similar superscripts should denote lack of a significant difference.

Where the method of analysis is unusual, or if the experimental design is at all complex, further details (e.g. experimental plan, raw data, confirmation of assumptions, analysis of variance tables, etc.) should be included.

Figures. Figures should not be incorporated into the article file and should be supplied as separate electronic files. Figure legends should be grouped in a section at the end of the text. Each figure should be clearly marked with its number and separate panels within figures should be clearly marked (a), (b), (c) etc. so that they are easily identifiable when the article and figure files are merged for review.

In curves presenting experimental results the determined points should be clearly shown, the symbols used being, in order of preference, ○, ●, △, ▲, □, ■, ×, +. Curves and symbols should not extend beyond the experimental points. Scale-marks on the axes should be on the inner side of each axis and should extend beyond the last experimental point. Ensure that lines and symbols used in graphs and shading used in histograms are large enough to be easily identified when the figure is reduced to fit the printed page.

Figures and diagrams can be prepared using most applications but please do not use the following: cdx, chm, jnb or PDF. All figures should be numbered and legends should be provided. Each figure, with its legend, should be comprehensible without reference to the text and should include definitions of abbreviations. Latin names for unusual species should be included unless they have already been specified in the text. Each figure will be positioned near the point in the text at which it is first introduced unless instructed otherwise.

Note that authors will be charged 350 GBP for the publication of colour figures. Authors from countries entitled to free journal access through HINARI will be exempt from these charges.

Refer to a recent copy of the journal for examples of figures.

Image integrity. Images submitted with a manuscript should be minimally processed (e.g. the addition of labelling). Authors should retain their original data, as Editors may request them for comparison during manuscript review. If such data are unavailable the manuscript may be withdrawn from the review process.

Some image processing is acceptable (and may be unavoidable), but the final image must accurately represent the original data. Authors should provide sufficient detail of image-gathering procedures and process manipulation in the Methods sections to enable the accuracy of image presentation to be assessed. Grouping or cropping of images must be identified in the legend and indicated by clear demarcation. Adjustment of brightness, contrast or colour balance is acceptable if applied to the whole image and to controls and if data do not disappear as the result of the manipulation.

Plates. The *British Journal of Nutrition* will now also consider the inclusion of illustrations and photomicrographs. The size of photomicrographs may have to be altered in printing; in order to avoid mistakes the magnification should be shown by scale on the photograph itself. The scale with the appropriate unit together with any lettering should be drawn by the author, preferably using appropriate software.

Tables. Tables should carry headings describing their content and should be comprehensible without reference to the text. Tables should not be subdivided by ruled lines. The dimensions of the values, e.g. mg/kg, should be given at the top of each column. Separate columns should be used for measures of variance (SD, SE etc.), the \pm sign should not be used. The number of decimal places used should be standardized; for whole numbers 1.0, 2.0 etc. should be used. Shortened forms of the words weight (wt) height (ht) and experiment (Expt) may be used to save space in tables, but only Expt (when referring to a specified experiment, e.g. Expt 1) is acceptable in the heading.

Footnotes are given in the following order: (1) abbreviations, (2) superscript letters, (3) symbols. Abbreviations are given in the format: RS, resistant starch. Abbreviations appear in the footnote in the order that they appear in the table (reading from left to right across the table, then down each column). Abbreviations in tables must be defined in footnotes. Symbols for footnotes should be used in the sequence: *†§||¶, then ** etc. (omit * or †, or both, from the sequence if they are used to indicate levels of significance).

For indicating statistical significance, superscript letters or symbols may be used. Superscript letters are useful where comparisons are within a row or column and the level of significance is uniform, e.g. ^{a,b,c}Mean values within a column with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$). Symbols are useful for indicating significant differences between rows or columns, especially where different levels of significance are found, e.g. 'Mean values were significantly different from those of the control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ '. The symbols used for P values in the tables must be consistent.

Tables should be placed at the end of the text. Each table will be positioned near the point in the text at which it is first introduced unless instructed otherwise.

Please refer to a recent copy of the journal for examples of tables.

Chemical formulas. These should be written as far as possible on a single horizontal line. With inorganic substances, formulas may be used from first mention. With salts, it must be stated whether or not the anhydrous material is used, e.g. anhydrous CuSO_4 , or which of the different crystalline forms is meant, e.g. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Descriptions of solutions, compositions and concentrations. Solutions of common acids, bases and salts should be defined in terms of molarity (M), e.g. 0.1 M- NaH_2PO_4 . Compositions expressed as mass per unit mass (w/w) should have values expressed as ng, μg , mg or g per kg; similarly for concentrations expressed as mass per unit volume (w/v), the denominator being the litre. If concentrations or compositions are expressed as a percentage, the basis for the composition should be specified (e.g. % (w/w) or % (w/v) etc.). The common measurements used in nutritional studies, e.g. digestibility, biological value and net protein utilization, should be expressed as decimals rather than as percentages, so that amounts of available nutrients can be obtained from analytical results by direct multiplication. See *Metric Units, Conversion Factors and Nomenclature in Nutritional and Food Sciences*. London: The Royal Society, 1972 (para. 8).

Cell lines. The Journal expects authors to deposit cell lines (including microbial strains) used in any study to be published in publicly accessible culture collections, for example, the European Collection of Cell Cultures (ECACC) or the American Type Culture Collection (ATCC) and to refer to the collection and line or strain numbers in the text (e.g. ATCC 53103). Since the authenticity of subcultures of culture collection specimens that are distributed by individuals cannot be ensured, authors should indicate laboratory line or strain designations and donor sources as well as original culture collection identification numbers.

Gene nomenclature and symbols. The use of symbols and nomenclature recommended by the HUGO Gene Nomenclature Committee (<http://www.genenames.org/>) is encouraged. Information on human genes is also available from Entrez Gene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene>), on mouse genes from the Mouse Genome Database (<http://www.informatics.jax.org/>) and on rat genes from the Rat Genome Database (<http://rgd.mcw.edu/>).

Nomenclature of vitamins. Most of the names for vitamins and related compounds that are accepted by the Editors are those recommended by the IUNS Committee on Nomenclature. See *Nutrition Abstracts and Reviews* (1978) 48A, 831–835.

<i>Acceptable name</i>	<i>Other names*</i>
<i>Vitamin A</i>	
Retinol	Vitamin A ₁
Retinaldehyde, retinal	Retinene
Retinoic acid (all- <i>trans</i> or 13- <i>cis</i>)	Vitamin A ₁ acid
3-Dehydroretinol	Vitamin A ₂
<i>Vitamin D</i>	
Ergocalciferol, ercalciol	Vitamin D ₂ calciferol
Cholecalciferol, calciol	Vitamin D ₃
<i>Vitamin E</i>	
α -, β - and γ -tocopherols plus tocotrienols	
<i>Vitamin K</i>	
Phylloquinone	Vitamin K ₁
Menaquinone-n (MK-n)†	Vitamin K ₂
Menadione	Vitamin K ₃

	menaquinone, menaphthone
<i>Vitamin B₁</i> Thiamin	Aneurin(e), thiamine
<i>Vitamin B₂</i> Riboflavin	Vitamin G, riboflavine, lactoflavin
<i>Niacin</i> Nicotinamide Nicotinic acid	Vitamin PP
<i>Folic Acid</i> Pteroyl(mono)glutamic acid	Folacin, vitamin B _c or M
<i>Vitamin B₆</i> Pyridoxine Pyridoxal Pyridoxamine	Pyridoxol
<i>Vitamin B₁₂</i> Cyanocobalamin Hydroxocobalamin Aquocobalamin Methylcobalamin Adenosylcobalamin	Vitamin B _{12a} or B _{12b}
<i>Inositol</i> Myo-inositol	Meso-inositol
<i>Choline</i> <i>Pantothenic acid</i> <i>Biotin</i>	Vitamin H
<i>Vitamin C</i> Ascorbic acid Dehydroascorbic acid	

*Including some names that are still in use elsewhere, but are not used by the *British Journal of Nutrition*.

†Details of the nomenclature for these and other naturally-occurring quinones should follow the Tentative Rules of the IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (see *European Journal of Biochemistry* (1975) **53**, 15–18)

Generic descriptors. The terms **vitamin A**, **vitamin C** and **vitamin D** may still be used where appropriate, for example in phrases such as 'vitamin A deficiency', 'vitamin D activity'.

Vitamin E. The term **vitamin E** should be used as the descriptor for all tocol and tocotrienol derivatives exhibiting qualitatively the biological activity of α -tocopherol. The term **tocopherols** should be used as the generic descriptor for all methyl tocols. Thus, the term **tocopherol** is not synonymous with the term **vitamin E**.

Vitamin K. The term **vitamin K** should be used as the generic descriptor for 2-methyl-1,4-naphthoquinone (menaphthone) and all derivatives exhibiting qualitatively the biological activity of phyloquinone (phytylmenaquinone).

Niacin. The term **niacin** should be used as the generic descriptor for pyridine 3-carboxylic acid and derivatives exhibiting qualitatively the biological activity of nicotinamide.

Vitamin B₆. The term **vitamin B₆** should be used as the generic descriptor for all 2-methylpyridine derivatives exhibiting qualitatively the biological activity of pyridoxine.

Folate. Due to the wide range of C-substituted, unsubstituted, oxidized, reduced and mono- or polyglutamyl side-chain derivatives of pteroylmonoglutamic acid that exist in nature, it is not possible to provide a complete list. Authors are encouraged to use either the generic name or the correct scientific name(s) of the derivative(s), as appropriate for each circumstance.

Vitamin B₁₂. The term **vitamin B₁₂** should be used as the generic descriptor for all corrinoids exhibiting qualitatively the biological activity of cyanocobalamin. The term **corrinoids** should be used as the generic descriptor for all compounds containing the corrin nucleus and thus chemically related to cyanocobalamin. The term **corrinoid** is not synonymous with the term **vitamin B₁₂**.

Vitamin C. The terms **ascorbic acid** and **dehydroascorbic acid** will normally be taken as referring to the naturally-occurring L-forms. If the subject matter includes other optical isomers, authors are encouraged to include the L- or D- prefixes, as appropriate. The same is true for all those vitamins which can exist in both natural and alternative isomeric forms.

Amounts of vitamins and summation. Weight units are acceptable for the amounts of vitamins in foods and diets. For concentrations in biological tissues, SI units should be used; however, the authors may, if they wish, also include other units, such as weights or international units, in parentheses.

See *Metric Units, Conversion Factors and Nomenclature in Nutritional and Food Sciences* (1972) paras 8 and 14–20. London: The Royal Society.

Nomenclature of fatty acids and lipids. In the description of results obtained for the analysis of fatty acids by conventional GLC, the shorthand designation proposed by Farquhar JW, Insull W, Rosen P, Stoffel W & Ahrens EH (*Nutrition Reviews* (1959), **17**, Suppl.) for individual fatty acids should be used in the text, tables and figures. Thus, 18 : 1 should be used to represent a fatty acid with eighteen carbon atoms and one double bond; if the position and configuration of the double bond is unknown. The shorthand designation should also be used in the abstract. If the positions and configurations of the double bonds are known, and these are

important to the discussion, then a fatty acid such as linoleic acid may be referred to as *cis*-9,*cis*-12-18 : 2 (positions of double bonds related to the carboxyl carbon atom 1). However, to illustrate the metabolic relationship between different unsaturated fatty acid families, it is sometimes more helpful to number the double bonds in relation to the terminal methyl carbon atom, *n*. The preferred nomenclature is then: 18 : 3*n*-3 and 18 : 3*n*-6 for α -linolenic and γ -linolenic acids respectively; 18 : 2*n*-6 and 20 : 4*n*-6 for linoleic and arachidonic acids respectively and 18 : 1*n*-9 for oleic acid. Positional isomers such as α - and γ -linolenic acid should always be clearly distinguished. It is assumed that the double bonds are methylene-interrupted and are of the *cis*-configuration (see Holman RT in *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids* (1966) vol. 9, part 1, p. 3. Oxford: Pergamon Press). Groups of fatty acids that have a common chain length but vary in their double bond content or double bond position should be referred to, for example, as C₂₀ fatty acids or C₂₀ PUFA. The modern nomenclature for glycerol esters should be used, i.e. triacylglycerol, diacylglycerol, monoacylglycerol *not* triglyceride, diglyceride, monoglyceride. The form of fatty acids used in diets should be clearly stated, i.e. whether ethyl esters, natural or refined fats or oils. The composition of the fatty acids in the dietary fat and tissue fats should be stated clearly, expressed as mol/100 mol or g/100 g total fatty acids.

Nomenclature of micro-organisms. The correct name of the organism, conforming with international rules of nomenclature, should be used: if desired, synonyms may be added in parentheses when the name is first mentioned. Names of bacteria should conform to the current Bacteriological Code and the opinions issued by the International Committee on Systematic Bacteriology. Names of algae and fungi must conform to the current International Code of Botanical Nomenclature. Names of protozoa should conform to the current International Code of Zoological Nomenclature.

Nomenclature of plants. For plant species where a common name is used that may not be universally intelligible, the Latin name in italics should follow the first mention of the common name. The cultivar should be given where appropriate.

Other nomenclature, symbols and abbreviations. Authors should consult recent issues of the *British Journal of Nutrition* for guidance. The IUPAC rules on chemical nomenclature should be followed, and the recommendations of the Nomenclature Committee of IUBMB and the IUPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature and Nomenclature Commission of IUBMB in *Biochemical Nomenclature and Related Documents* (1992), 2nd ed., London: Portland Press (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/bibliog/white.html>). The symbols and abbreviations, other than units, are essentially those listed in *British Standard 5775* (1979–1982), *Specifications for Quantities, Units and Symbols*, parts 0–13. Day should be abbreviated to d, for example 7 d, except for 'each day', '7th day' and 'day 1'.

Elements and simple chemicals (e.g. Fe and CO₂) can be referred to by their chemical symbol (with the exception of arsenic and iodine, which should be written in full) or formula from the first mention in the text; the title, text and table headings, and figure legends can be taken as exceptions. Well-known abbreviations for chemical substances may be used without explanation, thus: RNA for ribonucleic acid and DNA for deoxyribonucleic acid. Other substances that are mentioned frequently (five or more times) may also be abbreviated, the abbreviation being placed in parentheses at the first mention, thus: lipoprotein lipase (LPL), after that, LPL, and an alphabetical list of abbreviations used should be included. Only accepted abbreviations may be used in the title and text headings. If an author's initials are mentioned in the text, they should be distinguished from other abbreviations by the use of stops, e.g. 'one of us (P. J. H.)...'. For UK counties the official names given in the *Concise Oxford Dictionary* (1995) should be used and for states of the USA two-letter abbreviations should be used, e.g. MA (not Mass.) and IL (not Ill.). Terms such as 'bioavailability' or 'available' may be used providing that the use of the term is adequately defined.

Spectrophotometric terms and symbols are those proposed in *IUPAC Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units* (1979) London: Butterworths. The attention of authors is particularly drawn to the following symbols: m (milli, 10³), μ (micro, 10⁶), n (nano, 10⁹) and p (pico, 10¹²). Note also that ml (millilitre) should be used instead of cc, μ m (micrometre) instead of μ (micron) and μ g (microgram) instead of γ .

Numbers. Numerals should be used with units, for example, 10 g, 7 d, 4 years (except when beginning a sentence, thus: 'Four years ago...'); otherwise, words (except when 100 or more), thus: one man, ten ewes, ninety-nine flasks, three times (but with decimal, 2.5 times), 100 patients, 120 cows, 136 samples.

Abbreviations. The following abbreviations are accepted without definition by the *British Journal of Nutrition*:

ADP (GDP)	adenosine (guanosine) 5'-disphosphate
AIDS	acquired immune deficiency syndrome
AMP (GMP)	adenosine (guanosine) 5'-monophosphate
ANCOVA	analysis of covariance
ANOVA	analysis of variance
apo	apolipoprotein
ATP (GTP)	adenosine (guanosine) 5'-triphosphate
AUC	area under the curve
BMI	body mass index
BMR	basal metabolic rate
bp	base pair
BSE	bovine spongiform encephalopathy
CHD	coronary heart disease
CI	confidence interval
CJD	Creutzfeldt-Jacob disease
CoA and acyl-CoA	co-enzyme A and its acyl derivatives
CV	coefficient of variation

CVD	cardiovascular disease
Df	degrees of freedom
DHA	docosahexaenoic acid
DM	dry matter
DNA	deoxyribonucleic acid
dpm	disintegrations per minute
EDTA	ethylenediaminetetra-acetic acid
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPA	eicosapentaenoic acid
Expt	experiment (for specified experiment, e.g. Expt 1)
FAD	flavin-adenine dinucleotide
FAO	Food and Agriculture Organization (except when used as an author)
FFQ	food-frequency questionnaire
FMN	flavin mononucleotide
GC	gas chromatography
GLC	gas-liquid chromatography
GLUT	glucose transporter
GM	genetically modified
Hb	haemoglobin
HDL	high-density lipoprotein
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethanesulfonic acid
HIV	human immunodeficiency virus
HPLC	high-performance liquid chromatography
Ig	immunoglobulin
IHD	ischaemic heart disease
IL	interleukin
IR	infra red
kb	kilobases
K_m	Michaelis constant
LDL	low-density lipoprotein
MHC	major histocompatibility complex
MRI	magnetic resonance imaging
MS	mass spectrometry
MUFA	monounsaturated fatty acids
NAD ⁺ , NADH	oxidized and reduced nicotinamide-adenine dinucleotide
NADP ⁺ , NADPH	oxidized and reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate
NEFA	non-esterified fatty acids
NF- κ B	nuclear factor kappa B
NMR	nuclear magnetic resonance
NS	not significant
NSP	non-starch polysaccharide
OR	odds ratio
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
PBS	phosphate-buffered saline
PCR	polymerase chain reaction
PG	prostaglandin
PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor
PUFA	polyunsaturated fatty acids
RDA	recommended dietary allowance
RER	respiratory exchange ratio
RIA	radioimmunoassay
RMR	resting metabolic rate
RNA, mRNA etc.	ribonucleic acid, messenger RNA etc.
rpm	revolutions per minute
RT	reverse transcriptase
SCFA	short-chain fatty acids
SDS	sodium dodecyl sulphate
SED	standard error of the difference between means
SFA	saturated fatty acids
SNP	single nucleotide polymorphism
TAG	triacylglycerol
TCA	trichloroacetic acid
TLC	thin-layer chromatography
TNF	tumour necrosis factor
UN	United Nations (except when used as an author)
UNICEF	United Nations International Children's Emergency Fund

UV	ultra violet
VLDL	very-low-density lipoprotein
V _{O₂}	O ₂ consumption
V _{O₂max}	maximum O ₂ consumption
WHO	World Health Organization (except when used as an author)

Use of three-letter versions of amino acids in tables: Leu, His, etc.
CTP, UTP, GTP, ITP, as we already use ATP, AMP etc.

Disallowed words and phrases. The following are disallowed by the *British Journal of Nutrition*:

- deuterium or tritium (use ²H and ³H)
- c.a. or around (use approximately or about)
- canola (use rapeseed)
- ether (use diethyl ether)
- free fatty acids (use NEFA)
- isocaloric/calorie (use isoenergetic/energy)
- quantitate (use quantify)
- unpublished data or observations (use unpublished results)

Proofs. PDF proofs are sent to authors in order that they make sure that the paper has been correctly set up in type. Excessive alterations involving changes other than typesetting errors may have to be disallowed or made at the author's expense. All corrections should be made in ink in the margins: marks made in the text should be only those indicating the place to which the corrections refer.

Corrected proofs should be returned within 3 days either by Express mail or email to:

Emma Pearce
Production Editor
Journals Department
Cambridge University Press
The Edinburgh Building
Shaftesbury Road
Cambridge CB2 2RU
UK

Telephone: +44 1223 325032
Fax: +44 1223 325802
Email: bjnproduction@cambridge.org


If corrected proofs are not received from authors within 7 days the paper may be published as it stands.


Offprints. A copy of the issue and a PDF file of the paper will be supplied free of charge to the corresponding author of each paper or short communication, and offprints may be ordered on the order form sent with the proofs.

SUBMISSION PROCESS

The *British Journal of Nutrition* operates an on-line submission and reviewing system (eJournalPress). Authors should submit to the following address: <http://bjn.msubmit.net/>. If any difficulties are encountered please contact the Publications Office immediately.

The manuscript submission process is broken into a series of four screens that gather detailed information about your manuscript and allow you to upload the appropriate text and figure/table files. The sequence of screens is as follows:

1. A form requesting author details, manuscript title, abstract, and associated information and the file quantities. Although there is the option of saving your information and returning to complete your submission at a later date we strongly advise you to submit your paper in one session if possible.
2. A screen asking for the actual file locations (via an open file dialogue). After completing this screen, your files will be uploaded to our server.
3. A completion screen that will provide you with a specific manuscript number for your manuscript. You may be asked to select the order in which your uploaded files should be presented.
4. An approval screen that will allow you to verify that your manuscript has been uploaded and converted to PDF correctly. Each converted file must be approved individually to complete your online submission. If the conversion is not correct, you can replace or delete your manuscript files as necessary. After you have reviewed the converted files, you will need to click on "Approve Manuscript". This link will have a red arrow  next to it.

Throughout the system, red arrows  reflect pending action items that you should address.

Before submitting a manuscript, please gather the following details for all authors:

- Title, First and Last Names
- Full Postal Address for Corresponding Author only
- Institutions
- Country
- Work Fax Number for Corresponding Author only (including international dialling code)
- Email addresses

In addition we require full manuscript details:

- Covering Letter
- Title (you may copy and paste this from your manuscript)
- Abstract (you may copy and paste this from your manuscript)
- Manuscript files in Word, WordPerfect, or RTF format.
- Ideally manuscript files should have the tables/figures given at the end of the article.
- For illustrations, preferred software packages are Adobe Illustrator, Adobe Photoshop, Aldus Freehand, Chemdraw or CorelDraw. Preferred formats are TIFF or JPEG, if a TIFF file is not possible save as an EPS or a windows metafile. Figures should be submitted as separate files, not as part of the main body of the manuscript.

Please provide contact details for up to four potential Referees (email addresses and institutions).

For further information, please contact the Publications Office:

Tel: +44 (0)20 7605 6555
 Fax: +44 (0) 20 7602 1756
 Email: edoffice@nutsoc.org.uk