

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**

**YACON (*Smallanthus sonchifolius*): COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS  
E EFEITOS SOBRE A GLICEMIA E ESTRESSE OXIDATIVO EM  
RATOS DIABÉTICOS.**

**Luciana Abrão de Oliveira**

**ARARAQUARA - SP**

**2010**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**

**YACON (*Smallanthus sonchifolius*): COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS  
E EFEITOS SOBRE A GLICEMIA E ESTRESSE OXIDATIVO EM  
RATOS DIABÉTICOS.**

Dissertação apresentada à Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Nutricionais, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP.

**Orientador:** Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro

**Coorientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Telma Maria Braga Costa

**ARARAQUARA-SP**

**2010**

### **Ficha Catalográfica**

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP – Campus de Araraquara

**O48y** Oliveira, Luciana Abrão de  
Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): compostos fenólicos totais e efeitos sobre a glicemia e estresse oxidativo em ratos diabéticos / Luciana Abrão de Oliveira. -- Araraquara, 2010.  
77 f.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição.  
Orientador: Anderson Marliere Navarro  
Co-orientadora: Telma Maria Braga Costa  
1. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). 2. Glicemia. 3. Estresse oxidativo. I. Navarro, Anderson Marliere, orient. II. Costa, Telma Maria Braga, co-orient. III. Título.

**CAPES: 40500004**

# FOLHA DE APROVAÇÃO

LUCIANA ABRÃO DE OLIVEIRA

Yacon (*smallanthus sonchifolius*): compostos fenólicos totais e efeitos sobre a glicemia e estresse oxidativo em ratos diabéticos.

Dissertação apresentada à Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Nutricionais, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP.

Aprovação em: 03/12/2010

## Banca Examinadora

Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro

Titular - FMRP - USP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thais Borges César

Titular – UNESP/Araraquara

---

Prof. Dr. Guilherme Vannucchi Portari

Titular – UFTM

---

Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Junior

Suplente – FMRP -USP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Rita Marques de Oliveira

Suplente – UNESP/Botucatu

---

## *Dedicatória*

*Essas páginas são dedicadas especialmente à minha mãe Najla e ao meu pai Ismael que tanto lutaram para que eu chegasse até aqui. À minha irmã Daniela, uma grande companheira, por quem tenho um amor imenso.*

# *Agradecimentos*

*A Deus.*

*Encontro em Deus a paz do espírito e proteção para as minhas angústias; ser capaz de me proteger a todo e qualquer instante, sempre me dando forças nas horas mais difíceis. Obrigada, senhor, por eu estar hoje comemorando o término de uma missão acadêmica e o início da profissão que abracei.*

*Aos meus Pais, Ismael e Najla, e Familiares.*

*Fostes pai e mãe por excelência, em todos os momentos de lutas e conquistas. Meus sorrisos e minhas lágrimas foram acolhidos de uma maneira singular. Minhas noites mal dormidas foram assistidas com olhar sereno, refletindo a esperança de que tudo valeria à pena. E hoje, nesse momento em que este trabalho se concretiza, ofereço toda a minha gratidão e amor.*

*Ao meu orientador Anderson Marliere Navarro*

*E à minha coorientadora Telma Maria Braga Costa,*

*Que colaboraram com suas infinitas sabedoria para a concretização desse estudo e me entregaram abertamente sua confiança. Agradeço também por participarem desde o início e sempre perto do meu crescimento profissional. Serei sempre grata. Lutamos na tentativa de tornar este momento algo inesquecível.*

*Aos meus Amigos,*

*A todos os colegas que compartilharam comigo os anos de estudos e expectativas no cotidiano da vida acadêmica, sabendo cultivar uma amizade que o tempo só amadureceu. Os meus sinceros agradecimentos a Maria Cláudia “Kakaia”, Pri Ângelo, Pri Fassini, Patrícia, Kézia, Caio, Clarissa, Paula Payão, Flávia Giolo, Gabriela, Flávia Rosa, Isabel Arruda, Carlos Alberto, Karen, Juliana, Aline Lana, Daniela Elias e Gisele Massafra.*

*A minha irmã Daniela,*

*Que me compreende sempre, e que é o meu exemplo de força, dedicação e superação.*

*Aos Mestres.*

*Vocês que me guiaram para além das teorias, das filosofias e das técnicas. Suas lições incluíram compreensão, amizade e, mas do que tudo, vocês me deram a consciência do valor da minha profissão. Mestres cuja inteligência e cultura têm colocado a serviço do ensino, os quais ouvi os maiores e melhores conhecimentos, dizer-lhes muito obrigado é muito pouco e não expressa em plenitude tudo aquilo que desejo a vocês. O meu sincero agradecimento especialmente aos professores: Alceu Afonso Jordão Junior, Tháís César Borges, Maria Rita Marques de Oliveira, Paula Chiarello, Guilherme Vannucchi, Aureluce Demonte e Juliana Campos Bononi*

*Ao Namorado Dante Lopes,*

*Companheiro de todos os momentos, na livre marcha dos dias. Estimulador dos meus sonhos. Divido convosco o mérito desta conquista.*

*Aos Funcionários e Amigos.*

*A todos aqueles que direta ou indiretamente cooperaram para o bom andamento do meu trabalho, o meu sincero agradecimento, especialmente a Mônica, Livia, Renata, Marina, Maurício, Adalberto, Roni e Gilberto.*

*À CAPES*

*Pela bolsa concedida.*

*A todos que torceram de perto, de longe, por um instante ou constantemente para a realização desse trabalho...*

*Muito Obrigada!!!*

## *Epígrafe*

*“Há quem diga que todas as noites são sonhos. Mas há também quem garanta que nem todas, só as de verão. No fundo, isto não tem muita importância. O que interessa mesmo não é a noite em si, são os sonhos. Sonhos que o homem sonha sempre, em todos os lugares, em todas as épocas do ano, dormindo ou acordado”*

*William Shakespeare*



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Composição química (%) da raiz tuberosa de yacon liofilizado.....	47
<b>Tabela 2.</b>	Média e desvio padrão dos Pesos (g) dos animais .....	48
<b>Tabela 3.</b>	Média e Desvio padrão da Glicemia (mg/dL) dos animais.....	49
<b>Tabela 4.</b>	Médias de valores de peroxidação lipídica sérica e hepática observadas através da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico .....	49
<b>Tabela 5.</b>	Valores médios de glutathione reduzida (sérica e hepática) e vitaminas E e A séricas e hepáticas como indicadores do sistema antioxidante.....	51
<b>Tabela 6.</b>	Concentrações médias séricas de transaminase oxalacética, transaminase pirúvica, fosfatase alcalina e $\gamma$ -glutamyl transferase apresentadas pelos grupos experimentais.....	52
<b>Tabela 7.</b>	Média e desvio padrão dos Pesos (g) dos animais.....	53
<b>Tabela 8.</b>	Média e Desvio padrão da Glicemia (mg/dL) dos animais.....	53
<b>Tabela 9.</b>	Médias de valores de peroxidação lipídica sérica e hepática observadas através da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.....	54
<b>Tabela 10.</b>	Valores médios de glutathione reduzida (sérica e hepática) e vitaminas E e A séricas e hepáticas como indicadores do sistema antioxidante.....	55
<b>Tabela 11.</b>	Concentrações médias séricas de transaminase oxalacética, transaminase pirúvica, fosfatase alcalina e $\gamma$ -glutamyl tranferase apresentadas pelos grupos experimentais.....	55

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	As raízes de yacon .....	22
<b>Figura 2.</b>	Distribuição geográfica do plantio do yacon na América do Sul .....	22
<b>Figura 3.</b>	Delineamento experimental fase aguda.....	38
<b>Figura 4.</b>	Delineamento experimental fase crônica .....	39
<b>Figura 5.</b>	Representação de fenólicos totais (mg/g de amostra) nos diferentes tempos de exposição do yacon. ....	46
<b>Figura 6.</b>	Representação de fenólicos totais (mg/g de amostra) nos diferentes processamentos (branqueamento e decorticado) com yacon	47
<b>Figura 7.</b>	Representação dos valores médios e desvio padrão de hemoglobina glicada.....	53

## RESUMO

Inúmeros estudos têm comprovado a presença de compostos com propriedades benéficas à saúde na raiz tuberosa de yacon, entre eles frutooligossacarídeos (FOS), inulina e compostos fenólicos com ação antioxidante. Outro ponto importante a respeito dessa planta é sua utilização na alimentação por incorporar substâncias bioativas interessantes na prevenção e tratamento de doenças como o diabetes. Como é amplamente divulgado, o diabetes impõe uma situação patológica de estresse das células, aumentando a necessidade do equilíbrio entre os componentes pró e antioxidantes, sendo o yacon uma fonte de substâncias nutritivas que poderia contribuir para um maior controle desses mecanismos. O objetivo do presente estudo, portanto, foi quantificar os compostos fenólicos totais presentes na raiz tuberosa de yacon e analisar o efeito da mesma no controle da glicemia e do estresse oxidativo em ratos diabéticos. O estudo consistiu da quantificação dos compostos fenólicos totais em diferentes tratamentos na raiz tuberosa e sua composição centesimal. Preparou-se uma solução de yacon 30%, que representava 1,2 g de yacon liofilizado, administrado por gavagem uma vez ao dia durante todo o estudo, sendo a mesma concentração nos dois experimentos realizados. O experimento agudo teve a duração de seis dias e foi dividido em Grupo controle Água (CA: grupo não diabético, animais receberam Água - n = 10); Grupo controle Yacon (CY: grupo não diabético, animais receberam solução de Yacon - n = 10); Grupo diabético Água (DA: grupo diabético que recebeu Água - n = 15) e Grupo diabético Yacon (DY: grupo diabético que receberá solução de Yacon - n=15). O acesso à água e ao alimento foi *ad libitum*. O experimento crônico teve a duração de 27 dias e os animais foram divididos em Grupo diabético Água (DA - grupo diabético que receberam Água (n = 8) - e Grupo diabético Yacon (DY) - grupo diabético que receberam solução de Yacon (n=8). Foi calculada a ingestão dos animais, a glicemia foi determinada diariamente nos dois experimentos e o peso monitorado. Foram determinados também marcadores de estresse oxidativo e enzimas para verificar dano hepático. Os resultados em relação aos diferentes tratamentos apresentaram o liofilizado com maior concentração de compostos fenólicos. No Experimento agudo, o Grupo diabético Yacon apresentou os menores valores médios de Peso e, quando comparadas às médias de glicemia dos diferentes grupos, o grupo diabético Yacon também apresentou uma melhor resposta glicêmica. Em relação aos marcadores de estresse, estes não demonstraram efeito protetor contra o estresse oxidativo; porém, demonstram uma utilização maior das vitaminas antioxidantes nos grupos controles em relação aos grupos diabéticos. No experimento crônico, não houve diferença significativa das médias de peso nos diferentes grupos. Porém, na glicemia houve diferença significativa entre os grupos. Os níveis de hemoglobina glicada não apresentaram diferença e a ingestão alimentar foi menor no grupo Diabético Yacon. As análises de vitaminas antioxidantes demonstraram maior utilização nos grupo diabético água em relação ao diabético yacon, apresentando a mesma característica que no estudo agudo, porém, com maior evidência. Conclui-se que a raiz não foi capaz de promover uma proteção antioxidante.

**Palavras - chave:** Yacon, Glicemia, Estresse Oxidativo

---

## ABSTRACT

Numerous studies have confirmed the presence of compounds with beneficial health properties in tuberous roots of yacon, including fructooligosaccharides (FOS), inulin and phenolic compounds with antioxidant activity. Another important point about this plant is its use in food by incorporating bioactive substances of interest in the prevention and treatment of diseases such as diabetes. As is widely reported, diabetes imposes a pathological situation that stress the cells, increasing the need for balance between pro-and antioxidant components, the yacon being a source of nutrients which could contribute to a better control of these mechanisms. The aim of this study was therefore to quantify the phenolic compounds in the tuberous roots of yacon and analyze its effect on glycemic control and oxidative stress in diabetic rats. The study consisted of quantification of phenolic compounds in different treatments in the tuberous root and its composition. It was prepared a solution of yacon 30%, 1.2 g of dried yacon and it was administered by gavage once a day throughout the study with for both experiments. The acute experiment lasted six days and the animals were divided into Water Control Group (CA: non-diabetic group, animals received water - n = 10) and control group Yacon (CY: non-diabetic group, animals received solution Yacon - n = 10); Water diabetic group (DA: diabetic group that received water - n = 15) and diabetic group Yacon (DY: diabetic group who receive solution Yacon - n = 15). Access to water and food was ad libitum. The chronic experiment lasted 27 days and the animals were divided into diabetic Water Group (DA - diabetic group that received water (n = 8) - Yacon and diabetic group (DY) - diabetic group that will receive Yacon solution (n = 8). We calculated the intake of the animals, blood glucose was measured daily in both experiments and weight monitored. There were also certain oxidative stress markers and enzymes to determine liver injury. The results for the different treatments had the highest concentration of lyophilized phenolic compounds. In Experiment acute, Yacon diabetic group had the lowest average values of weight and when compared to the average blood glucose of different groups, the diabetic group Yacon also showed better glycemic response. Regarding stress markers, they do not demonstrated a protective effect against oxidative stress, but show a greater use of antioxidant vitamins in the control groups compared to diabetic groups. In chronic experiment, there was no significant difference in the mean weight in different groups. However, the significant difference between glucose groups. glycated hemoglobin levels did not differ and food intake was lower in diabetic Yacon. Analyses of antioxidant vitamins showed higher water use in the diabetic group compared to diabetic yacon, showing the same feature in the acute study, however, more clearly. We conclude that the root was not able to promote a protective antioxidant.

**Keywords:** Yacon, Glucose, Oxidative stress

# SUMÁRIO

<b>Capítulo I</b>		
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>20</b>
2.1.	Características do yacon ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ) .....	21
2.2.	Modo de Consumo do yacon .....	25
2.3.	Yacon, compostos fenólicos e potencial antioxidante .....	27
2.4.	Diabetes e estresse oxidativo .....	29
<b>3.</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>31</b>
3.1.	Objetivo Geral .....	32
3.2.	Objetivos Específicos .....	32
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
4.1.	Processamentos com yacon.....	34
4.1.1	<i>In natura</i> .....	34
4.1.2.	Branqueamento .....	34
4.1.3.	Decorticado em Gelo .....	35
4.1.4.	Liofilizado .....	35
4.2.	Determinação de Compostos fenólicos totais .....	35
4.3.	Análise da composição centesimal de yacon .....	36
4.3.1.	Determinação de Umidade .....	36
4.3.2.	Determinação de Cinzas .....	36
4.3.3.	Determinação de Proteínas .....	36
4.3.4.	Determinação de Lipídeos .....	36
4.3.5.	Estimativa da composição em Carboidratos .....	37
4.4.	Delineamento Experimental .....	37
4.4.1.	Protocolo de indução a Diabetes mellitus.....	37
4.4.2.	Administração da solução de yacon.....	38
4.4.3.	Fase Aguda .....	38
4.4.4.	Fase Crônica .....	39
4.4.5.	Eutanásia e coleta de material biológico .....	39
4.5.	Análises bioquímicas .....	39
4.5.1.	Glicemia .....	40

4.5.2.	Hemoglobina glicada .....	40
4.6.	Metodologia de Análise do Estresse Oxidativo .....	40
4.6.1.	Determinação de Substâncias reativas do Ácido Tiobarbitúrico .....	40
4.6.2.	Determinação de Glutathiona reduzida .....	41
4.7.	Metodologia de Análise de Proteínas totais .....	42
4.8.	Metodologia de Análise de Antioxidantes .....	42
4.9.	Metodologia de Análise de Enzimas hepáticas .....	43
<b>5.</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>44</b>
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>45</b>
6.1.	Processamentos com yacon.....	46
6.2.	Composição centesimal de yacon .....	47
6.3.	Caracterização do modelo experimental Agudo .....	48
6.3.1.	Crescimento dos animais .....	48
6.3.2.	Avaliação da glicemia .....	48
6.3.3.	Avaliação da peroxidação lipídica .....	49
6.3.4	Quantificação de componentes do sistema antioxidante .....	49
6.3.5	Análise do dano hepático .....	52
6.4.	Caracterização do modelo experimental crônico.....	52
6.4.1.	Crescimento dos animais .....	52
6.4.2.	Avaliação da glicemia .....	53
6.4.3.	Consumo de dieta .....	54
6.4.4.	Avaliação da peroxidação lipídica .....	54
6.4.5.	Quantificação de componentes do sistema antioxidante .....	54
6.4.6.	Análise do dano hepático .....	55
<b>7.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>56</b>
<b>8.</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>69</b>
	<b>Capítulo II</b>	
	Artigo Científico.....	78
	Anexo A.....	99

# *Capítulo I*

# *1. Introdução*

---

---

---



Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher) é uma planta originária dos Andes. Seu cultivo se iniciou provavelmente na Colômbia, no Equador, no Peru ou em regiões andinas de elevadas altitudes. O cultivo do yacon no Brasil para fins econômicos começou após a década de 90, quando um agricultor brasileiro, de origem japonesa, introduziu a espécie no interior do estado de São Paulo ao iniciar uma pequena indústria familiar, em que fornecia raízes frescas e desidratadas e folhas secas para o preparo de chás medicinais a diabéticos. Até os dias atuais, o principal estado produtor do yacon no Brasil é São Paulo, destacando-se regiões como Capão Bonito e Botucatu (VILHENA et al., 2000).

Entre as raízes comercializadas, a dessa planta é atualmente a mais promissora e atrai a atenção mundial devido à sua surpreendente variedade de vantagens e benefícios. Em relação às características bromatológicas e químicas do yacon, destacam-se o baixo teor de calorias de suas raízes, o que a torna atrativa para o consumo por pessoas em dietas ou cujas doenças necessitam de algum controle. Quantidades apreciáveis de frutoligosacarídeos (FOS) são armazenadas nas raízes tuberosas, o que a diferencia da maioria das raízes que acumulam amido como carboidrato de reserva. Yacon é uma das raízes de reserva comestível com maior conteúdo de água na sua composição, que pode variar de 83% a 90% do peso fresco das raízes (NIETO, 1991). Possui quantidades importantes de potássio, um elevado conteúdo de cálcio, compostos fenólicos derivados de ácido cafeico, substâncias antioxidantes com ácido clorogênico e L-triptofano. A presença desses compostos fenólicos torna as raízes susceptíveis ao escurecimento enzimático, causado pelas enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD). Nessa reação, ocorre a formação da melanina (pigmento escuro), que deprecia a qualidade do produto. O controle dessa reação deve ser feito através da inativação das enzimas pelo calor ou pelo uso de agentes redutores, como o ácido ascórbico (YAN et al., 1999).

Em relação à quantidade de Carboidratos encontrados, pode-se considerar a seguinte composição em base seca: 40 a 70% de FOS, 5 a 15% de sacarose, 5 a 15% de frutose e menos de 5% de glicose (STARK et al., 1994). A biosíntese desses compostos ocorre amplamente na natureza, podendo ser encontrada em quantidades expressivas também na cebola, na banana, na alcachofra, no alho, nas raízes de almeirão e na beterraba (ROBERFROID, 1998).

Entre os efeitos benéficos que os FOS de yacon apresentam está o fato de que eles não são digeríveis pelo aparelho digestivo, possuindo efeito similar ao da fibra alimentar. Além disso, são compostos não cariogênicos e participam da eliminação de bactérias patogênicas e putrefativas por efeito da multiplicação das bifidobactérias. Outros efeitos estão envolvidos no auxílio à diminuição dos lipídios séricos, favorecendo o aumento da absorção de minerais, como cálcio, magnésio e ferro, estimulando a inibição dos estágios iniciais do câncer de cólon e, por fim, diminuindo a velocidade de absorção dos açúcares, o que torna o yacon potencialmente benéfico na dieta de diabéticos (ROBERFROID, 1998).

Stark (1994) afirma que o consumo de alimentos fontes desses compostos pode melhorar a tolerância à glicose ao regular os níveis pós-prandiais da glicose e a liberação da insulina. A suplementação de alimentos fontes de FOS e inulina, associados a mudanças no comportamento alimentar e início de bons hábitos, poderia reduzir em 20% a 50% os níveis de glicose em diabéticos (WÜRSCH,1997). Isso retarda a digestão e absorção de carboidratos; porém, a mediação hormonal da absorção da glicose e a liberação de insulina também estão envolvidas (STARK et al.,1994).

Devido a essas características dos FOS, alimentos fontes desses compostos, como raiz tuberosa de yacon, têm sido usados por diabéticos. Nos últimos anos, intensificou-se a utilização de produtos à base de plantas na formulação de medicamentos, entre eles os antidiabéticos. Estima-se que mais de 1.000 espécies de plantas estão sendo usadas como

remédio popular para diabetes. Entretanto, a maioria delas necessita de comprovação científica em relação aos seus efeitos benéficos (GENTA et. al., 2010).

Diabetes é uma doença caracterizada por hiperglicemia, glicosúria e um amplo espectro de manifestações clínicas patológicas. A hiperglicemia, manifestação clínica primária do diabetes, está associada ao processo conhecido como estresse oxidativo, desencadeado pela reação não enzimática da glicose com os grupos amino terminais de proteínas por meio de uma reação denominada glicação. A glicação das proteínas, seguida da formação de radicais livres, tem sido proposta como um dos mais importantes processos na patogenia do diabetes (NOVELLI, 2005).

Esse aumento provocado nas espécies reativas de oxigênio (EROS) provoca um desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante. A formação dessas espécies reativas de oxigênio, tais como os ânions superóxido e o peróxido de hidrogênio, representa uma importante causa de injúria oxidativa de diversas doenças associadas à formação desses radicais livres, tais como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, artrite reumatoide e alcoolismo, entre outras (VALKO et al., 2007).

As espécies reativas de oxigênio (EROS) atacam as macromoléculas e geram novos radicais e/ou moléculas, perpetuando, assim, uma cadeia cíclica de reações de oxidação, tendo o malondialdeído (MDA) como o produto final formado no processo de peroxidação lipídica pelo ataque das EROS e sendo considerado um marcador desse processo (DEL RIO; STEWART; PELLEGRINI, 2005).

Na tentativa de bloquear a propagação desse produto final e evitar esse processo de dano oxidativo, o organismo lança mão de substâncias do sistema de proteção antioxidante, como enzima glutatona redutase (GSH) e catalase, e os não enzimáticos, como a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), licopeno,  $\beta$ -caroteno, flavonoides e compostos fenólicos, destacando-se, principalmente, os nutrientes antioxidantes, enfocando o papel da

dieta na obtenção desses nutrientes com a consequente proteção contra os radicais livres (JORDÃO JR. et al., 2004).

Os compostos fenólicos atuam nesse processo, interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos estáveis ou reagindo com os radicais livres (ANGELO et al., 2007).

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo assim propriedades antioxidantes também para os vegetais (ANGELO et al., 2007).

Dentre os fenólicos com ação antioxidante para o tecido animal, destacam-se o ácido clorogênico e o triptofano, identificados com maior poder antioxidante em raízes tuberosas, além dos ácidos cafeico, ferúlico, gálico e quercetina, presentes no yacon em quantidades significativas - cerca de 200 mg/ 100 g de matéria fresca comestível (SIMONOVSKA et al., 2003).

Estudos avaliando os efeitos das substâncias bioativas presentes na raiz são indispensáveis; por outro lado, tratando-se de uma raiz ainda em investigação, devem ser conduzidos mais estudos para avaliar sua toxicidade. Entretanto, nos estudos de testes realizados por Aybar (2001) e por Genta (2005) com o chá da folha de yacon e com a raiz na forma de suplemento, não foram nestes evidenciados qualquer potencial genotóxico nem toxicidade subcrônica.

Dessa forma, justifica-se uma pesquisa sobre a participação de um alimento com compostos que atuam na resposta glicêmica, de forma a atenuar um quadro de estresse oxidativo, desde que esses compostos não apresentem efeitos de toxicidade, tornando-se, portanto, um alimento com possível potencial antidiabético.

## *2. Revisão Bibliográfica*

---

---

## 2.1. Características do yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

O yacon pode ser classificado com os seguintes nomes científicos: *Polymnia sonchifolia* Poepping & Endlicher (1845), *Polymnia edulis* Weddell (1857) e *Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher H. Robinson (1978). Normalmente, é citado na literatura como *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl. ou *Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl. H. Robinson (ZARDINI, 1991). *In natura*, é classificado como uma raiz tuberosa pertencente à família Asteraceae, sendo originário, provavelmente, dos vales andinos da Colômbia, Equador, Peru, Bolívia ou noroeste da Argentina - regiões que podem ser consideradas ricas quanto à variedade de raízes e tubérculos comestíveis - em altitudes de 2.000 a 3.100 metros (VILHENA et.al., 2000).

A planta de yacon cresce de forma rápida e fácil, atingindo a maturidade em um período de seis a sete meses e sobrevive até mesmo em solos pobres. Atinge de 1,5 m a 3 m de altura, é herbácea e possui um talo principal, que, às vezes, se ramifica desde a base e, em outras, somente apresenta ramos pequenos na parte superior (GRAU; REA, 2004). Há autores que a definem como uma planta perene, de propagação vegetativa, dotada de um sistema radicular que origina caules aéreos e pilosos esverdeados, atingindo uma altura de 2 m a 2,5 m e apresentando alta produtividade, podendo mostrar um rendimento de raízes superior a 70 toneladas por hectares (NIETO, 1991; QUINTEROS, 2000).

As raízes tuberosas de yacon têm formatos variáveis, mas geralmente são grossas, fusiformes ou ovaladas, conforme ilustra a Figura 1, e podem variar consideravelmente com relação ao sabor, tamanho e cor. Diferentes fatores, como a variedade, o tipo de solo e a localidade, entre outros, podem influenciar na forma e no tamanho das raízes (GRAU; REA, 2004).



**Figura 1.** As raízes de yacon

Diversos autores relatam a distribuição geográfica do cultivo do yacon, desde o norte da Argentina (ZARDINI, 1991) até Bolívia (GRAU; REA, 2004), Equador e Peru (TAPIA et al., 1996), conforme apresentado na Figura 2.



**Figura 2.** Distribuição geográfica do plantio de yacon na América do Sul.  
**Fonte:** Zardini, 1991.

Nas últimas três décadas, o cultivo dessa planta tem se estendido para outros continentes. No Japão, foi introduzido por volta de 1985 (ASAMI et. al., 1991) e, no Brasil, começou a ser cultivado por volta de 1989, sendo produzido e comercializado inicialmente na região de Capão Bonito (SP) e, atualmente, na região de Itajaí (RS) (VILHENA et. al., 2000). No Japão, entretanto, desenvolveu-se uma pequena indústria agrícola, onde se exploraram as propriedades dietéticas e se realizaram os primeiros estudos científicos e publicações sobre as evidências da potencialidade medicinal do yacon (QUINTEROS, 2000).

As raízes de yacon têm sido alvo de atenção de pesquisadores, visto que apresentam compostos bioativos de importância à saúde humana e uma composição química peculiar, com altas concentrações de frutooligossacarídeos (FOS) e inulina. Esses frutanos são carboidratos de reserva constituídos de uma a 70 unidades de frutose, ligadas ou não a uma molécula terminal de sacarose (ROBERFROID & DELZENNE, 1998). Podem apresentar uma estrutura linear ou ramificada, com moléculas unidas por ligações frutossil-frutose do tipo  $\beta(2\rightarrow6)$ , vistas em frutanos do tipo levano, ou ligações  $\beta(2\rightarrow1)$ , encontradas em frutanos do tipo inulina (esses compostos são encontrados em muitas fontes na natureza e constituem a reserva energética de cerca de 36.000 vegetais, entre eles alho, banana, cebola, yacon, chicória e alcachofra), como demonstrado no Quadro 1 (MOSCATTO et al., 2004).



**Quadro 1-** Conteúdo, em Inulina e Oligofrutose, de vegetais comumente usados na alimentação humana em 100 g do alimento.

Alimento	Parte	Conteúdo em material seco (g)	Conteúdo em Inulina (g)	Conteúdo em oligofrutose (g)
Yacon	Raiz	13-31	3-19	3-19
Alho	Bulbo	40-45	9-16	3-6
Banana	Fruta	24-26	0,3-0,7	0,3-0,7
Cebola	Bulbo	6-12	2-6	2-6
Chicória	Raiz	20-25	15-20	5-10
Alcachofra	Folha/Coração	14-16	3-10	< 1

**Fonte:** Moscatto; Prudêncio- Ferreira (2004, p. 201).

A inulina e seus produtos de hidrólise (oligofrutose), e os FOS, são sintetizados a partir da sacarose (ROBERFROID & DELZENNE, 1998). Em geral, esses compostos (FOS e inulina) presentes na raiz não são digeríveis pelo aparelho digestivo, possuindo efeito semelhante à fibra alimentar.

Genta (2005), trabalhando com yacon, comprovou que o tubérculo possui quantidades abundantes de frutanos e reduzidas de amido, o que torna essa raiz potencialmente benéfica na dieta de diabéticos. Esses frutanos se comportam fisiologicamente semelhante à fibra alimentar; por isso, possuem diversas formas de influenciar na resposta glicêmica e no metabolismo da glicose. Inicialmente, têm a propriedade de diminuir a glicemia pós-prandial e a concentração de insulina, principalmente em pessoas diabéticas.

Os frutanos não são digeridos, reduzem a eficiência de hidrólise de enzimas e torna mais lenta a velocidade na qual a glicose entra na corrente sanguínea. Devido a esses fatores, têm a capacidade de prolongar o período de saciedade. Outra influência no metabolismo em geral está relacionada com os ácidos graxos de cadeia curta, que são produzidos durante a fermentação e aumentam a tolerância à glicose na refeição posterior. Dessa forma, alimentos

com alto teor desses compostos são ingredientes interessantes para a elaboração de produtos alimentícios, visando atenuar o aumento da resposta glicêmica ao alimento (MARAGONI, 2007).

Outros benefícios para a saúde relacionados a esses compostos são o efeito não cariogênico, o valor energético reduzido, o favorecimento ao crescimento de bifidobactérias, a redução dos lipídios no sangue, o aumento da absorção de minerais (como cálcio, magnésio e ferro), a inibição dos estágios iniciais do câncer de cólon e a diminuição da velocidade de absorção dos açúcares (QUINTEROS, 2000).

Sendo assim, o yacon é um alimento com propriedades funcionais bastante promissoras e com indicação de ser utilizado na dieta da população em geral (MARAGONI, 2007).

## **2.2. Modo de Consumo do yacon**

O consumo do yacon é variado, mas, preferencialmente, consumido cru, tendo sabor adocicado e refrescante. Pode ser cozido ou desidratado na forma de *chips*. Quando o suco do yacon é colocado para ferver, transforma-se em blocos de açúcar e é chamado de *chancaca* pelos nativos dos Andes (SEMINARIO et al., 2003).

As raízes tuberosas recém-colhidas são insípidas, mas, após cerca de três a cinco dias de exposição ao sol, ocorre uma reação de hidrólise dos frutanos, as raízes tornam-se, então, suculentas e doces e, por isso, são muito apreciadas pela população local. Nesse processo, as cascas ficam pregueadas pela desidratação (ZARDINI, 1991). Logo, se a raiz é destinada ao consumo *in natura*, deve ficar ao sol para que ocorra o incremento no sabor doce; entretanto, se destinada ao consumo por diabéticos ou para obtenção de inulina e frutoligossacarídeos, deve ser processada ou consumida rapidamente (QUINTEROS, 2000).

A atenção ao modo de conservação da raiz é necessária, pois estudos têm demonstrado que, logo após a colheita, é iniciado rapidamente esse processo de mudança na composição química de seus açúcares (os açúcares polimerizados tendem a se despolimerizar com o tempo pós-colheita, isto é, os FOS são hidrolizados em açúcares simples pela ação da enzima frutano hidrolase, que os converte em frutose, sacarose e glicose). Após uma semana de armazenamento à temperatura ambiente, cerca de 30 a 40 % dos FOS podem ter sido transformados em açúcares simples (NARAI-KANAYAMA et al., 2007). No entanto, a velocidade dessa conversão é mais lenta se o yacon é armazenado em temperaturas de refrigeração. As temperaturas elevadas são úteis também para reduzir a taxa de putrefação e deterioração das raízes durante o armazenamento (SANTANA & CARDOSO 2008).

Dessa forma, vale ressaltar a importância em se verificar o tratamento realizado na raiz dessa planta e optar pela sua melhor forma de consumo.

O sabor adocicado do yacon tem sido descrito pelo National Research Council como semelhante ao de uma maçã fresca e a um sabor que lembra a melância (NRC, 1989). Outros autores (OHYAMA et al., 1990; PARAJARA, 1999) descreveram seu sabor como semelhante ao da pêra. Costuma-se consumir o yacon descascado *in natura* como se fosse uma fruta, mas é possível que ele seja cozido, assado ou, ainda, ser preparado sob a forma de bebida refrescante (ROBINSON, 1997).

Nos mercados e feiras da região andina, o yacon é classificado como fruta e é comercializado junto com maçãs, abacates ou abacaxis ao invés de vendidas juntamente a outras raízes e tubérculos, como seria esperado (ROBINSON, 1997).

No Brasil e em países como Japão, vários produtos já vêm sendo comercializados à base de yacon, entre os quais o yacon desidratado e fatiado, semelhante a chips, e as folhas desidratadas para o preparo de chá (RIBEIRO, 1993). Um dos produtos feitos a partir dessa planta e que apresenta potencial interessante é o xarope da yacon não refinado, com

consistência semelhante à do mel e que pode ser vendido como um adoçante dietético (HERMAN et al., 1998).

Os países andinos têm desenvolvido projetos visando valorizar raízes e tubérculos regionais (PAPN, 1996). Pesquisadores dessa região e brasileiros obtiveram doces desidratados e continuam pesquisando para aperfeiçoar o desenvolvimento da farinha de yacon, pois a mesma apresenta a formação de massas emboladas duras durante a estocagem, mesmo embaladas com polietileno, devido à higroscopicidade dos carboidratos presentes no yacon (QUINTEROS, 2000). Portanto, mais estudos têm sido realizados nos processos industriais para a melhor forma de comercializar essa raiz.

### **2.3. Yacon, compostos fenólicos e potencial antioxidante**

A maioria das frutas, legumes, raízes, ervas medicinais e outros produtos contêm grande variedade de compostos fenólicos, vitaminas e carotenoides, entre outros metabólitos considerados substâncias antioxidantes que atuam no auxílio ao tratamento e prevenção de algumas doenças crônicas (SIMONOVSKA et. al., 2003).

Quimicamente, compostos fenólicos são definidos como um grupo de substâncias bastante diversificadas, que possuem pelo menos um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxila ou a outros grupos funcionais, como ésteres e glicosídeos, entre outros, em que os mais importantes são os ácidos fenólicos (cafeico, clorogênico, ferúlico, gálico, *p*-cumárico), os flavonoides (antocianinas, flavanas, flavonas, flavanonas, flavonóis, isoflavonas) e os taninos (NACZK et. al., 2004).

De acordo com seu modo de ação, os antioxidantes, nos alimentos, podem ser classificados como primários ou secundários. Os primários atuam interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em

produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo substrato-antioxidante, que pode reagir com outro radical livre. Os secundários atuam retardando a etapa de iniciação da auto-oxidação por diferentes mecanismos, que incluem complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos (para formar espécie não radicalar), absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (ANGELO et. al., 2007). Os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores da formação de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação (ANGELO et. al., 2007).

Estudos recentes (YAN et. al., 1999; SIMONOVSKA et. al., 2003; VALENTOVÀ et. al., 2003a, 2005b; LACHMAN et. al., 2007) têm evidenciado a potencialidade antioxidante dos compostos presentes no yacon, mostrando existir uma quantidade considerável de compostos fenólicos, como ácido clorogênico (éster de ácido caféico e ácido quínico), ácido ferúlico e ácido caféico. Além desses, foram identificados quercetina e outros dois flavonoides, tanto nas folhas como nas raízes tuberosas.

Todo esse mecanismo de ação antioxidante presente em extratos de plantas possui um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, pois, quando incorporado na alimentação humana, não conserva apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco do desenvolvimento de diversas patologias, como aterosclerose, diabetes e câncer (ANGELO et. al., 2007).

#### **2.4. Diabetes e Estresse oxidativo**

O interesse por estudos que avaliam a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio, bem como o papel dos antioxidantes na manutenção do balanço oxidativo, tem se intensificado nos últimos anos pelo possível papel dessas substâncias na fisiologia de diversas

doenças. Dentre estas, encontra-se o diabetes mellitus, uma síndrome caracterizada por anormalidades endócrino-metabólicas que tem como elemento fundamental a hiperglicemia devido à ausência completa ou relativa de insulina e/ou resistência à insulina, bem como alteração no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas (VANNUCCHI et. al., 1998; NOVELLI et al., 2005; BARREIROS et al., 2006). Devido à ausência total ou parcial de insulina, essa doença se classifica em diabetes mellitus insulino dependente (IDDM- Tipo 1), diabetes mellitus não dependente de insulina (NIDDM- Tipo 2) e diabetes gestacional relacionado a um período específico (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010). Ambos os tipos de diabetes, quando cronicamente descompensados, estão sujeitos ao aparecimento das complicações crônicas, dentre elas retinopatia e insuficiência renal, além de maiores riscos de doenças coronárias, entre outras (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010).

Entre as alterações decorrentes do diabetes e o acentuado aumento do metabolismo da glicose, a hiperglicemia está associada principalmente à formação aumentada de radicais livres. Nessas condições, por haver um desequilíbrio no balanço entre a produção acentuada de radicais e as defesas antioxidantes, ocorrerá o assim chamado estresse oxidativo, que está diretamente relacionado ao desenvolvimento e maior gravidade dessas complicações diabéticas (WAJCHENBERG et. al., 2002; NOVELLI et al., 2005; BARREIROS et al., 2006).

O equilíbrio entre agentes redutores e o sistema antioxidante é essencial. Esse sistema antioxidante pode ser agrupado em enzimáticos e não enzimáticos. Os enzimáticos são: superóxido-dismutase (SOD), catalase e glutathiona-peroxidase (GSH-Px). Os não enzimáticos são: ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), GSH, carotenoides, flavonoides e compostos fenólicos, entre outros. Portanto, quantidades adequadas de antioxidantes no meio intracelular são de grande importância para maior segurança contra os ataques dessas espécies

reativas, prevenindo o aparecimento de doenças e evitando suas complicações, principalmente no diabetes mellitus (VALKO, et al. 2007).

O controle da glicemia é imprescindível no tratamento do diabetes mellitus e a inclusão de alimentos que proporcionam uma melhora na tolerância à glicose tem sido enfatizada. Ao mesmo tempo, o yacon é usado popularmente com esse fim. Compostos como FOS e inulina, presentes nessa raiz tuberosa, têm sido relacionados a um efeito hipoglicemiante, como descrito em estudos de Zardini et al.(1991), Vilhena et al. (2000), Lachman, et al. (2003), Narai- kanayama, et al. (2007) e Santana & Cardoso, (2008).

Associado a essa condição de hiperglicemia presente no diabético, essa alteração por si só é responsável por um adicional de estresse imposto ao organismo, com possível aumento da produção de radicais livres (WAJCHENBERG, 2002; BARREIROS et al., 2006).

Diante de tal condição, é importante o equilíbrio entre o nível de estresse e a presença de substâncias bioativas contrárias à ação dos radicais livres, os chamados antioxidantes como os compostos fenólicos, presentes no yacon e a ingestão de vitaminas antioxidantes.

Dessa forma, o yacon, é um alimento que poderia contribuir no tratamento dessa patologia e no aumento de substâncias bioativas com ação antioxidante no organismo.

Assim, trabalhos que avaliam a real contribuição do yacon nesses mecanismos e a concentração desses compostos em diferentes tratamentos com a raiz tuberosa seriam esclarecedores quanto à verdadeira contribuição de suas substâncias bioativas.

### *3. Objetivo*

---

---

---



### **3.1. Objetivo Geral**

O presente estudo tem como objetivo analisar o efeito do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no controle da glicemia e do estresse oxidativo em ratos diabéticos.

### **3.2. Objetivos Específicos**

Quantificar os compostos fenólicos totais em alguns processamentos com yacon (na raiz in natura em diferentes tempos de exposição, decorticado em gelo, no branqueamento e liofilizado).

Determinar a composição centesimal do yacon.

Avaliar o efeito do yacon sobre a evolução do peso corporal de ratos normais e diabéticos.

Verificar a resposta glicêmica.

Avaliar o efeito antioxidante do yacon por biomarcadores de estresse oxidativo.

Avaliar função hepática por biomarcadores enzimáticos.

## *4. Material e Métodos*

---

---

O estudo foi realizado no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Experimental do Curso de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo) e os animais utilizados foram provenientes do Biotério da mesma faculdade. A Comissão de ética em Experimentação Animal dessa instituição aprovou essa pesquisa, recebendo o Protocolo nº140/2008.

#### **4.1. Processamentos com yacon**

Neste estudo, utilizou-se a raiz tuberosa de yacon comprada no CEAGESP, localizado na cidade de Ribeirão Preto. O yacon passou por diferentes procedimentos para que se obtivesse o tratamento que conserva a maior concentração de compostos fenólicos totais a ser usado no estudo. Antes de cada tratamento, a raiz foi cuidadosamente higienizada e, em seguida, realizada a metodologia para extração e quantificação de compostos fenólicos totais (Lin e Lai, 2006), de acordo com o item 4.2.

##### **4.1.1. *In natura***

O material vegetal obtido foi descascado, pesado e imediatamente macerado em homogeneizador de tecido, com 30 mL de etanol, até tornar-se uma mistura homogênea.

Nesse tratamento, foi analisado o yacon *in natura*, imediatamente descascado, nos tempos 0, 15 e 60 minutos em exposição à temperatura ambiente.

##### **4.1.2. Branqueamento**

As amostras de yacon foram descascadas e cortadas em pedaços cúbicos de aproximadamente 20 gramas, colocadas imediatamente em uma solução de ácido cítrico (0,5%) e ácido ascórbico (0,03%), retiradas e colocadas em água a 100°C por 10 minutos e,

em seguida, imersas em água resfriada até atingir uma temperatura final de 10°C (Pauly, 2007).

#### **4.1.3. Decorticado em Gelo**

As amostras de yacon foram descascadas imersas em gelo e cortadas na transversal em pedaços de aproximadamente 2 cm.

#### **4.1.4. Liofilizado**

Inicialmente, as amostras de yacon passaram pelo processo de branqueamento, de acordo com o item 3.1.2, e, em seguida, foram congeladas pelo contato com nitrogênio líquido e em “freezer” de temperatura ultrabaixa. A água do produto foi removida após sofrer sublimação em uma câmara de vácuo e retirada da mesma através de uma bomba. Utilizou-se o liofilizador ILSHIN.

### **4.2. Determinação de Compostos fenólicos totais**

A dosagem de fenólicos totais foi feita a partir de amostras de yacon, seguindo os processamentos previamente determinados. Retirou-se cinco gramas da amostra, que foram maceradas e colocadas em 100mL de uma solução de etanol (80%) e deixadas sob refluxo durante duas horas em aquecimento a 60°C, sob agitação.

Após ser filtrado, retirou-se 100µL da amostra, que foram diluídos com 100µL de uma solução composta de MeOH/0.3% HCl (6:4, v/v). Em seguida, foi colocada em agitação por dois minutos com 2 mL de uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 2%. Por fim, adicionou-se 100µL de uma solução com 50% do reagente Folin-Ciocalteu, e as amostras foram deixadas em

repouso, protegidas da luz durante 30 minutos. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 750nm (Lin & Lai, 2006).

Uma curva de calibração foi realizada com concentrações crescentes de ácido gálico, os resultados obtidos das análises e calculados a partir da curva de calibração foram expressos em equivalentes de ácido gálico e organizados em gráfico.

### **4.3. Análise da composição centesimal de yacon**

#### **4.3.1. Determinação de Umidade**

O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem das amostras, até peso constante, em estufa a 105 °C. (AOAC,1997). Todas as determinações foram feitas em triplicatas. E calculado segundo a AOAC, 1997.

#### **4.3.2. Determinação de Cinzas**

No método empregado (AOAC, 1997), o total de cinzas foi determinado na amostra após completa incineração em mufla a 550 °C, até a obtenção de um resíduo isento de carvão, com coloração branca ou acinzentada.

#### **4.3.3. Determinação de Proteínas**

O teor de nitrogênio total foi determinado segundo o método de Kjeldahl e o de proteína total calculado multiplicando-se o valor do nitrogênio total por 6,25 (AOAC, 1997).

#### **4.3.4. Determinação de Lipídeos**

A determinação de lipídeos foi feita pelo método de Bligh-Dyer (1959).

#### **4.3.5. Estimativa da composição em Carboidratos**

O teor de carboidratos foi determinado por diferença, subtraindo de 100% a soma dos valores obtidos nas determinações anteriores (Cinzas, Proteínas, Lipídeos e Umidade) (AOAC, 1997).

#### **4.4. Delineamento Experimental**

O estudo foi dividido em fases aguda e crônica e realizado com ratos machos adultos de 200 a 250g da linhagem Wistar. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com temperatura média de  $24 \pm 2$  °C.

Uma semana antes do início dos procedimentos, todos os animais passaram por uma semana de adaptação ao modelo experimental (alimentação e gaiolas individuais).

##### **4.4.1. Protocolo de indução a Diabetes mellitus**

A alimentação foi retirada 24 horas antes da realização da indução do diabetes, deixando somente livre acesso à água potável. O animal foi pesado no dia da indução.

Com o animal anestesiado, a droga estreptozotocina (Sigma) PM=265.22, dissolvida em tampão citrato de sódio (0,01M, pH= 4,5) na dose de 40 mg/ kg de peso corporal (previamente preparada), foi introduzida pela veia da cauda dos animais. Os animais controle receberam volume equivalente de solução salina.

Após a administração da droga, o animal ficou por mais de uma hora e trinta minutos sem alimentação, tendo livre acesso somente à água potável.

O período de adaptação ao Diabetes mellitus e a sua comprovação foram verificados dentro de seis dias, sendo considerados diabéticos apenas aqueles animais que apresentaram glicemia em jejum igual ou superior a 250 mg%.

#### 4.4.2. Administração da solução de yacon

Cada animal recebeu 4 mL de solução de yacon 30% m/v, totalizando 1,2 g de yacon liofilizado por dia (Genta et al., 2005).

Essa mesma quantidade foi oferecida para as diferentes fases do estudo: aguda e crônica.

#### 4.4.3. Fase Aguda

**Grupo controle Água (CA):** animais não diabéticos que receberam água (n = 10);

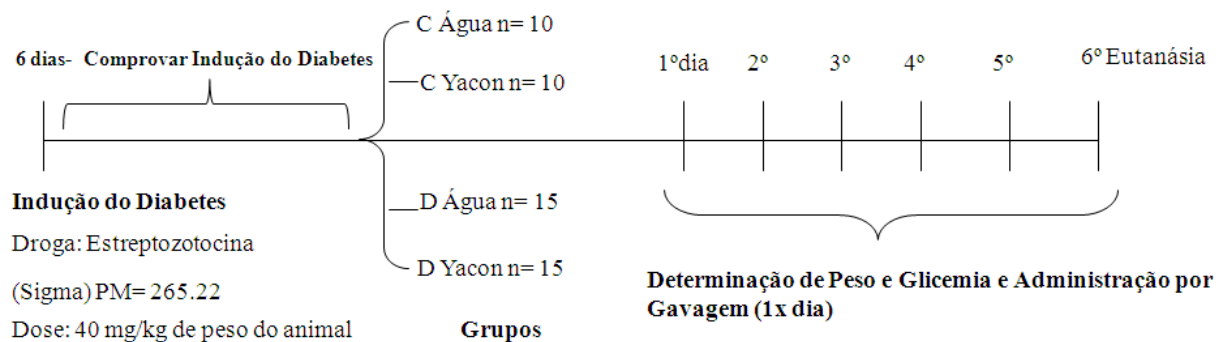
**Grupo controle Yacon (CY):** animais não diabéticos que receberam solução de yacon (n = 10);

**Grupo diabético Água (DA):** animais diabéticos que receberam água (n = 15);

**Grupo diabético Yacon (DY):** animais diabéticos que receberam solução de yacon (n=15).

A fase experimental aguda teve a duração de seis dias e os animais receberam solução de yacon ou água por gavagem uma vez ao dia durante todo o estudo. Os animais de todos os grupos foram tratados com uma dieta padrão (AIN-93). O acesso à água e ao alimento foi *ad libitum*.

O peso e a glicemia dos animais foram monitorados todos os dias, antes da administração da solução, respeitando sempre os mesmos horários.



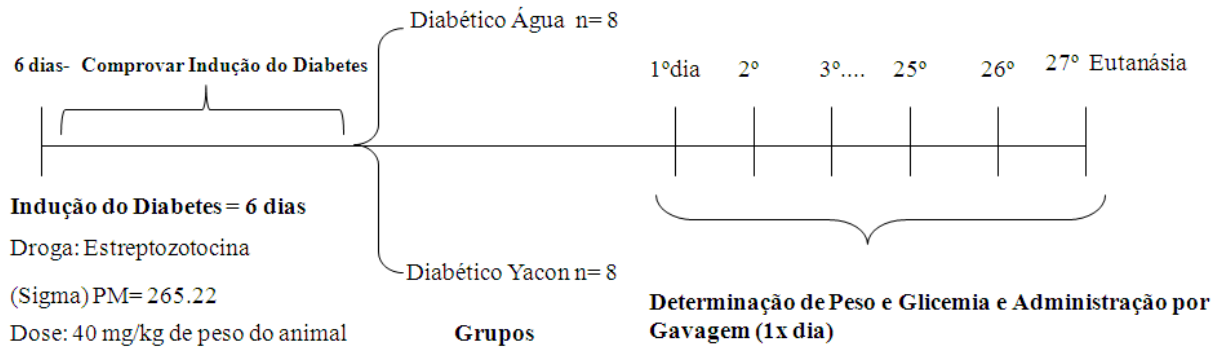
**Figura 3.** Delineamento experimental Fase aguda.

#### 4.4.4. Fase Crônica

**Grupo diabético Água (DA):** animais diabéticos que receberam água (n = 8);

**Grupo diabético Yacon (DY):** animais diabéticos que receberam solução de yacon (n=8).

A fase experimental Crônica teve a duração de 27 dias e os animais receberam solução de yacon ou água por gavagem uma vez ao dia durante todo o estudo. Os animais de todos os grupos foram tratados com uma dieta padrão (AIN-93). O acesso à água foi *ad libitum* e a ingestão alimentar foi através da dieta de biotério Nuvilab CR1 (Nutival Nutrientes, LTDA-Colombo/PR), sendo calculada a ingestão dos animais.



**Figura 4.** Delineamento experimental Fase crônica.

#### 4.4.5. Eutanásia e coleta de material biológico

Os animais foram eutanasiados por decapitação, tendo coletados o sangue e o fígado. O sangue foi prontamente centrifugado a 3500 rpm por dez minutos para obtenção do soro, os quais foram estocados à temperatura de  $-40^{\circ}\text{C}$  para análises bioquímicas. O fígado, depois de retirado, foi pesado, prontamente congelado em nitrogênio líquido e estocado a  $-70^{\circ}\text{C}$  para análises posteriores.

#### 4.5. Análises bioquímicas



#### **4.5.1. Glicemia**

A análise da glicemia foi realizada por meio de coleta de uma amostra de sangue da cauda do animal e medida pelo aparelho Accu-Check Advantage II com a utilização da tira teste.

#### **4.5.2. Hemoglobina glicada**

Os níveis de hemoglobina glicada foram determinados por Kit LABTEST<sup>®</sup> somente no fase experimental crônico.

### **4.6. Metodologia de Análise do Estresse Oxidativo**

Foram quantificados os marcadores de estresse oxidativo indicativos de peroxidação lipídica da seguinte forma: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e glutathione redutase (GSH) em amostras do fígado e soro dos animais. Todos esses métodos já foram padronizados no Laboratório de Bromatologia do Curso de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, (Universidade de São Paulo). Para cada análise foi realizada uma curva de calibração para posterior concentração.

#### **4.6.1. Determinação de Substâncias reativas do Ácido Tiobarbitúrico**

Para os TBARS, o método de análise utilizado, segundo o proposto por Buege & Aust (1978), consiste na reação do malonaldeído (MDA) com o ácido tiobarbitúrico em meio ácido e sobre aquecimento por 30 minutos a 100°C em banho-maria (Modelo 100, FANEM, Guarulhos, SP, Brasil). Essa reação produz um composto de coloração amarela que é lido em espectrofotômetro (UV-Vis Mod Q98U Quimis<sup>®</sup>, Diadema, SP, Brasil).

**a. Técnica para o Tecido**

- Para 100 mg de Tecido adicionar, 1 ml de KCl 1,15%;
- Homogeneizar em um Potter;
- Adicionar 2 ml da solução de TBA-TCA-HCl;
- Aquecer por 15 minutos em banho de água fervente;
- Esfriar em água;
- Centrifugar por dez minutos a 3000 rpm à temperatura ambiente (RT);
- Utilizar 250µl do sobrenadante para leitura a 535 nm.

**b. Técnica para o Soro:**

- Misturar 0,5 ml de soro a 1,0 ml da solução de TBA-TCA-HCl;
- Aquecer por 15 minutos em água fervente;
- Esfriar em água;
- Centrifugar por dez minutos 3000 rpm a RT;
- Utilizar 250µl do sobrenadante para leitura a 535 nm.

**4.6.2. Determinação de Glutathiona reduzida**

A quantificação de glutathiona reduzida (GSH) e dos tióis totais foi realizada por método colorimétrico, que consiste na reação do grupo sulfidril com 5,5'-ditiobis (2-ácido nitrobenzóico) (DTNB), leitura em espectrofotômetro (UV-Vis Mod Q98U Quimis®, Diadema, SP, Brasil) no comprimento de onda 412 nm utilizado o método descrito por Sedlack e Lindsay (1968).

**a. Técnica para Tecido e Soro:**

- Em gelo, adicionar 2 ml de EDTA 0,02 M a 100 mg de tecido ou Soro. Usar tubos plásticos, que devem estar no gelo;

- Macerar no Potter;
- Adicionar mais 2 ml de EDTA 0,02 M;
- Retirar 2,5 ml do homogenato e transferi-lo para novo tubo;
- Adicionar 2 ml de água milli Q;
- 0,5 ml de TCA 50%;
- Aguardar 15 minutos e agitar, na metade desse tempo, antes de centrifugar;
- Centrifugar a 4000 rpm x 15 minutos à temperatura ambiente (RT);
- Transferir 1 ml do sobrenadante para tubo de vidro menor;
- Adicionar 2 ml de TRIS –HCl 0,4 M pH 8,9 e 50 µl de DTNB a cada tubo;
- Aguardar cinco minutos;
- Ler a 412 nm contra um branco composto por: 1 ml de EDTA 0,02 M, 2 ml de de TRIS –HCl 0,4 M pH 8,9 e 50 µl de DTNB.

#### **4.7. Metodologia de Análise de Proteínas totais**

As dosagens de proteínas totais no soro ou nos tecidos foram realizadas por meio de Kit comercial através do método de Biureto, utilizando-se o Kit LABTEST®.

#### **4.8. Metodologia de Análise de Antioxidantes**

Foram dosados perfis de vitaminas A e E sanguíneas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com uma coluna tipo C-18 (Shimpack CLC-ODS 4,6 x 25 cm, Shimadzu Co., Kyoto, Japan), pré-coluna (4 mm x 1 cm e fluxo de 2,0 mL/min) e detector UV/Visível com leitura no comprimento de onda 292 nm. (Arnaud et al., 1991). Esse

método de análise foi padronizado no Laboratório de Bromatologia do Curso de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo).

a. Técnica para Soro e Tecido:

- Adicionar 200  $\mu$ L de amostra de soro ou 200 mg de amostra de Tecido;
- Adicionar 100  $\mu$ L de etanol 100% com BHT;
- Adicionar 100  $\mu$ L da solução de Padrão interno;
- Agitar em vortex por cinco segundos;
- Extrair com a adição de 400  $\mu$ L de hexano;
- Agitar por dois minutos;
- Centrifugar a 700 rpm x cinco minutos;
- Retirar para outro tubo 200  $\mu$ L da fase hexânica.
- Secar com fluxo de nitrogênio e ressuspender em 200  $\mu$ L de fase móvel.

Para a quantificação, utiliza-se a razão entre a área do analito (vitamina) e a área do padrão interno.

#### **4.9. Metodologia de Análise de Enzimas hepáticas**

Para verificar o dano hepático, foram dosadas as enzimas  $\gamma$ -glutamyl transferase (Gama GT), Fosfatase alcalina, Transaminase glutâmico-oxalacética - TGO e Transaminase glutâmico-pirúvica TGP utilizando-se o kit comercial (Labtest Diagnóstica ®, Lagoa Santa, MG, Brasil).

## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados em valores de média  $\pm$  desvio padrão para análise de variância (ANOVA). Para a diferença entre os grupos, foi utilizado o pós-teste de Duncan. Em todos os casos, o nível de significância foi pré-fixado para  $p \leq 0,05$ . Para todas as análises, foi utilizado o programa PROC GLM do software SAS versão 9.

## *6. Resultados*

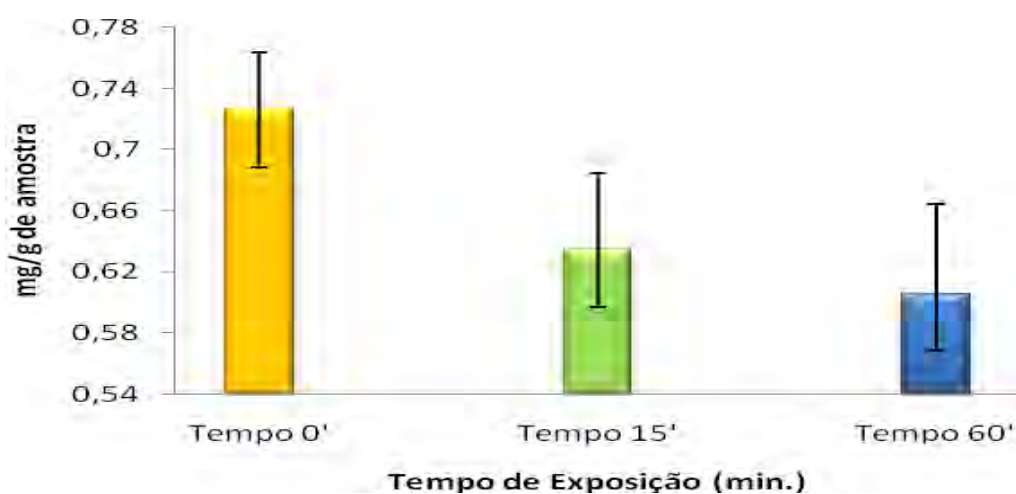
---

---

---

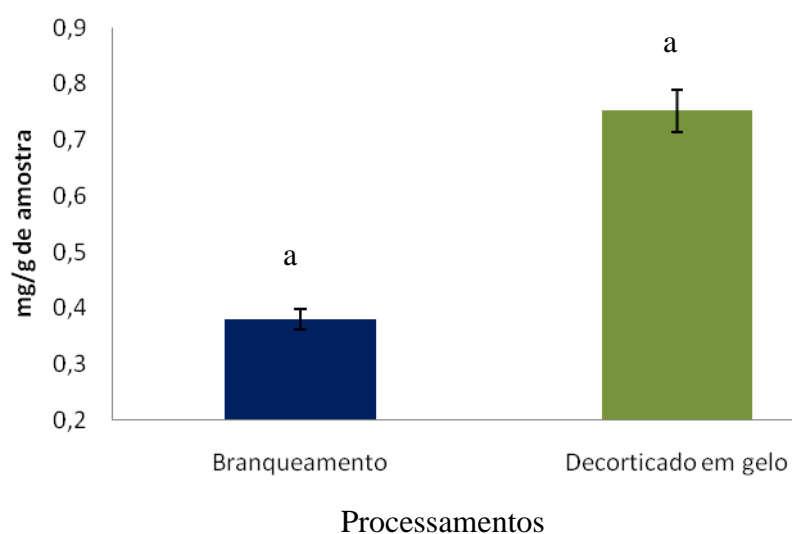
### 6.1. Processamento com yacon

Nos diferentes tempos de exposição (0, 15 e 60 minutos) da raiz em temperatura ambiente, foram encontrados os respectivos valores de fenólicos:  $0,726 \pm 0,03$ ;  $0,634 \pm 0,04$  e  $0,605 \pm 0,05$  mg/g de amostra (Figura 5). Não houve diferença significativa na concentração de fenólicos nos diferentes tempos de exposição da raiz.



**Figura 5.** Representação de fenólicos totais (mg/g de amostra) nos diferentes tempos de exposição do yacon

Em relação aos diferentes processamentos realizados com a raiz, foram obtidos os valores de  $0,379 \pm 0,017$  mg de fenólicos/g de amostra no branqueamento e  $0,751 \pm 0,03$  mg/g no decorticado em gelo. A Figura 6 não demonstra uma diferença significativa nos processamentos.



**Figura 6.** Representação de Fenólicos totais (mg/g de amostra) nos diferentes processamentos com yacon (Branqueamento e Decorticado) Letras diferentes  $p < 0,05$ .

O processamento liofilizado apresentou  $7,05 \pm 0,31$  mg de fenólicos /g de amostra, sendo este o processamento com a maior concentração de fenólicos totais.

## 6.2. Composição centesimal de yacon

A Tabela 1 foi construída a partir das determinações de umidade, cinzas, gordura e proteína (AOAC, 1997).

**Tabela 1.** Composição química (%) da raiz tuberosa de yacon liofilizado.

Propriedades	Valores
Umidade (%)	$10,23 \pm 0,001$
Cinzas (%)	$4,83 \pm 0,03$
Gordura (%)	$0,96 \pm 0,55$
Proteína (%)	$5,69 \pm 0,27$
Carboidrato (%)	$78,29 \pm 0,98$



### 6.3. Caracterização do modelo experimental Agudo

#### 6.3.1. Crescimento dos animais

As médias dos pesos dos animais dos diferentes grupos são  $284 \pm 24,2$ ,  $280 \pm 34,4$ ,  $241 \pm 26,0$  e  $265 \pm 22,8$  g para, respectivamente, os grupos CA, CY, DY e DA.

Os valores médios e desvio padrão de peso inicial e final dos grupos experimentais, bem como o ganho de peso dos animais, estão indicados na Tabela 2.

Verifica-se que apenas nos grupos CA e DA houve alteração significativa no peso do início ao final do experimento. No momento inicial, os grupos controles não apresentaram diferença de peso entre eles, porém, em relação ao grupo DY, nota-se uma diferença estatística, sendo este grupo com menor média de peso. Em relação ao ganho de peso, os animais do grupo CY obtiveram o maior ganho de peso e os animais do grupo DY o menor ganho. Portanto, verifica-se entre esses grupos diferença estatísticas.

**Tabela 2.** Média e desvio padrão dos Pesos (g) dos animais.

Grupos	Inicial	Final	Ganho de Peso (g)
CA	$266 \pm 20,5^{aA}$	$300 \pm 24,7^{aB}$	$39,1 \pm 12,3^{ab}$
CY	$256 \pm 27,1^{ab}$	$298 \pm 45,1^a$	$49,2 \pm 13,9^a$
DY	$236 \pm 19,8^b$	$258 \pm 31,1^b$	$27,5 \pm 18,1^b$
DA	$250 \pm 13,3^{abA}$	$282 \pm 23,2^{abB}$	$37,5 \pm 12,5^{ab}$

Letras minúscula: diferença na mesma coluna; letras maiúsculas: diferença na mesma linha -  $p < 0,05$ : comparação entre os grupos; CA= Controle Água; CY= Controle Yacon; DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.

#### 6.3.2. Avaliação da glicemia

Na avaliação da glicemia, verifica-se que, para os grupos controle, não houve diferença significativa. Nota-se que o grupo diabético que recebeu solução de yacon apresentou valores glicêmicos significativamente menores quando comparado ao grupo

diabético que recebeu água. Entretanto, quando avaliado os valores médios de glicemia no início e final do experimento não tiveram diferenças entre os grupos (Tabela 3).

**Tabela 3.** Média e Desvio padrão da Glicemia (mg/dL) dos animais.

Grupos	Inicial	Final	Média
CA	99,5 ± 11,7 <sup>a</sup>	102,5 ± 9,2 <sup>a</sup>	103,1 ± 10,1 <sup>a</sup>
CY	93 ± 7,0 <sup>a</sup>	95,2 ± 8,9 <sup>a</sup>	106,8 ± 49,4 <sup>a</sup>
DY	402,5 ± 43,2 <sup>b</sup>	472,4 ± 59,8 <sup>b</sup>	449,0 ± 75,7 <sup>b</sup>
DA	437,9 ± 79,8 <sup>b</sup>	502 ± 72,2 <sup>b</sup>	478,8 ± 75,2 <sup>c</sup>

Letras diferentes na mesma coluna: p<0,05, comparado entre os grupos. CA= Controle Água; CY= Controle Yacon; DY= Diabético Yacon; DA= Diabético Água.

### 6.3.3. Avaliação da peroxidação lipídica

Os dados são apresentados na Tabela 4. Verificou-se maior quantidade de SRATB total no grupo DA tanto nas dosagens hepáticas como nas séricas (24,62±8,5; 55,38±34,63 nmol/ g de proteína), respectivamente. Porém, não houve diferença estatística entre os grupos tratados, recebendo diferentes soluções. Em relação aos grupos controles, nota-se ausência de diferença estatística.

**Tabela 4.** Médias de valores de peroxidação lipídica sérica e hepática observadas através da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

	CA	CY	DY	DA
SRATB totais hepáticas (nmol/g de proteína)	0,39±0,21 <sup>a</sup>	0,20±0,05 <sup>a</sup>	19,25±5,03 <sup>b</sup>	24,62±8,5 <sup>b</sup>
SRATB totais séricas (nmol/g de proteína)	7,73±3,29 <sup>a</sup>	10,88±2,45 <sup>a</sup>	41,68±14,65 <sup>b</sup>	55,38±34,63 <sup>b</sup>

Resultados expressos em média ± DP. <sup>a,b</sup> Valores médios na mesma linha com letras divergentes foram significativamente diferentes (p<0,05). SRATB – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; CA= Controle Água; CY= Controle Yacon; DY= Diabético Yacon; DA= Diabético Água.

### 6.3.4. Quantificação de componentes do sistema antioxidante

Na Tabela 5 estão apresentados os valores dos parâmetros do sistema antioxidante. O grupo DA apresentou menor GSH hepático e sérico, com diferenças estatísticas em relação

aos grupos controles (CA e CY), porém, sem diferença em relação ao grupo que recebeu administração de yacon (DY).

O grupo CA apresentou valores superiores de Vitamina E sérica, sendo essa diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos CY, DY e DA. O mesmo ocorreu em relação às dosagens de Vitamina A sérica. Porém, nas dosagens de Vitamina A hepática, o grupo CA apresentou valores inferiores e estatisticamente diferentes em relação aos demais grupos e o grupo CY mostrou-se significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) dos grupos CA e DA.

**Tabela 5.** Valores médios de glutatona reduzida (sérica e hepática) e vitamina E e A séricas e hepáticas como indicadores do sistema antioxidante.

	CA	CY	DY	DA
GSH hepática (nmol/g de proteína)	6,22±3,62 <sup>a</sup>	6,72±2,51 <sup>a</sup>	2,84±0,75 <sup>b</sup>	2,72±0,73 <sup>b</sup>
GSH sérico (nmol/mg de proteína)	2,34±0,86 <sup>a</sup>	2,27±0,8 <sup>a</sup>	1,05±0,29 <sup>b</sup>	1,00±0,39 <sup>b</sup>
Vitamina E hepática (nmol/g de tecido)	183,03±52,59 <sup>a</sup>	161,56±63,42 <sup>a</sup>	114,35±37,24 <sup>b</sup>	79,13±60,2 <sup>b</sup>
Vitamina E sérica (µmol/L)	31,25±15,28 <sup>a</sup>	21,54±3,23 <sup>b</sup>	23,2±6,12 <sup>b</sup>	22,76±6,17 <sup>b</sup>
Vitamina A hepática (nmol/g de tecido)	681,7±203,01 <sup>a</sup>	1038,53±356,04 <sup>b</sup>	1301,49±330,07 <sup>bc</sup>	1406,43±327,3 <sup>c</sup>
Vitamina A sérica (µmol/L)	9,00±3,78 <sup>a</sup>	5,77±0,75 <sup>b</sup>	6,00±1,79 <sup>b</sup>	5,45±1,19 <sup>b</sup>

Resultados expressos em média ± DP <sup>a,b,c</sup>. Valores médios na mesma linha com letras divergentes foram significativamente diferentes (p<0,05). GSH – glutatona reduzida; CA= Controle Água; CY= Controle Yacon; DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.

### 6.3.5. Análise do dano hepático

O dano hepático avaliado pelas enzimas TGO, TGP, Fal e Gama GT está representado na Tabela 6. Nota-se que houve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da TGO no grupo DA ( $32,03 \pm 2,48$  UI) em relação aos demais grupos (CA, CY e DY, respectivamente  $23,59 \pm 1,6$ ,  $23,92 \pm 1,32$  e  $30,14 \pm 2,4$ ). Com respeito à TGP, o grupo DA também apresentou valores estatisticamente diferentes comparados aos grupos DY, CY e CA. O Grupo CY tem maior média de Fal, sendo diferente estatisticamente apenas do grupo DA. A enzima Gama GT apresentou diferença apenas entre os grupos controle em relação aos diabéticos, porém, sem alterações entre as soluções administradas.

**Tabela 6.** Concentrações médias séricas de transaminase oxalacética, transaminase pirúvica, fosfatase alcalina e  $\gamma$ -glutamil transferase apresentadas pelos grupos experimentais.

	CA	CY	DY	DA
TGO UI	$23,59 \pm 1,6^a$	$23,92 \pm 1,32^a$	$30,14 \pm 2,41^b$	$32,03 \pm 2,48^c$
TGP UI	$18,52 \pm 1,01^a$	$19,01 \pm 1,2^a$	$40,53 \pm 1,12^b$	$27,83 \pm 4,0^c$
Fal U/L	$110,31 \pm 27,12^{ab}$	$123,04 \pm 37,65^a$	$103,02 \pm 27,19^{ab}$	$80,54 \pm 38,75^b$
Gama GT U/L	$132,07 \pm 53,56^a$	$153,53 \pm 81,28^a$	$226,59 \pm 27,18^b$	$196,48 \pm 14,59^b$

Resultados expressos em média  $\pm$  DP<sup>ab</sup>. Valores médios na mesma linha com letras divergentes foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). CA= Controle Água; CY= Controle Yacon; DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.

## 6.4. Caracterização do modelo experimental crônico

### 6.4.1. Crescimento dos animais

Ao avaliar os grupos no momento inicial e final do estudo, notou-se que houve uma diferença significativa no peso do grupo DA. Considerando apenas o momento inicial, observa-se que os grupos são estatisticamente diferentes. O mesmo ocorre quando avaliado o momento final do experimento. Em relação ao ganho de peso, houve uma diferença significativa, sendo o grupo DY com menor ganho de peso. Os dados estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Média e desvio padrão dos Pesos (g) dos animais.

Grupos	Inicial	Final	Ganho de Peso
DY	251 ± 17,7 <sup>a</sup>	333 ± 59,8 <sup>a</sup>	86,2 ± 16,9 <sup>a</sup>
DA	229 ± 18,2 <sup>bA</sup>	333 ± 50,3 <sup>bB</sup>	119,6 ± 21,7 <sup>b</sup>

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha:  $p < 0,05$  comparado entre os grupos. DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.

#### 6.4.2. Avaliação da glicemia

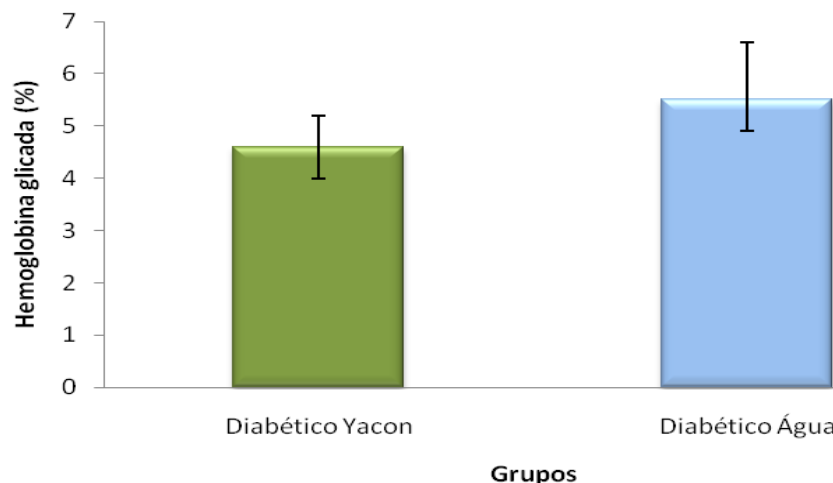
Verifica-se uma diferença nos valores médios de glicemia dos grupos de estudo, sendo significativamente menores no grupo DY 381,3±159,3 mg/dL em relação ao grupo DA 442,9±141,5 mg/dL. Porém, quando comparados os valores médios de glicemia no início e no final do experimento, observa-se que não houve diferenças entre os grupos, como demonstra a Tabela 8.

**Tabela 8.** Média e Desvio padrão da Glicemia (mg/dL) dos animais.

Grupos	Inicial	Final	Média por grupo
DY	420,12 ± 122,29	418,25 ± 167,47	381,3 ± 159,3 <sup>a</sup>
DA	371,87 ± 129,79	449,69 ± 128,0	442,9 ± 141,5 <sup>b</sup>

Letras diferentes na mesma coluna:  $p < 0,05$  comparado entre os grupos. DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.

No estudo crônico, foram avaliados os níveis de hemoglobina glicada e notou-se que não apresentaram diferença significativa entre os grupos em estudo; porém, obteve-se um valor de  $p = 0,055$ , ilustrados na Figura 7.

**Figura 7.** Representação dos valores médios e desvio padrão de Hemoglobina glicada.

### 6.4.3. Consumo de dieta

O grupo DY apresentou uma ingestão alimentar menor quando comparado ao grupo DA. Essa diferença foi considerada significativa, com valores médios de ingestão de  $36,6 \pm 6,1$  e  $40,2 \pm 7,9$ g, respectivamente.

### 6.4.4. Avaliação da peroxidação lipídica

A quantidade de SRATB total hepática e sérica foi superior no grupo DA; porém, não apresentou diferenças estatísticas significantes. Os dados de SRATB são apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Médias de valores de peroxidação lipídica sérica e hepática observadas através da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

	DY	DA
SRATB totais hepáticas (nmol/g de proteína)	$21,39 \pm 7,03$	$27,85 \pm 7,12$
SRATB totais séricas (nmol/g de proteína)	$41,01 \pm 8,94$	$49,00 \pm 6,01$

Resultados expressos em média  $\pm$  DP. Valores médios na mesma linha com letras divergentes foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). SRATB – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.

### 6.4.5. Quantificação de componentes do sistema antioxidante

O grupo DA apresentou valores superiores de GSH sérico, Vitamina A e E hepática, sendo estaticamente significativa. Os demais parâmetros de avaliação do sistema antioxidante não apresentaram diferenças entre os grupos. Os valores estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Valores médios de glutatona reduzida (sérica e hepática) e vitaminas E e A séricas e hepáticas como indicadores do sistema antioxidante.

	DY	DA
GSH hepática (nmol/g de proteína)	2,56 ± 0,85	2,51 ± 1,04
GSH sérico (nmol/ mg de proteína)	0,96 ± 0,33 <sup>a</sup>	1,63 ± 0,49 <sup>b</sup>
Vitamina E hepática (nmol/g de tecido)	177,34 ± 24,01 <sup>a</sup>	524,99 ± 367,82 <sup>b</sup>
Vitamina E sérica (µmol/L)	22,84 ± 6,93	23,92 ± 5,99
Vitamina A hepática (nmol/g de tecido)	714,09 ± 194,2 <sup>a</sup>	1302,55 ± 565,1 <sup>b</sup>
Vitamina A sérica (µmol/L)	5,51 ± 1,03	5,92 ± 1,06

Resultados expressos em média ± DP <sup>a,b</sup>. Valores médios na mesma linha com letras divergentes foram significativamente diferentes (p<0,05). GSH – glutatona reduzida; DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.

#### 6.4.6. Análise do dano hepático

Dentre as enzimas hepáticas, a Fosfatase alcalina foi a única que apresentou alterações quando comparada aos dois grupos deste estudo. O grupo DA demonstrou valores superiores e apresentou diferença estatisticamente significativa, observada na Tabela 11.

**Tabela 11.** Concentrações médias séricas de transaminase oxalacética, transaminase pirúvica, fosfatase alcalina e  $\gamma$ -glutamil tranferase apresentadas pelos grupos experimentais.

	DY	DA
TGO UI	28,99 ± 1,4	28,37 ± 1,79
TGP UI	39,18 ± 2,61	41,18 ± 1,92
Fal U/L	94,74 ± 26,75 <sup>a</sup>	144,41 ± 39,75 <sup>b</sup>
Gama GT U/L	256,87 ± 36,46	241,72 ± 33,64

Resultados expressos em média ± DP <sup>a,b</sup>. Valores médios na mesma linha com letras divergentes foram significativamente diferentes (p<0,05). DY= Diabético Yacon e DA= Diabético Água.



## *7. Discussão*

---

---

---

A concentração de fenólicos totais nas amostras nos diferentes tempos de exposição demonstrou uma correlação com o tempo de exposição e a concentração de fenólicos totais: quanto maior o tempo de exposição à temperatura ambiente, maior o processo de oxidação e, conseqüentemente, menor a concentração de fenólicos totais. Esse processo ocorre porque se destacam duas enzimas oxidoredutases, a peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO), cuja principal relação com as alterações pós-colheita diz respeito a modificações indesejáveis na textura e sabor dos vegetais. Quanto à susceptibilidade das plantas aos patógenos e choques mecânicos, estando envolvidas nas reações de escurecimento de vegetais crus e processados na perda de qualidade nutricional e na completa deterioração pós-colheita desses alimentos, revela-se esta uma relação entre a atividade das enzimas e a qualidade do produto (KAMIMURA, 2006).

Neste estudo, os processamentos realizados com a raiz de yacon tiveram como objetivo promover a inativação das enzimas POD e PPO. Para isso, foram utilizados diferentes processamentos, fatores capazes de alterar a atividade dessas enzimas e, conseqüentemente, a velocidade das reações por elas catalisadas. O tratamento que apresentou maior concentração de fenólicos totais foi o liofilizado. No processo prévio à liofilização, as raízes foram mergulhadas em uma solução de ácido cítrico e ácido ascórbico, sofrendo o processo de branqueamento de forma a promover a inativação. Além desses, existem outros métodos de inativação das enzimas, como alteração do pH, processos de alteração de temperatura dos alimentos e utilização de aditivos, entre outros (BARCELÓ et al., 2004; TAKAHAMA et al., 2000).

A capacidade dessas enzimas de oxidar compostos, como os fenóis, tem sido bastante discutida, já que implica na capacidade da enzima em atuar no fenômeno de escurecimento dos alimentos de origem vegetal. (BARCELÓ et al., 2004; TAKAHAMA et al., 2000). Dois mecanismos podem ser implicados no envolvimento da POD e PPO no escurecimento

enzimático. Primeiramente, a geração de peróxido de hidrogênio durante a oxidação de alguns compostos fenólicos, o uso desses em oxidações subsequentes (atuando no “turnover” desses compostos) e o uso de quinonas como substratos da enzima contribuem na formação das melaninas (BARCELÓ et al., 2004; O’BRIEN, 2000; ROBINSON et al., 1991; TAKAHAMA et al., 2000; VAMOS-VIGYAZO, 1981a; 1982b; VEITCH, 2004). De uma maneira mais simplificada, as quinonas, formadas pela atividade enzimática da polifenoloxidase, podem sofrer uma série de reações não enzimáticas de polimerização, resultando em compostos insolúveis escuros ou avermelhados, como as melaninas (BARCELÓ et al., 2004; RICHARD-FORGET et al., 1997).

Segundo estudo realizado por NEVES & SILVA (2007) sobre polifenoloxidase das raízes de yacon, conclui-se que a atividade ótima da enzima encontra-se no pH em torno de 6,0 a 7,0, a temperatura ótima é próxima a 30°C e, quando avaliados os efeitos de inibidores da atividade da PPO utilizando-se concentrações de diferentes inibidores, observou-se que os ácidos oxálico e benzoico mostraram uma inibição relativamente baixa quando comparados ao reagente tióis ditioeritritol (DTE), ao metabissulfito de sódio e à cisteína, que foram mais eficazes. O ácido ascórbico apresentou uma eficiente inibição em relação aos demais substratos. Em um estudo semelhante, realizado por KAMIMURA (2006) - que isolou, purificou e caracterizou a peroxidase de yacon - os compostos DTE foram eficientes inibidores enzimáticos; porém, sua aplicação em alimentos pode não ser permitida devido ao seu potencial tóxico. Em relação aos valores de pH e temperatura ótimos da POD, foram encontrados 5,5 e 35°C, respectivamente.

Dessa forma, utilizou-se neste estudo o ácido ascórbico e o ácido cítrico como inibidores de escurecimento enzimático, seguido do processo de branqueamento.

O ácido ascórbico tem sido usado há mais de 50 anos como inibidor de escurecimento enzimático em alimentos de origem vegetal e, muitas vezes, combinado com ácidos

orgânicos, como ácido cítrico (SAPERS et al., 1993). Tal papel se dá principalmente pela redução das quinonas em difenóis, evitando a formação de melaninas, como descrito anteriormente, mas também pode atuar na inibição enzimática como acidulante (ASHIE et al., 1996; SAPERS et al., 1993). O próprio ácido cítrico é amplamente empregado como acidulante, mas é capaz de atuar como um composto quelante (SAPERS et al., 1993). Tais compostos foram testados como inibidores de escurecimento de PPO e POD de yacon, sendo encontrado por Neves & Silva (2007) e Kamimura (2007) resultados significativos.

O tratamento liofilizado obteve melhores resultados nas concentrações de fenólicos totais, garantindo que não houvesse perdas de outros compostos presentes no alimento, além de atenderem a fatores desejáveis, como ausência de efeitos na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento (compatibilidade com o alimento e possível aplicação, estabilidade nas condições de processos e armazenamento) (RAMALHO et al., 2005).

Na composição centesimal realizada na raiz liofilizada utilizada neste estudo, foram obtidos valores de umidade de 10,23%. As raízes foram mantidas em recipientes fechadas e em locais secos; porém, houve uma reidratação, devido à própria característica química da raiz (NIETO, 1991; QUINTEROS, 2000).

O teor de cinzas encontrado foi de 4,83%, superior ao encontrado por Quinteros (2000) 0,42% e por Capito (2001) 3,72%. O teor de lipídios da amostra foi de 0,96%, sendo que os valores encontrados no estudo de Quinteros (2000) e Capito (2001) foram 0,03% e 0,75%, respectivamente.

O teor médio de proteínas neste estudo foi de 5,69%, superior quando comparado ao das análises realizadas no estudo de Quinteros (2000) e Capito (2001), que obtiveram os valores de 0,71% e 2,95%, respectivamente.

O teor de carboidratos totais na amostra, calculado por diferença, encontra-se próximo aos valores encontrados pelo National Research Council (1989), que foi de 78,29% (considerando a soma dos carboidratos totais).

Em termos gerais, os carboidratos representam cerca de 90% do peso seco das raízes recém-colhidas, dos quais 70% são FOS (ASAMI et al., 1991). As raízes tuberosas de yacon apresentam um elevado conteúdo de açúcares solúveis e frutanos de baixo grau de polimerização (DP 3 a 10). Os demais carboidratos são sacarose e glicose (ASAMI et al., 1991; NIETO, 1991).

Destacam-se, neste alimento, quantidades significativas de proteínas, superiores a outros vegetais, como Chicória (1,3%) e Alcachofra de Jerusalém (1,72%). Segundo Asami et al. (1991), 21 compostos nitrogenados livres identificados no yacon, sendo a asparagina, glutamina, prolina e arginina os de maior concentração, apresentam nesta análise um alto teor de carboidratos e de conteúdo de cálcio e potássio e relativamente baixos níveis de outras vitaminas e minerais, mas que não foram determinados neste estudo (ASAMI et al, 1991).

Os dados da composição centesimal observados neste estudo não excluem a possibilidade de se obter uma variação significativa nas análises de amostras da raiz coletadas em outras regiões do país e em outra época do ano. Também existe a possibilidade de os princípios ativos estarem mais concentrados em outras partes da planta segundo Quinteros (2000) e Capito (2001).

No estudo agudo, em relação ao crescimento dos animais, notou-se que os animais do grupo controle que receberam água e os animais diabéticos que receberam água ao final do período de seis dias não apresentaram diferenças estatísticas. Porém, no grupo diabético que recebeu solução de yacon, os animais apresentaram médias de pesos finais inferiores e um ganho de peso menor em relação aos demais grupos, sendo estaticamente diferentes do grupo controle que recebeu solução de yacon. No estudo crônico, ocorreu o mesmo comportamento,

sendo o grupo diabético que recebeu yacon o que apresentou menor ganho. O ganho de peso menor entre os grupos diabéticos em relação ao controle pode ser explicado a partir do próprio processo fisiológico do diabetes, que envolve inicialmente sintomas como hiperglicemia, glicosúria, sede intensa, poliúria e uma perda de peso justificada pelo processo catabólico, que envolve essa patologia (MEIGS et al, 2004). Entretanto, essa não é a única explicação, uma vez que, quando avaliado o menor ganho de peso dos animais diabéticos que receberam solução de yacon em relação aos animais diabéticos controle, nota-se que existe a influência dos compostos presentes na raiz, os frutooligossacarídeos, em que as unidades de frutossil são ligadas na posição  $\beta(2\rightarrow1)$  da sacarose, o que os distingue de outros oligômeros (YUN, 1996). É esse tipo de ligação que lhe confere a resistência à digestão ou hidrólise digestiva.

Portanto, apresentam efeito semelhante à fibra alimentar, chegam quase que integralmente ao cólon, são fermentadas e produzem ácidos graxos de cadeia curta como o acetat, butirato e propionato, sendo que estes apresentam efeito direto sobre o metabolismo de carboidratos, são substratos para a gliconeogênese, além de auxiliar na melhora da curva glicêmica e na glicemia pós-prandial em indivíduos saudáveis, mas principalmente em diabéticos, atua desta forma no controle glicêmico e diretamente na sensação de saciedade (SILVA, 2007).

Julga-se que esses FOS tenham um pequeno efeito sobre o peso fecal, o que, por sua vez, poderia aumentar o peso e o volume das fezes e se traduz também por uma sensação maior de saciedade e subsequente redução da ingestão (MÁRQUEZ, 2001).

Estudos de Aybar et al. (2000), que administraram chá da folha de yacon, e estudos de Genta et al. (2005), que administraram a raiz dessa planta na forma de farinha como suplemento, além de estudos de Baroni et al (2008), que administraram um extrato cru das folhas de yacon, corroboram com resultados de menor ganho de peso nos animais dos grupos

diabéticos que receberam a raiz nas diferentes formas de administração em relação aos animais dos grupos controle. Entretanto, o período de experimento (agudo ou crônico) não interferiu na redução do ganho de peso; o mesmo comportamento foi observado em um estudo de seis dias e no de 27 dias, o que também correspondem aos resultados observados nos estudos citados acima, que compreendem estudos de seis dias a estudos de quatro meses.

Em relação à característica química apresentada pela raiz, justifica-se o menor consumo de dieta pelo grupo de animais diabéticos que receberam yacon em relação ao grupo diabético que recebeu água, observados no estudo crônico. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo realizado por Geyer et al. (2008) quando avaliado o tempo de trânsito intestinal em indivíduos saudáveis, que consumiam 20 grs de um xarope de yacon, em relação aos indivíduos que consumiam 20 grs de um placebo. Nota-se que os voluntários que consumiram o yacon apresentaram menor peso, tendência à aceleração do trânsito intestinal e uma consistência das fezes mais macias, além de apresentarem maior saciedade por um tempo prolongado após o consumo do xarope à base de yacon.

Em relação aos valores médios de glicemia inicial e final e suas médias por grupos nos dois experimentos, demonstraram que no experimento agudo não houve diferenças entre os grupos; porém, os valores médios de glicemia demonstraram uma diminuição de 6,02% no grupo diabético yacon em relação ao grupo controle.

O experimento crônico apresentou redução na glicemia de 13,9%. Dessa forma, comprova-se um efeito no auxílio ao controle glicêmico, sendo que esses resultados corroboram com os resultados encontrados por Aybar et al. (2001), e Genta et al. (2005a; 2010b) em animais. Em seu estudo mais recente, demonstra-se um leve efeito hipoglicemiante do extrato aquoso de yacon em animais controle, resultados que não foram encontrados no presente estudo.

Somando-se a isso, estudos iniciais em humanos realizados por Genta et al. (2009) apresentaram um efeito significativo na redução do peso corporal, com uma importante redução na circunferência da cintura, queda acentuada nos valores de IMC do grupo tratado e aumento na frequência de evacuações durante o período de estudo. Porém, a redução na glicemia avaliada pelo método de glicose oxidase demonstrou que não houve diferenças entre o grupo tratado e o placebo.

O mecanismo pelo qual esse controle glicêmico ocorre pode ser explicado da seguinte forma quando os níveis glicêmicos estão elevados, o próprio organismo tende a normalizar esses níveis através de três principais vias, sendo uma destas a de estimular a captação de glicose pelos tecidos periféricos (músculo e tecido adiposo), segunda alterar o metabolismo da insulina (diminuindo a degradação da insulina pelo fígado ou estimulando a secreção de insulina), e por fim inibir a reabsorção de glicose pelos rins, o que resulta na eliminação da glicose pela urina (SILVA, 2007).

O controle glicêmico encontrado em estudos com animais e nos primeiros estudos realizados em humanos indicou que os FOS são os compostos que provavelmente atuam de forma a estimular a utilização da glicose por esses tecidos periféricos e/ou atuam impedindo a absorção total dos açúcares presentes na raiz (SILVA, 2007).

E como descrito anteriormente e segundo Roberfroid (1993) sugeriu que o propionato, produto da fermentação de fibras e frutanos (FOS), poderia desempenhar um papel ao reduzir a produção de glicose e ao estimular a glicólise.

Dessa forma, os dados deste estudo sugerem que, provavelmente, a presença de frutoligosacarídeos do yacon interferiu significativamente nas respostas glicêmicas.

No estudo crônico, os níveis de hemoglobina glicada não foram estatisticamente significantes entre os grupos; porém, apresentou valor de  $p=0,055$ .



O controle na reposta glicêmica não se mostrou significativo para reduzir os marcadores de estresse oxidativo. Conforme descrito por VALKO et al. (2007), o aumento do estresse oxidativo foi proposto como uma das principais causas da hiperglicemia. Em contrapartida, esta estimula a formação de Radicais livres de diversas fontes, como fosforilação oxidativa, auto-oxidação da glicose, entre outras, que promovem um aumento nos componentes oxidativos.

Nos estudos agudo e crônico, comprovou-se que houve um processo de peroxidação lipídica nos grupos diabéticos demonstrado pelos valores de SRATB séricos e hepáticos. Os danos teciduais mediados por peróxidos de lipídeos têm sido observados no desenvolvimento de diabetes dos tipos I e II (BAYNES et al., 1999). A DM foi induzida com estreptozotocina, sendo essa droga reduzida por agentes biológicos, como a cisteína, glutatona e ascorbato, até ácido dialúrico, estabelecendo um ciclo redox pela geração de superóxido e peróxido de hidrogênio (BAYNES et al., 1999).

Além disso, Baroni et al. (2008) citaram que a hiperglicemia induzida por estreptozotocina aumenta os radicais livres de oxigênio através da auto-oxidação da glicose e glicosilação proteica não enzimática. A ausência de diferença estatística nos valores de SRATB de ratos diabéticos administrados com a raiz de yacon pode ser atribuído ao aumento na produção desses radicais livres em excesso e à capacidade de seus mecanismos de defesa celular.

A ingestão de yacon não teve ação protetora ao dano oxidativo, como proposto por diversos autores (GENTA et al., 2004a; 2009b; 2010c; BARONI et al., 2008; VALENTOVA et al., 2004).

O papel dos polifenóis provenientes da dieta na prevenção do estresse oxidativo no processo de patogênese de certas doenças é estabelecido devido a sua longa história de uso. Porém está ficando evidente que pode exercer efeitos deletérios em concentrações

farmacológicas, e isto é ainda mais exacerbado pela maior vulnerabilidade de certas características individuais, pela co-existência de outras doenças e/ou interação com outros agentes farmacológicos. Além disso, estudo *in vivo* tem demonstrado esse efeito sob certas condições (alta concentração dos compostos, pH elevado e presença de ferro) podem atuar iniciando um processo de auto-oxidação e se comportam como pró-oxidante (MARTIN & APPEL, 2010; HALLIWELL, 2008).

Portanto, quantidades consideráveis de evidências apoiam a hipótese de que esses compostos podem apresentar como pró-oxidantes, possível explicação por não ter efeito de proteção antioxidante.

No estudo agudo, as vitaminas E e A séricas apresentaram-se estatisticamente superiores no grupo controle água em relação aos demais grupos. No crônico, os valores estatisticamente diferentes foram o GSH sérico e as vitaminas E e A hepáticas.

Ali et al. (2009), utilizando o mesmo protocolo de indução de diabetes, mas, nesse caso, administrando extrato de licopeno do tomate, observaram comportamentos semelhantes, como diminuição nos valores dos antioxidantes comparados ao grupo controle, processo que justifica a maior utilização desses antioxidantes na tentativa de promover um equilíbrio oxidativo.

Esse comportamento ocorreu tanto no estudo agudo como no crônico; porém, neste, tornou-se mais evidente.

As enzimas analisadas são marcadores de lesões hepáticas, com indicações distintas, basicamente uma alteração proeminente da fosfatase alcalina e da gama GT aponta para possíveis lesão de ductos ou canalículos biliares, enquanto que aumento na TGO e TGP indicam mais fortemente uma agressão hepatocelular (lesão de hepatócitos) (ALI et al., 2009).

Desta forma, no experimento agudo, a enzima TGO apresentou valor médio superior no grupo diabético água e a TGP apresentou valor superior no grupo diabético yacon. No

experimento crônico, houve apenas alteração na Fosfatase alcalina, sendo superior no grupo DA. Os resultados encontrados neste estudo foram pontuais, não permitem afirmar que houve indícios de dano hepático provocado pela administração da raiz.

As alterações nos valores de enzimas hepáticas podem ser consequência de modificações metabólicas, com aumento da gliconeogênese e cetogênese e/ou lesões hepáticas que ocorrem principalmente em diabéticos (ALI et al., 2009).

O estudo conduzido por Baroni et al. (2008) avaliou a atividade da TGO, TGP e Fal no plasma de animais diabéticos e não diabéticos que receberam extrato hidroetanólico 10% de yacon por 14 dias. Esses pesquisadores observaram que houve aumento na atividade dessas enzimas nos ratos diabéticos; porém, com administração do extrato, os valores das enzimas ficaram próximos aos valores dos animais controles. Uma possível explicação é que a administração do extrato de yacon teria diminuído as lesões hepáticas causadas pela doença.

## *8. Conclusão*

---

---

---

No experimento agudo, o grupo Diabético Yacon (DY) apresentou menor ganho de peso em relação aos demais grupos, demonstrando um controle glicêmico. O estresse oxidativo foi verificado através do aumento das SRATB; porém, sem alteração no grupo administrado com a raiz. No sistema antioxidante, houve maior atuação do GSH nos grupos diabéticos e maior consumo das vitaminas antioxidantes, mas sem alteração entre os grupos que receberam raiz e água. Os marcadores antioxidantes no grupo controle apresentaram valores superiores, o que demonstrou haver maior utilização destes pelos grupos diabéticos.

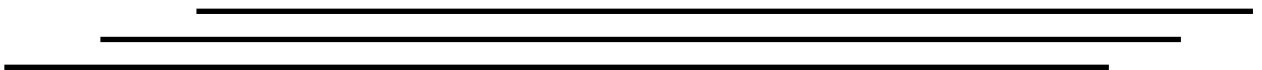
Não houve alterações que possam sugerir indícios de danos hepáticos.

No estudo crônico, os animais que receberam solução de yacon apresentaram um menor ganho de peso e os valores médios de glicemia foram significativamente inferiores aos do controle. Não houve diferença em relação aos valores de peroxidação lipídica.

Foi possível constatar também que não houve alterações nos marcadores de função hepáticas que possam sugerir efeito de toxicidade.

Dessa forma, é possível concluir que, no experimento agudo e no crônico, os animais reduziram de peso e apresentaram sinais de controle glicêmico; porém, sem efeitos para uma proteção antioxidante.

## *Referências*



ALI, M. M.; AGHA, F.G. Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, v.69, n.3, p. 371-379, 2009

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care**, v. 33, supp.1, 2010.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos Fenólicos em Alimentos- Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66 n. 1, p. 1-9, 2007.

AOAC INTERNATIONAL. Official methods of analysis. 16<sup>a</sup> ed., 3<sup>a</sup> rev. Gaithersburg: Published by **AOAC Int.**, 1997. v.2, cap. 32, p.1-43.

ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, S.; KIA, D.; FAVIER, A. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v.572, n. 1-2, p. 103-16, 1991.

ASAMI T.; MINAMISAWA, K.; TSUCHIYA, T.; KANO, K.; HORI, I.; OHYAMA, T.; KUBOTA, M.; TSUKIHASHI, T.; Fluctuations of oligofructan contents in tubers of Yacon (*Polymnia sonchifolia*) during growth and storage. **Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.**, v. 62, p. 621-627, 1991.

ASHIE, I. N. A.; SIMPSON, B. K.; SMITH, J. P. Mechanisms for controlling enzymatic reactions in foods. **C. Rev. Food Sci. Nutr.** v. 36, p. 1-30, 1996.

AYBAR M.J., SANCHEZ A.N., GRAU A., SANCHEZ S.S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **J Ethnopharmacol.** v.74, n.2, p. 125-32, Feb., 2001.

BARCELÓ, A. R.; POMAR, F.; LÓPEZ-SERRANO, M.; PEDREÑO, M. A. Peroxidase: a multifunctional enzyme in grapevines. **Functional Plant Biol.** v. 30, p. 577-591, 2003.

BARONI,S.; KEMMELMEIER, F.S.; CAPARROZ-ASSEF, S.M.; CUMAN,R.K.N.; BERSANI-AMADO,C.A. Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) on glycemia in diabetic rats. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.44, n.3, p.521-30, 2008.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quím. Nova**, v. 29, n. 1 113-123, 2006.

BAYNES, J.W.; THORPE, S.R.; Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. **Diabetes**, v. 48, jan., 1999.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.** 37:911-917, 1959.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol.**, v. 52, p. 302-10, 1978.

CABELLO, C. Extração e Pré- tratamento Químico de Frutanos de Yacon, **Ciênc. Tecnol. de Aliment.** Campinas, v.25, n.2, Abr./Jun, p. 202-207, 2005.

CAPITO, S. M. P. **Raiz tuberosa de yacon (*Polymnia sonchifolia*): Caracterização química e métodos de determinação de frutanos (CG e CLAE-DPA)**. São Paulo, 2001. 101p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

CAPITO, S. M. P.; FILISETTI, T. M. C. C. Inulina: um ingrediente alimentar promissor. **Cad. Nutr.**, São Paulo, v. 18, p. 1-11, 1999.

CONVIGTON, D.S.; XUE, H.; PIZZINI, R. Streptozotocin and Alloxan are comparable agents in the Diabetic model of impaired wound healing. **Diabetes Res.**, v.23, p.47-53, 1993.

DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutr. Metabol. Cardiovasc. Dis.**, v.15, n.4, p.316-28, 2005.

GARCIA-ALONSO, J. ; ROSA, G. et al. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. **Nutr. Res.**, v.26, p. 330-339, 2006.

GENTA, S.; CABRERA, GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. **Food Chem. Toxicol.**, v.43, p. 1657-1665, 2005.

GENTA, S.; CABRERA, W.; HABIB, N.; PONS, J.; CARILLO, I.M.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. **Clin. Nutr.**, v.28, p. 1-6, 2009.

GENTA, S.; CABRERA, W.; MERCADO, M. I.; GRAU, A.; CATALÁN, C. A.; SÁNCHEZ, S. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions. **Chem.-biol. Interact.** v. 185, p. 143-152, 2010.

GEYER, M.; MANRIQUE, I.; DEGEN, L.; BEGLINGER, C. Effect of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. **Digestion**, v. 78, p.30-33, 2008.

GRAU, A., REA, J. Yacon. *Smallanthus sonchifolia* (Poepp. & Endl.) H. Robinson. In: Hermann, M. e Heller, J. (eds). **Andean roots and tubers: ahupa, arracha, maca, yacon: promoting the conservation and use of understanding and neglected crops**. Gater Slaben, Institute of plant genetics and crop plant research, 1997. cap. 21, p.199-241. Disponível em: <<http://www.cipotato.org/market/abstracts/bherm.htm>> Acesso em 04 jun. 2010.

HALLIWELL, B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? **Arch Biochem Biophys.**, v.476, p. 107-112, 2008.

HERMANN, M.; FREIRE, I., PAZOS, C., Compositional diversity of the yacon storage root. In: Impact on a changing world. **Program Report. CIP**, Lima, p.199-242, 1998.

JORDAO, A. A., JR.; CHIARELLO, P. G.; ARANTES, M. R.; MEIRELLES, M. S.; VANNUCCHI, H. Effect of an acute dose of ethanol on lipid peroxidation in rats: action of vitamin E. **Food Chem. Toxicol.**, v.42, n.3, p. 459-64, 2004.



- KAMIMURA, G.K.F.; **Isolamento, Purificação e Caracterização da Peroxidase de Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)** Araraquara, 2006. 114p. Dissertação (Mestre em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêutica, Universidade Estadual Paulista, Unesp campus Araraquara.
- KWAK, N.S.; JUKES, D.J. Functional Foods. The development of a regulatory concept. **Food Control**, Oxford, v. 12, p. 99-107, 2001.
- LACHMAN, J.; FERNÁNDEZ, E.C.; ORSÁK, M. Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. Et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. **Plant Soil Environ.**, v. 49, n. 6, p. 283-290, 2003.
- LACHMAN, J.; FERNÁNDEZ, E.C.; VIEHMANNOVÁ, I.; SULC, M.; CEPKOVÁ, P. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves and roots affected by genotype. **New Zeal. J. Crop Hort. Sci.**, v. 35, p. 117-123, 2007.
- LIN, P. Y.; LAI, H.M. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. **J. Agricult. Food Chem.**, v. 54, p. 3807-14, 2006.
- LOBO, A.R.; COLLI, C.; ALVARES, E. P.; FILISETTI, T. M. C. C. Effects of frutacns-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. **Br. J. Nutr.**, v. 97, p. 779-785, 2007.
- MARAGONI, A. L. **Potencialidade de aplicação de farinha de Yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos a base de cereais.** 2007. 125 p. Tese (Mestrado)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- MÁRQUEZ, L.R. Fibra Terapêutica. **Nutrição em Pauta**. Nov. 2001. Disponível em <http://.nutricaoempauta.com.br/novo/51/entrevista1.html> Acesso em 07 de jul de 2010.
- MARTIN, K.R.; APPEL, C.L. Polyphenols as dietary supplements: a double-edged sword. **Nutrition and dietary supplement.**, v. 2, p. 1-12, 2010.
- MARTINS, C. Fibras e fatos: como as fibras podem ajudar na sua saúde. Curitiba: **Nutroclínica**, p. 2-4. 1997.
- MAZZANTI, C. M.; SCHOSSLER, D.R.; FILAPPI, A.; PRESTES, D.; BALZ, D.; MIRON, V.; MORSCH, A.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH, V.M.; CECIM, M. Extrato de casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, Nov/Dez p. 1061-1065, 2003.
- MEIGS, J. B.; HU, F. B.; RIFAI, N.; MANSON, J. E. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 291, n.16, 2004.
- MELO, E. A.; BION, F. M. FILHO, J.M. GUERRA, N. B. In vivo antioxidant of aqueous and enteric coriander (*Coriandrum sativum* L.) extracts. **Eur. J. Lipid Technol.** v. 105, p.483-487, 2003.

MOSCATTO, J.A., PRUDÊNCIO-FERREIRA, S., HAULY, M. Farinha de Yacon e Inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v.24, n.4, Out./ Dez., p. 634-640, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolic in food. **J. Chromatogr.**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NARAI-KANAYAMA, A.; TOKITA, N.; ASO, K. Dependence of fructooligosaccharide content on activity of fructooligosaccharide-metabolizing enzymes in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. **J. Food Sci.**, v. 72, n. 6, p. 381-387, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL Lost crops of the Incas: little known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. **National Academy Press**, Washington, D.C., 1989.

NEVES, V.A.; SILVA, M. A. Polyphenol oxidase from yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*). **J. Agricult. Food Chem.**, v.55, p.2424-2430, 2007.

NIETO, C.C.; Estudios agronómicos y bromatológicos en jicama (*Polymnia sonchifolia* Poepp et Endl.). **Arch. Latinoamer. Nutr.**, v. 41, n. 2, p. 213-221, 1991.

NOVELLI, E.L.B. Radicais livres e estresse oxidativo In: **Nutrição e Vida Saudável, estresse oxidativo e metabolismo energético**. Ribeirão Preto: Tecmed, 2005, cap. 06 93-115.

O'BRIEN, P. J. Peroxidases. **Chem.-Biol. Interact.** v. 129, 113-139, 2000.

OHYAMA, T.; ITO, O.; YASUYOSHI, S.; IKARASHI, T.; MINAMISAWA, K.; KUBOTA, M.; TSUKIHASHI, T.; ASAMI, T. Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Soil Sci. Plant Nutr.**, Japão, v.36, n.1, p.167-171, 1990.

PARAJARA, F. **Yacon, o primo da batata que ajuda a controlar o diabetes**. Saúde, São Paulo, n.194, novembro, p. 38-42, 1999.

PAULY-SILVEIRA, N.D.; BEDANI, R.; CAVALLINI, D.C.U.; MANZONI, M.S.J.; MIGUEL, D.P.; BORSATO, D.; ROSSI, E.A. Optimization of a symbiotic formulation of soy yoghurt containing yacon extract by response surface methodology. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**. v. 5, nº 3, 2010.

PERKINS B., GREENE, B.; Glycemic control is related to the morphological severity of diabetic sensorimotor polyneuropathy. **Diabetes Care**. v.24, n.4, Apr., p.748-52, 2001.

QUINTEROS, E.T.T.; **Produção com tratamento enzimático e avaliação do suco de Yacon**. Campinas, 2000. 164p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) -Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**. v. 15, p. 1-6, 2005.

RIBEIRO, R. C. L. F. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. **Revis. Bras. Fisiol. Vegetal**, v. 5, n.2, p. 203-208, 1993.

RICHARD-FORGET, F. C.; GAUILLARD, F. A. Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* Cv. Williams) polyphenol oxidase and peroxidase: A possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 2472-2476, 1997.

ROBINSON, D. S.; ESKIN, N. A. M. **Oxidative enzymes in foods**. Belfast, Northern Ireland: Elsevier science publishers, 314 p. 1991.

ROBINSON, H. Yacon, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endt). In: HERMAN, M.; HELLER, J. Andean roots and tubers: ahupa, arracha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. **Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, Italy, 1997, p.202-242.

ROBERFROID, M. B.; DELZENNE, N. M. Dietary fructans. **Annu. Rev. Nutr.**, Palo Alto, v.18, p. 117-43, 1998.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G. R.; DELZENNE, N. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. **Nutr. Rev.**, New York, v. 51, n. 5, p. 137-146, 1993.

SANTANA, I.; CARDOSO, M.H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciênc. Rural**, v. 38, n. 3, p. 898-905, 2008.

SAPERS, G. M. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. **Food Technol.** p. 75-84, 1993.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal. biochemistry**, v.25, n.1, p.192-205, 1968.

SEMINARIO, J.; VALDERRAMA, M.; MANRIQUE, I. **El Yacón, fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio**, Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el desarrollo y la cooperación (COSUDE), Lima, 2003.

SILVA, A.D.S. **A raiz yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós –prandial**. 2007. 158 p. Tese (Doutorado)- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

SIMONOVSKA, B.; VOVK, I.; ANDRENESEK, S.; VALENTOVÁ, K., ULRICHOVÀ, J. Investigation of phenolic acids in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **J. Cromatogr.**, v.1016, p.89-98, 2003.

SKLIUTAS, A.R.; **Estudo do desenvolvimento de barra dietética de cereais e goiaba desidratada pelo processo de osmose a vácuo com utilização de fruto-oligossacarídeo**. 2002. 116 p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Consenso brasileiro sobre diabetes 2002: diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2.** – Rio de janeiro, 2002.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Atualização Brasileira sobre Diabetes** – Rio de janeiro, 2006.

STARK, A.; MADAR, Z. Dietary fiber. **In Functional foods.** Goldberg I (Ed). Chapman and Hall. New York, p. 183 –201, 1994.

TAKAHAMA, U.; ONIKI, T. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions. **J. Plant Res.** v.113, p.301-309, 2000.

TAPIA, B.C., CASTILLO R. T.; MAZÓN, N.O Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador. **INIAP-DENAREF**, Quito, Ecuador, 180p. 1996.

VALENTOVA K., CVAK L., MUCK A., A, ULRICHOVA J., SIMANEK V.; Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. **Eur. J. Nutr.** v.42, n.1,Jan., p. 61-66, 2003.

VALENTOVA, K.; ULRICHOVA J., *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*-Prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. **Biomed Papers.** v.147, n.2, p. 119-130, 2003.

VALENTOVA, K.; SERSEN, F.; ULRICHOVÁ, J. Radical Scavenging and Anti-lipoperoxidative activities of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts. **J. Agric. Food Chem.**, v.53, p. 5577- 5582, 2005.

VALENTOVA, K.; LEBEDA, A.; DOLEZALOVA, I.; JIROVSKY, D.; SIMONOVSKA, B.; VOVK, I.; KOSINA, P.; GASMANOVA, N.; DZIERCHCIARKOVA, M.; ULRICHOVA, J. The biological and Chemical variability of Yacon. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 1347-1352, 2006.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M. TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v.39, p.44–84, 2007.

VAMOS-VIGYAZO, L. Polyphenoloxidase and peroxidase in fruit and vegetables. **CRC C. Rev. Food Sci. Nutr.** v.15, p.49-127, 1981.

VAMOS-VIGYAZO, L.; NÁDUDVARI-MÁRRUS, V. Enzymatic browning, polyphenol content, polyphenol oxidase and peroxidase activities in pear cultivars. **Acta Aliment.** v.11, n.2, p.157-168, 1982.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO, A. J. Papel dos nutrientes na peroxidação lípidica e no sistema de defesa antioxidante. **Simpósio Nutrição Clínica** Cap. III, Medicina Ribeirão Preto, v. 31 Jan/ Mar., p. 31-44, 1998.

VEITCH, N. C. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. **Phytochem.** v.65, n. 3, p. 249-259, 2004.

VILHENA, S.M.C., CÂMARA, F.L.A.; KAKIHARA, S.T.; O cultivo de Yacon no Brasil. **Hortic. Bras.**, v. 18, n. 1, p. 5-8, 2000.

WAJCHENBERG, B.L. Disfunção Endotelial no Diabetes Tipo II. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 46, n.5, p.512-519, 2002.

World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. **Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus**, 1999.

WÜRSH, P.; PI-SUNYER, F.X. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. **Diabetes Care**, v. 20, p.1774-1780, 1997.

YAN, X.; SUZUKI, M.; KAMEYAMA, M. O.; SADA, Y.; NAKANISHI, T.; NAGATA, T. Extraction and Identification of Antioxidants in the roots of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **J. Agric. Food Chem.** v.47, 4711-4713, 1999

YOSINO, E. Y. **Alimento funcional: musse de chocolate enriquecida com frutooligossacarídeos presentes no suco concentrado de yacon (*Polymnia sonchifolia*)**. São Paulo, 2003. 123p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

YUN, J. W. Fructooligosaccharides: occurrence, preparation and application. **Enz. Microb. Technol.**, v. 19, p. 107-117, 1996.

ZARDINI, E. Ethnobotanical notes on “yacon”, *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). **Economic Botany**, v. 45, n. 1, p. 72-85, 1991.

# *Capítulo II*

*Artigo Científico*

---

---

---

## **YACON (*Smallanthus sonchifolius*): TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS AND THEIR EFFECTS ON GLYCEMIA AND OXIDATIVE STRESS IN DIABETIC RATS.**

**OLIVEIRA, L.A.\*; BRAGA COSTA, T.M.\*\*; JORDÃO JR, A.A.\*\*\*; MEIRELLES, C.J.C.S.\*\*\*; NAVARRO, A.M.\*\*\***

\* Postgraduation in Foods and Nutrition, Department of Foods, Faculty of Pharmaceutical Sciences of Araraquara – UNESP

\*\* Faculty of Nutrition of Ribeirão Preto – UNAERP

\*\*\* Postgraduation in Medical Sciences, Department of Medicine, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto – USP

### **Abstract:**

Large numbers of studies have confirmed the presence of phenolic compounds with beneficial properties for health in the tuberous root of yacon. Particularly important is the presence of fructooligosaccharides (FOS), inulin and phenolic compounds with an antioxidant action. Another important point is the use of yacon in the diet because of the bioactive substances it contains, which are of interest for the prevention and treatment of diseases such as diabetes. We know that diabetes creates a pathological situation of cellular stress, with an increasing need for equilibrium between pro- and antioxidant components, and yacon is a source of nutritive substances that may contribute to a better control of these mechanisms. The objective of the present study was to quantitate the total phenolic compounds present in the tuberous root of yacon and to analyze the effect of the root on the control of glycemia and of oxidative stress in diabetic rats. Total phenolic compounds were determined in different treatments of the tuberous root and their centesimal composition was quantitated. A 30% yacon solution was prepared, corresponding to 1.2 g of lyophilized yacon administered by gavage once a day throughout the study, which lasted 27 days. The animals were divided into two groups: diabetic water (DW), consisting of 8 animals receiving water, and diabetic yacon (DY), consisting of 8 animals receiving a yacon solution. Glycemia was determined daily in both groups and animal weight was monitored. Oxidative stress markers and enzymes were determined to assess liver damage. The results showed that the lyophilized extract had the highest concentration of phenolic compounds. The groups did not differ significantly in mean weight or in glycated hemoglobin levels but differed significantly in glycemia levels. Food intake was lower in the DY group and analysis of antioxidant vitamins revealed greater



utilization in the DW group compared to the DY group. We conclude that the root did not promote antioxidant protection.

**Key-words:** Yacon, Glycemic, Oxidative Stress.

## Introduction

Diabetes is a disease characterized by glycemia, glycosuria and a broad spectrum of pathological clinical manifestations. Hyperglycemia, the primary clinical manifestation of diabetes, is associated with the process known as oxidative stress triggered by a non-enzymatic reaction of glucose with the aminoterminal groups of proteins called glycosylation. Protein glycosylation followed by free radical formation has been proposed to be one of the most important processes in the pathogeny of diabetes (NOVELLI, 2005).

This increase in reactive oxygen species (ROS) provokes a disequilibrium between the pro- and antioxidant systems. The formation of these ROS such as hydrogen superoxide and peroxide anions represents an important cause of oxidative injury in several diseases associated with the formation of these ROS, such as diabetes, cancer, cardiovascular diseases, rheumatoid arthritis, and alcoholism, among others (VALKO et al., 2007).

ROS attack the macromolecules and generate new radicals and/or molecules, thus perpetuating a cyclic chain of oxidative reactions. The final product is malondialdehyde (MDA) formed in the process of lipid peroxidation induced by ROS, which is considered to be a marker of this process (DEL RIO; STEWART; PELLEGRINI, 2005).

In the attempt to block the propagation of this final product and to avoid this process of oxidative damage, the organism relies on substances of the antioxidant protection system such as the enzymes reduced glutathione (GSH) and catalase and on non-enzymatic substances such as vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) and vitamin C (ascorbic acid), lycopene,  $\beta$ -carotene, flavonoids, and phenolic compounds. Particularly important are antioxidant nutrients, emphasizing the role of diet in the offer of these nutrients, with a consequent protection against free radicals (JORDÃO JR. et al, 2004).

Among foods containing antioxidant nutrients is yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher), a plant originating from the Andes. The plant was first cultivated in Colombia, Equador and Peru or in high altitude Andean regions. It is currently the most promising plant for study, attracting worldwide attention due to its surprising variety of advantages and benefits. Among the bromatologic and chemical characteristics of yacon is the low calorie content of its roots, which makes them attractive for consumption by persons on

diets or whose diseases require some control. Appreciable amounts of fructooligosaccharides (FOS) are stored in the tuberous roots of the plant, in contrast to most other roots, which accumulate starch as a reserve carbohydrate. Yacon is one of the edible storage roots with the highest content of water, which may range from 83% to 90% of root fresh weight (NIETO, 1991). It contains important amounts of potassium and calcium, of phenolic compounds derived from caffeic acid, and of antioxidant substances such as chlorogenic acid and L-tryptophan.

Among the beneficial effects of FOS from yacon is the fact that they are not digestible and have an effect similar to that of food fiber. In addition, they are not cariogenic and they participate in the elimination of pathogenic and putrefactive bacteria by a multiplying effect on bifidobacteria. Some other effects are: contributing to the reduction of serum lipids, favoring an increased absorption of minerals such as calcium, magnesium and iron, stimulating the inhibition of the early stage of colon cancer, and reducing the rate of sugar absorption, a fact that causes yacon to be potentially beneficial for the diet of diabetic patients. And the effect of the phenolic compounds is their intervention in the process of oxidative stress where they act by interrupting the reaction chain by donating electrons or hydrogen to free radicals, converting them to stable products or reacting with free radicals (ANGELO et al, 2007).

Phenolic acids are characterized by having a benzene ring, a carboxyl group and one or more hydroxyl and/or methoxyl groups in their molecule, thus conferring antioxidant properties also to the vegetables that contain them (ANGELO et al., 2007).

Among the phenolics with an antioxidant action for animal tissues are chlorogenic acid and tryptophan, identified as having a greater antioxidant power in tuberous roots, as well as caffeic acid, ferulic acid, gallic acid and quercetin, which are present in yacon in significant amounts of about 200 mg/100 g edible fresh matter (SIMONOVSKA et al., 2003).

Studies assessing the effects of bioactive substances in this root are essential. Thus, the objective of the present study was to investigate the effect of a food containing compounds that act on the glycemic response and on the attenuation of oxidative stress and to determine that these compounds have no toxic effects, thus indicating that this root could have an antidiabetic potential.

## Material and Methods

### Animals

The study was conducted on male Wistar rats weighing 200 to 250 g. The animals were housed in individual cages on a 12 hour light/12 hour dark cycle at a mean temperature of  $24 \pm 2$  °C.

One week before the beginning of the procedure the animals were allowed to adapt to the experimental model (diet and individual cages).

The study was approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo (Protocol nº140/2008).

### Preparation of yacon solution

Yacon tuberous roots were purchased on the market in the city of Ribeirão Preto. The samples were first submitted to the following treatments: **In natura** – the plant material was peeled and weighed and immediately macerated in a tissue homogenizer with 30 mL ethanol until a homogeneous mixture was obtained. **Bleaching** – The samples were peeled and cut into cubes of approximately 20 g, immediately placed in a 0.5% citric acid 0.03% ascorbic acid solution, removed and boiled in water for 10 minutes, and then immersed in cold water until they reached a final temperature of 10°C (Pauly, 2007). **Decortication on ice** – The samples were peeled, immersed in ice and cut crosswise into pieces of approximately 2 cm. **Lyophilization** – After bleaching, the samples were frozen in liquid nitrogen in a freezer at ultra low temperature. Water was removed from the product by sublimation in a vacuum chamber and removed from the chamber with a pump. An ILSHIN lyophilizer was used. The method of Lin and Lai (2006) was used for the extraction and quantitation of the total phenolic compounds after each treatment.

### Determination of total phenolic compounds

Total phenolic compounds were quantitated in yacon samples according to previously determined procedures. A 5 g sample was macerated and placed in 100 mL of an 80% ethanol solution and left under reflow for 2 hours at 60°C with shaking.

After filtration, 100 µL of the solution were diluted with 100 µL of an MeOH/0.3% HCl solution (6:4, v/v). Next, the preparation was shaken for 2 minutes with 2 mL of a 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solution. Finally, 100 µL of a 50% solution of the Folin-Ciocalteu reagent was

added, the preparation was left to rest protected from light for 30 minutes, and readings were taken with a spectrophotometer at 750 nm (Lin & Lai, 2006).

### **Induction of diabetes**

Food was removed 24 hours before diabetes induction, with the animals having access only to water. The animals were weighed on the day of induction.

With the animal anesthetized, a previously prepared solution of streptozotocin (Sigma, MW = 265.22) dissolved in 0.01 M sodium citrate buffer, pH 4.5, was injected through a caudal vein at the dose of 40 mg/kg body weight. Control animals received an equivalent volume of saline solution. After drug administration, the animals were fasted for an additional 90 minutes, with free access only to water.

A period of adaptation to diabetes mellitus was allowed and induction of diabetes was confirmed within six days. Only the animals with glycemia of 250 mg% or more were considered to be diabetic.

### **Animal treatment**

Each animal received 4 mL of a 30% yacon solution (w/v) for a total of 1.2 g lyophilized yacon per day (Genta et al., 2005).

The following groups were studied: diabetic water (DW) group consisting of diabetic animals receiving water (n = 8) and diabetic yacon (DY) consisting of diabetic animals receiving a yacon solution. In this phase of the study, which lasted 27 days, the animal received the yacon solution by gavage once a day throughout the experiment. All animals received a standard diet (AIN-93). The animals had free access to water and to Nuvilab CR1 diet (Nutival Nutrientes, LTDW-Colombo/PR) and their diet intake was calculated.

### **Blood and liver collection**

The animals were euthanized by decapitation and blood and liver were collected. Blood was immediately centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes to obtain serum, which was stored at -40°C for later biochemical analysis. The liver was removed, weighed, promptly frozen in liquid nitrogen and stored at -70°C for later analysis.

### **Glycemia**

Glycemia was determined with the Accu-Check Advantage II instrument using a test strip.

### **Glycated hemoglobin**

Glycated hemoglobin levels were determined using a LABTEST<sup>®</sup> kit.

### **Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)**

TBARS were determined by the method of Buege & Aust (1978) which consists of the reaction of MDA with thiobarbituric acid in acid medium with heating at 100°C for 30 minutes in a water bath (model 100, FANEM, Guarulhos, SP, Brasil). This reaction produces a compound of yellow color which is read with a spectrophotometer (UV-Vis Mod Q98U Quimis®, Diadema, SP, Brazil).

### **GSH determination**

GSH and total thiols were determined by a colorimetric method consisting of the reaction of the sulfhydryl group with 5,5'-dithiobis (2- nitrobenzoic acid) (DTNB) and reading with the same spectrophotometer at 412 nm wavelength by the method of Sedlack & Lindsay (1968). The concentration was calculated using a standard GSH curve.

### **Antioxidant analysis**

Blood vitamin A and E profiles were determined by HPLC using an instrument equipped with a 4.6 x 25 cm C-18 column (Shimpack CLC-ODS, Shimadzu Co., Kyoto, Japan), a 4 mm x 1 cm precolumn, a flow rate of 2.0 mL/min and a UV/Visible detector with reading at 292 nm wavelength (Arnaud et al., 1991). This analytical method was standardized in the Laboratory of Bromatology, Course of Nutrition and Metabolism, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo.

### **Hepatic enzyme analysis**

Hepatic damage was determined by measuring the enzymes  $\gamma$ -glutamyl transferase ( $\gamma$ -GT), alkaline phosphatase, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), and glutamic pyruvic transaminase (GPT) using a commercial kit (Labtest Diagnóstica<sup>®</sup>, Lagoa Santa, MG, Brasil).

### **Statistical analysis**

Data are reported as means  $\pm$  SD and were analyzed statistically by analysis of variance (ANOVA). Differences between groups were determined by the Duncan test. In all

cases, the level of significance was set at  $p \leq 0.05$ . The PROC GLM feature of the SAS software version 9 was used for all analyses.

## Results

### Yacon procedures

Phenolic values of  $0.726 \pm 0.03$ ,  $0.634 \pm 0.04$  and  $0.605 \pm 0.05$  mg/g sample were detected at 0, 15 and 50 minutes of root exposure to room temperature, respectively (Figure 1), with no significant difference between times.

Regarding the different procedures of the root, values of  $7.05 \pm 0.31$  mg/g with lyophilization being the treatment with the highest concentration of total phenols.

## FIGURE 1

### Animal growth

Assessment of the groups at the beginning and at the end of the study revealed a significant difference in weight between groups at both times, with the DY group showing a lower weight gain at the end of the experiment. These results are presented in Table 1.

## TABLE 1.

Different lower case superscript letters in the same column and different superscript capital letters on the same line indicate a significant difference between groups ( $p < 0.05$ ). DY = Diabetic yacon ; DW = Diabetic Water.

### Evaluation of glycemia

Mean glycemia values were significantly lower in the DY group ( $381.3 \pm 159.3$  mg/dL) compared to the DW group ( $442.9 \pm 141.5$  mg/dL). However, comparison of the mean glycemia values at the beginning and at the end of the experiment revealed no difference between groups, as shown in Table 2.

## TABLE 2.

In the chronic study, glycated hemoglobin levels were determined and were found not to differ significantly between groups, although a values of  $p = 0.055$  was obtained (Figure 2).

## **FIGURE 2.**

### **Diet consumption**

The DY group ingested significantly less food (mean:  $36.6 \pm 6.1$  g) than the DW group (mean:  $40.2 \pm 7.9$  g).

### **Evaluation of lipid peroxidation**

Total hepatic and serum TBARS levels were higher in the DW group, although the difference was not significant compared to the DY group (Table 3).

## **TABLE 3.**

### **Quantitation of the components of the antioxidant system**

The DW group had significantly higher serum GSH and hepatic vitamin A and vitamin E levels, with no difference between groups regarding the other parameters of evaluation of the antioxidant system (Table 4).

## **TABLE 4.**

### **Analysis of liver damage**

Among the liver enzymes, alkaline phosphatase was the only one showing changes, with significantly higher values in the DW group (Table 5).

## **TABLE 5.**

### **Discussion**

Total phenolic concentrations in the sample after the different times of exposure were significantly correlated with time of exposure. The longer the time of exposure at room temperature, the greater the process of oxidation and consequently the lower the concentration of total phenolic compounds. This process occurred mainly due to two oxidoreductase

enzymes, peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO), whose principal relation to the post-harvesting changes was based on undesirable modifications of the texture and taste of the vegetables. Susceptibility of the plant to pathogens and to mechanical shock was involved in the browning reactions of the raw and processed vegetables, in the loss of nutritional quality and in the complete deterioration of these foods after harvesting. Thus, there was a relation between enzyme activity and quality of the product (KAMIMURA, 2006).

The objective of procedures with yacon roots was to inactivate POD and PPO, and factors capable of altering the activity of these enzymes and consequently the velocity of the reaction catalyzed by them were used. The treatment showing the highest concentration of phenolics was the lyophilized one. Before lyophilization, the roots were immersed in a solution of citric acid and ascorbic acid and submitted to bleaching, processes that promoted inactivation. In addition to these methods for enzyme inactivation there are others such as change in pH and in food temperature and the use of additives, among others (BARCELÓ et al., 2004; TAKAHAMA et al., 2000).

The ability of these enzymes to oxidize compounds such as phenols has been extensively discussed, since it implies the ability to act on the phenomenon of browning of foods of plant origin (BARCELÓ et al., 2004; TAKAHAMA et al., 2000). Two mechanisms may be implicated in the involvement of POD and PPO in enzymatic browning: the generation of hydrogen peroxide during the oxidation of some phenolic compounds and their utilization in subsequent oxidations, acting on the turnover of these compounds, and the use of quinones as enzyme substrates, contributing to the formation of melanin (BARCELÓ et al., 2004; O'BRIEN, 2000; ROBINSON et al., 1991; TAKAHAMA et al., 2000; VAMOS-VIGYAZO, 1981; VAMOS-VIGYAZO et al., 1982; VEITCH, 2004). More simply stated, the quinones formed by the enzymatic activity of polyphenoloxidase may suffer a series of non-enzymatic polymerization reactions resulting in dark or reddish insoluble compounds such as melanins (Barceló et al., 2004; Richard-Forget et al., 1997).

In a study of yacon root PPO, NEVES & SILVA (2007) concluded that the optimum activity of the enzyme occurs at pH of about 6.0 to 7.0, and the optimum temperature is close to 30°C. The authors evaluated the effects of PPO inhibitors at different concentrations and observed that oxalic acid and benzoic acid showed a relatively low inhibition compared to the thiol reagent dithioerythrol (DTE), to sodium metabisulfite and to cysteine, which were more effective. Ascorbic acid showed efficient inhibition compared to the remaining substrates. In a similar study, KAMIMURA (2006) isolated, purified and characterized yacon peroxidases and observed that DTE compounds were efficient enzyme inhibitors. However, their



application to foods is not permitted due to their toxic potential. Optimum pH and temperature of POD were 5.5 and 35°C, respectively.

Thus, in the present study ascorbic acid and citric acid were used as inhibitors of enzymatic browning before the bleaching process.

Ascorbic acid has been used for more than 50 years as an inhibitor of enzymatic browning in plant foods, often in combination with organic acids such as citric acid (SAPERS et al., 1993). This role is mainly due to the reduction of quinones to diphenols preventing the formation of melanin, as previously mentioned, but ascorbic acid may also act on enzymatic inhibition as an acidulant (ASHIE et al., 1996; SAPERS et al., 1993). Citric acid itself is also widely employed as an acidulant, but can also act as a chelant (SAPERS et al., 1993). These compounds have been tested as inhibitors of yacon PPO- and POD-induced browning with significant results (NEVES & SILVA, 2007; KAMIMURA, 2007).

The lyophilized procedures yielded the best results in terms of the concentration of total phenolics and prevented the loss of other compounds present in the food. In addition, it involved desirable factors such as the absence of effects on color, odor or flavor and other characteristics of the food, as well as compatibility with the food and stability under processing and storage conditions (Ramalho et al., 2005).

The diabetic animals receiving yacon gained less weight than the diabetic controls, a fact possibly explained by the influence of FOS present in the root, in which the fructosyl units are bound at position  $\beta(2\rightarrow1)$  of saccharose, a fact that distinguishes them from other oligomers (YUN, 1996). This type of bond confers on them resistance to digestion or digestive hydrolysis. Thus, FOS have an effect similar to that of food fiber, reaching the colon in an almost integral manner, where they are fermented and retain water (gelification) during fermentation (SILVA, 2007). These FOS are believed to have a small effect on fecal weight, which may increase fecal weight and volume and provoke a greater sensation of satiety and a subsequent reduction of intake (MÁRQUEZ, 2001).

The results reported by Aybar et al (2000), who administered a yacon leaf tea, by Genta et al (2005), who administered the root in the form of a flour supplement, and by Baroni et al (2008), who administered a crude extract of yacon leaves, demonstrated a smaller weight gain in diabetic animals receiving the root in its different forms of administration compared to control animals. This chemical characteristic of the root explains the lower diet consumption by the diabetic animals that received yacon compared to the diabetic animals that received water.

The chronic experiment showed a 13.9% reduction of glycemia, confirming the effect of the extract in aiding glyceemic control, in agreement with the results reported by Aybar et al (2001) and Genta et al (2005;2010) in animals. In their more recent study, Genta et al (2010) demonstrated a mild hypoglycemic effect of the aqueous extract of yacon on control animals, a result that was not obtained in the present study.

The glyceemic control detected in animal studies and in the first studies conducted on humans indicated that FOS are compounds that probably act by stimulating the utilization of glucose by these peripheral tissue and/or by preventing total absorption of the sugars present in the root (SILVA, 2007).

The present data suggest that probably the presence of yacon FOS interfered significantly with the glyceemic response. In the chronic study, the levels of glycolyzed hemoglobin did not differ significantly between groups, but presented a value of  $p = 0.055$ .

Control of the glyceemic response did not prove to be significant for the reduction of oxidative stress markers. As described by VALKO et al. (2007), the increase of oxidative stress has been proposed to be one of the main causes of hyperglycemia which, in turn, stimulates the formation of free radicals of various sources, such as oxidative phosphorylation and glucose auto-oxidation, among others, promoting an increase of oxidative components.

The acute and chronic study proved that a process of lipid peroxidation occurred in the diabetic groups, as demonstrated by serum and liver TBARS levels. Tissue damage mediated by lipid peroxides has been observed in the development of type I and type II diabetes (BAYNES et al., 1999). Diabetes mellitus was induced with streptozotocin, a drug that is reduced by biological agents such as cysteine, glutathione and ascorbate, as well as dialuric acid, establishing a redox cycle by the generation of hydrogen superoxide and peroxide (BAYNES et al., 1999).

In addition, Baroni et al. (2008) stated that streptozotocin-induced hyperglycemia increases ROS levels by glucose auto-oxidation and by non-enzymatic protein glycosylation. The absence of a statistically significant difference in the TBARS values of rats receiving the root extract may be attributed to the production of these free radicals exceeding the ability of the mechanisms of cell defense.

The ingestion of yacon had no protective action against oxidative damage, as proposed by several investigators (GENTA et al., 2005; GENTA et al., 2009; GENTA et al., 2010; BARONI et al., 2008; VALENTOVA et al., 2005).

Evaluation of liver enzymes revealed changes only in alkaline phosphatase, whose levels were higher in the DW group. The results obtained in the present study do not permit us to state that there were signs of hepatic damage provoked by administration of the root.

Changes in hepatic enzyme levels are a consequence of metabolic modifications, with increased gluconeogenesis and ketogenesis and/or hepatic lesions mainly occurring in diabetics (BARONI et al 2008).

Baroni et al (2008) assessed GOT, GPT and AP activity in the plasma of diabetic and non-diabetic animals receiving a 10% water-ethanol yacon extract for 14 days and observed an increased activity of these enzymes in diabetic rats. However, with the administration of the extract the enzyme values of diabetic rats were close to those of control rats. A possible explanation of this result is that the administration of the yacon extract may have reduced the hepatic lesions caused by the disease.

## **Conclusion**

We conclude that in the chronic study the animals that received a yacon solution presented a lower weight gain and their mean glycemia values were significantly lower than control. No difference in lipid peroxidation was observed.

There were no changes in hepatic enzymes that might suggest a toxic effect. Thus, it is possible to state that the weight of the animals was reduced and that signs of glycemic control were present, although with no effect in terms of antioxidant protection.

## **References**

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos- Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66 n. 1, p. 1-9, 2007.

ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, S.; KIA, D.; FAVIER, A. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **Journal of chromatography**, v.572, n. 1-2, p. 103-16, 1991.

ASHIE, I. N. A.; SIMPSON, B. K.; SMITH, J. P. Mechanisms for controlling enzymatic reactions in foods. **C. Rev. Food Sci. Nutr.** v. 36, p. 1-30, 1996.

AYBAR M.J., SANCHEZ A.N., GRAU A., SANCHEZ S.S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **J Ethnopharmacol.** v.74, n.2, p. 125-32, Feb., 2001.

BARCELÓ, A. R.; POMAR, F.; LÓPEZ-SERRANO, M.; PEDREÑO, M. A. Peroxidase: a multifunctional enzyme in grapevines. **Functional Plant Biol.** v. 30, p. 577-591, 2003.

BARONI,S.; KEMMELMEIER, F.S.; CAPARROZ-ASSEF, S.M.; CUMAN,R.K.N.; BERSANI-AMADO,C.A. Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) on glycemia in diabetic rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.44, n.3, p.521-30, 2008.

BAYNES, J.W.; THORPE, S.R.; Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. **Diabetes**, v. 48, jan., 1999.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods enzymology**, v. 52, p. 302-10, 1978.

DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition Metabolism Cardiovascular Diseases**, v.15, n.4, p.316-28, 2005.

GENTA, S.; CABRERA, GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.43, p. 1657-1665, 2005.

GENTA, S.; CABRERA, W.; MERCADO,M. I.; GRAU, A.; CATALÁN,C. A.; SÁNCHEZ, S. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions. **Chemico-biological Interactions** v. 185, p. 143-152, 2010.

JORDWO, A. A., JR.; CHIARELLO, P. G.; ARANTES, M. R.; MEIRELLES, M. S.; VANNUCCHI, H. Effect of an acute dose of ethanol on lipid peroxidation in rats: action of vitamin E. **Food Chemical Toxicology**, v.42, n.3, p. 459-64, 2004.

KAMIMURA, G.K.F.; **Isolamento, Purificação e Caracterização da Peroxidase de Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)** Araraquara, 2006. 114p. Master's thesis (Food sciences) - Faculdade de Ciências Farmacêutica, Universidade Estadual Paulista, Unesp campus Araraquara.

LIN, P. Y.; LAI, H.M. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 3807-14, 2006.

MÁRQUEZ, L.R. Fibra Terapêutica. **Nutrição em Pauta**. Nov. 2001. Available at <http://nutricaoempauta.com.br/novo/51/entrevista1.html> Acesso em 07 de jul de 2010.

NEVES, V.A.; SILVA, M. A. Polyphenol oxidase from yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.2424-2430, 2007.

NIETO, C.C.; Estudios agronómicos y bromatológicos en jicama (*Polymnia sonchifolia* Poepp et Endl.). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 41, n. 2, p. 213-221, 1991.

NOVELLI, E.L.B. Radicais livres e estresse oxidativo In: **Nutrição e Vida Saudável, estresse oxidativo e metabolismo energético**. Ribeirão Preto: Tecmed, 2005, cap. 06 93-115.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**. v. 15, p. 1-6, 2005.

RICHARD-FORGET, F. C.; GAUILLARD, F. A. Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* Cv. Williams) polyphenol oxidase and peroxidase: A possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 2472-2476, 1997.

ROBINSON, D. S.; ESKIN, N. A. M. **Oxidative enzymes in foods**. Belfast, Northern Ireland: Elsevier science publishers, 314 p. 1991.

SAPERS, G. M. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. **Food Technol.** p. 75-84, 1993.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v.25, n.1, p.192-205, 1968.

SILVA, A.D.S. **A raiz yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós –prandial.** 2007. 158 p. Doctoral thesis- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

SIMONOVSKA, B.; VOVK, I.; ANDRENESEK, S.; VALENTOVÁ, K., ULRICHOVÁ, J. Investigation of phenolic acids in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography**, v.1016, p.89-98, 2003.

TAKAHAMA, U.; ONIKI, T. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions. **J. Plant Res.** v.113, p.301-309, 2000.

VALENTOVA, K.; SERSEN, F.; ULRICHOVÁ, J. Radical scavenging and anti-lipoperoxidative activities of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts. **Journal Agric. Food Chem.**, v.53, p. 5577- 5582, 2005.

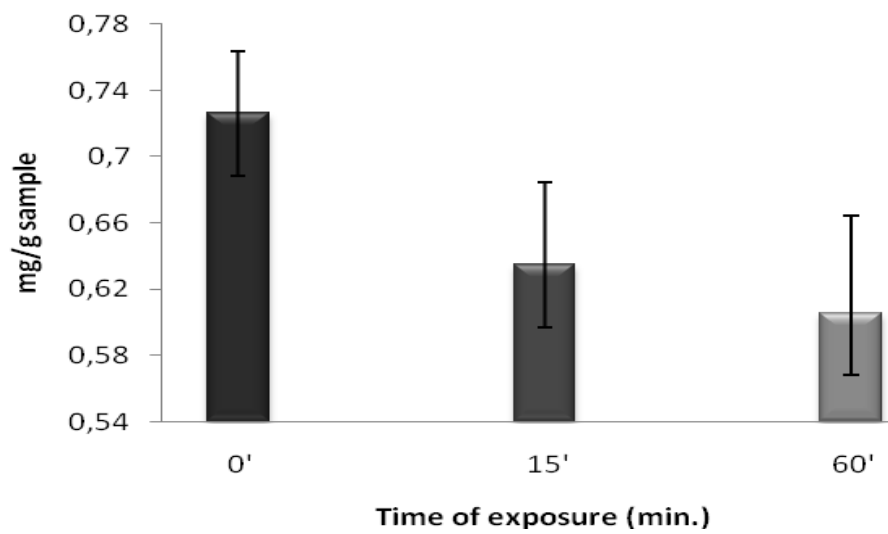
VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M. TELSNER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, p.44–84, 2007.

VAMOS-VIGYAZO, L. Polyphenoloxidase and peroxidase in fruit and vegetables. **CRC C. Rev. Food Sci. Nutr.** v.15, p.49-127, 1981.

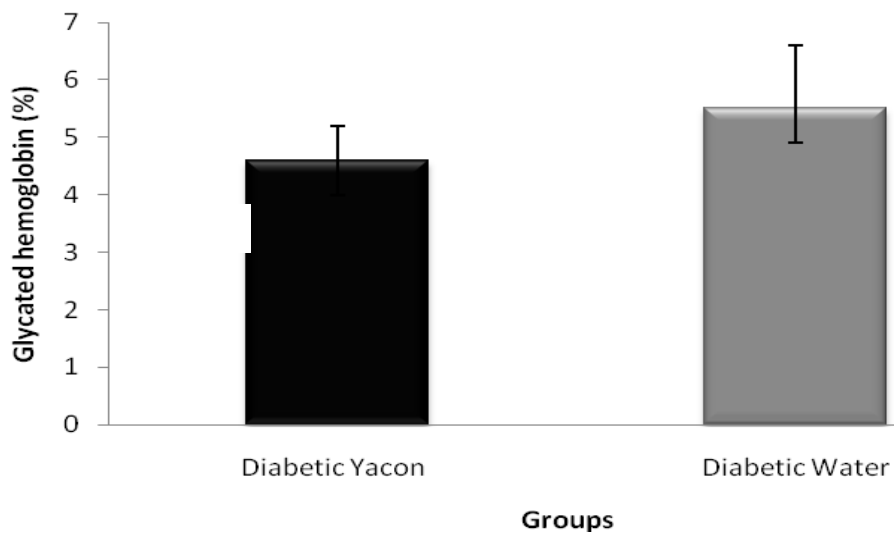
VAMOS-VIGYAZO, L.; NÁDUDVARI-MÁRRUS, V. Enzymatic browning, polyphenol content, polyphenol oxidase and peroxidase activities in pear cultivars. **Acta Alimentaria.** v.11, n.2, p.157-168, 1982.

VEITCH, N. C. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. **Phytochem.** v.65, n. 3, p. 249-259, 2004.

YUN, J. W. Fructooligosaccharides: occurrence, preparation and application. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, p. 107-117, 1996.



**Figure 1.** Total phenolic compounds (mg/g sample) at the different times of exposure to yacon



**Figure 2.** Glycated hemoglobin values (mean  $\pm$  SD).



**Table 1. Animal weight reported as mean  $\pm$  SD (g).**

Group	Initial weight	Final weight	Weight gain
DY	251 $\pm$ 17.7 <sup>a</sup>	333 $\pm$ 59.8 <sup>a</sup>	86.2 $\pm$ 16.9 <sup>a</sup>
DW	229 $\pm$ 18.2 <sup>bA</sup>	333 $\pm$ 50.3 <sup>bB</sup>	119.6 $\pm$ 21.7 <sup>b</sup>

Different lower case superscript letters in the same column and different superscript capital letters on the same line indicate a significant difference between groups ( $p < 0.05$ ). DY = Diabetic yacon ; DW = Diabetic Water.

**Table 2. Animal glycemia reported as mean  $\pm$  SD (mg/dL).**

Group	Initial	Final	Mean per group
DY	420.12 $\pm$ 122.29	418.25 $\pm$ 167.47	381.3 $\pm$ 159.3 <sup>a</sup>
DW	371.87 $\pm$ 129.79	449.69 $\pm$ 128.0	442.9 $\pm$ 141.5 <sup>b</sup>

Different superscript letters in the same column indicate a significant difference between groups ( $p < 0.05$ ). DY= Diabetic Yacon; DW = Diabetic Water.

**Table 3. Mean serum and hepatic lipid peroxidation observed by the analysis of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS).**

	DY	DW
Total hepatic TBARS (nmol/g protein)	21.39 $\pm$ 7.03	27.85 $\pm$ 7.12
Total serum TBARS (nmol/g protein)	41.01 $\pm$ 8.94	49.00 $\pm$ 6.01

Data are reported as means  $\pm$  SD. Different letters on the same line indicate a significant difference between groups ( $p < 0.05$ ) DY = Diabetic Yacon; DW = Diabetic Water.

**Table 4. Mean serum and hepatic reduced glutathione and serum vitamins E and A as indicators of the antioxidant system.**

	DY	DW
Hepatic GSH (nmol/g protein)	2.56 ± 0.85	2.51 ± 1.04
GSH sérico (nmol/ mg protein)	0.96 ± 0.33 <sup>a</sup>	1.63 ± 0.49 <sup>b</sup>
Hepatic vitamin E (nmol/g tissue)	177.34 ± 24.01 <sup>a</sup>	524.99 ± 367.82 <sup>b</sup>
Serum vitamin E (μmol/L)	22.84 ± 6.93	23.92 ± 5.99
Hepatic vitamin A (nmol/g tissue)	714.09 ± 194.2 <sup>a</sup>	1302.55 ± 565.1 <sup>b</sup>
Serum vitamin A (μmol/L)	5.51 ± 1.03	5.92 ± 1.06

Data are reported as means ± SD. Different superscript letters on the same line indicate a significant difference between groups (p<0.05). GSH – reduced glutathione; DY = Diabetic Yacon; DW = Diabetic Water.

**Table 5. Mean serum concentrations of oxaloacetic transaminase (GOT), pyruvic transaminase (GPT), alkaline phosphatase (AP) and  $\gamma$ -glutamyl transferase in the experimental groups.**

	DY	DW
GOT, IU	28.99 ± 1.4	28.37 ± 1.79
GPT, IU	39.18 ± 2.61	41.18 ± 1.92
AP, U/L	94.74 ± 26.75 <sup>a</sup>	144.41 ± 39.75 <sup>b</sup>
$\gamma$ -GT, U/L	256.87 ± 36.46	241.72 ± 33.64

Data are reported as means ± SD. Different superscript letters on the same line indicate a significant difference between groups (p<0.05). DY = Diabético Yacon; DW = Diabetic Water.

## ANEXO A – Certificado de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

— Comissão de Ética em Experimentação Animal —

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para Uso de Animais em Experimentação nº 140/2008, sobre o projeto intitulado “*Yacom (Smallanthus sonchifolius) compostos fenólicos totais, glicemia e estresse oxidativo em ratos normais e diabéticos*”, sob a responsabilidade do **Professor Doutor Anderson Marliere Navarro** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CETEA) em reunião de **30 de outubro de 2008**.

(We certify that the protocol nº 140/2008, about “*Yacon (Smallanthus sonchifolius), phenolic total compounds, glycemia and oxidative stress in normal and diabetic rats*”, agrees with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the COLLEGE OF MEDICINE OF RIBEIRÃO PRETO OF THE UNIVERSITY OF SÃO PAULO – ETHICAL COMMISSION OF ETHICS IN ANIMAL RESEARCH (CETEA) in 10/30/2008 meeting).

Ribeirão Preto, 30 de outubro de 2008.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Eduardo Melani Rocha'.

**Prof. Dr. Eduardo Melani Rocha**  
Presidente da Comissão de Ética em  
Experimentação Animal