

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EXTRAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FRUTANOS DE YACON (*Polymnia
sonchifolia*) NA FUNCIONALIZAÇÃO DE ALIMENTOS**

ROSELI APARECIDA CLAUS BASTOS PEREIRA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU – SP

Novembro – 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EXTRAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FRUTANOS DE YACON (*Polymnia
sonchifolia*) NA FUNCIONALIZAÇÃO DE ALIMENTOS**

ROSELI APARECIDA CLAUS BASTOS PEREIRA

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Cabello

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU – SP

Novembro - 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

P436e Pereira, Roseli Aparecida Claus Bastos, 1963-
Extração e utilização de frutanos de Yacon (*Polymnia sonchifolia*) na funcionalização de alimentos / Roseli Aparecida Claus Bastos Pereira. - Botucatu, [s.n.], 2009.
xii, 138 f. : il., color., gráfs, tabs.

Tese(Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2009

Orientador: Cláudio Cabello

Inclui bibliografia

1. Yacon. 2. Simbiótico. 3. Inulina. 4. Alimento funcional. I. Cabello, Cláudio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"(Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EXTRAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FRUTANOS DE YACON (*Polymnia sonchifolia*) NA FUNCIONALIZAÇÃO DE ALIMENTOS".

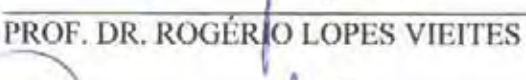
ALUNA: ROSELI APARECIDA CLAUS BASTOS PEREIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO CABELLO

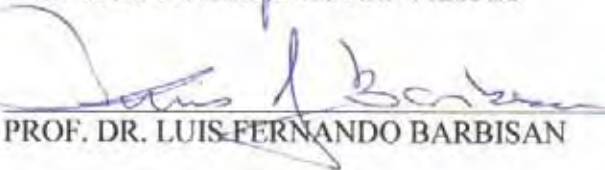
Aprovado pela Comissão Examinadora



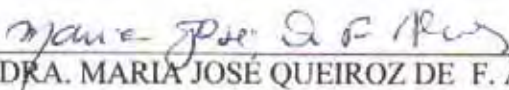
PROF. DR. CLAUDIO CABELLO



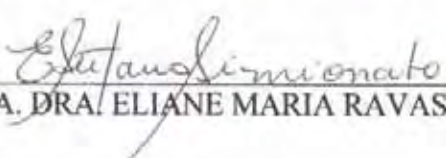
PROF. DR. ROGÉRIO LOPES VIEITES



PROF. DR. LUIS FERNANDO BARBISAN



PROFA. DRA. MARIA JOSÉ QUEIROZ DE F. ALVES



PROFA. DRA. ELIANE MARIA RAVASI S. SIMIONATO

Data da Realização: 19 de novembro de 2009.

A Deus,

“A ti, Senhor, agradeço pela sabedoria que me concedeu durante esse tempo. Sou grata pela Tua constante presença que me deu forças para resistir às dificuldades e alcançar mais uma vitória”.

*Aos meus pais, **Sidinei e Maria,***
pelo amor, exemplos de humildade e honestidade e por acreditarem em mim;

*Ao meu marido, **Antonio Carlos*** pelo incentivo nos
momentos difíceis e compreensão pela minha ausência;

*Ao meu “pequeno grande homem” **Vitor,*** por me
mostrar o verdadeiro sentido da vida: ser mãe.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Cláudio Cabello, por sua orientação, ensinamentos e por me mostrar que sempre somos capazes;

Ao Prof. Dr. Rogério Lopes Vieites pela amizade, apoio e sugestões na execução desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Luis Fernando Barbisan pela colaboração na interpretação da parte histológica, sugestões apresentadas e atenção em todos os momentos.

Ao Sr. Sérgio – Capão Bonito –SP, pelo fornecimento dos tubérculos de yacon;

Ao Luiz, técnico do Laboratório de Análises do CERAT/UNESP pela ajuda na caracterização e produção do yacon em pó e realização das análises de cromatografia;

A Priscila Suman, técnica do Laboratório de Análises do CERAT/UNESP pelo auxílio em algumas análises do yacon;

Ao Douglas e Sérgio, técnicos do Laboratório de Matérias-primas do CERAT/UNESP pelo auxílio na coleta e no processo do yacon;

Ao Biotério da UNESP – Rubião pela doação dos animais;

Ao Paulo César do Laboratório Experimental – UNESP – Rubião pela elaboração da ração;

À amiga Karla Panicci Pedro, docente da Universidade do Sagrado Coração – Bauru –SP pela ajuda na realização das análises bioquímicas;

À amiga Adriane Gasparino dos Santos Uribe, docente do curso de Nutrição da Universidade do Sagrado Coração/Bauru – SP pela realização do sacrifício dos animais;

A Mariele Castilho Pansani, docente da Universidade do Sagrado Coração – Bauru/SP, pela ajuda na realização das análises estatísticas;

A Maira, colaboradora da Universidade do Sagrado Coração, pela realização da parte histológica;

As minhas amigas Paula, Irene, Ivanete e Eloneida, por tantos momentos alegres e pelo carinho;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!!!

*“Muitos são os obstinados que se empenham no caminho que escolheram,
poucos os que se empenham no objetivo.”*

Friedrich Nietzsche

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
RESUMO	1
ABSTRACT	3
1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1 Alimentos funcionais.....	9
2.2 Probióticos.....	13
2.2.1 Grupo <i>Bifidobacterium e Lactobacillus</i>	18
2.3 Prebióticos	20
2.4 Os efeitos atribuídos aos probióticos e prebióticos	22
2.5 Simbióticos.....	23
2.6 Frutanos	24
2.6.1 Aspectos químicos.....	25
2.6.2 Aspectos relacionados à saúde	28
2.6.2.1 Doença metabólica: Diabetes mellito.....	33
2.6.2.2 Doenças cardiovasculares.....	34
2.6.2.3 Dislipidemias	36
2.6.2.4 Neoplasias.....	37
2.6.2.5 Osteoporose	39
2.6.3 Toxicidade	40
2.7 Yacon.....	41
2.7.1 Origem.....	41
2.7.2 Distribuição geográfica e centros de diversidade	42
2.7.3 Características.....	43
2.7.4 Composição química e nutricional	44
2.7.5 Formas de utilização.....	45
2.7.6 Propriedades do yacon.....	46
2.8 Secagem por atomização	49

3 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
3.1 Matéria-prima	54
3.2 Produção do yacon em pó.....	55
3.3 Processo de secagem	57
3.4 Caracterização da matéria-prima	60
3.4.1 Umidade e sólidos solúveis totais.....	60
3.4.2 Cinzas	60
3.4.3 Proteínas	60
3.4.4 Lipídios totais	60
3.4.5 pH	61
3.4.6 Acidez.....	61
3.4.7 Carboidratos totais.....	61
3.4.8 Determinação da concentração de sacarídeos	61
3.4.9 Determinação de cálcio no extrato desidratado de yacon.....	62
3.5 Formulação de dietas a partir de extrato desidratado de yacon	62
3.6 Experimentação animal	67
3.6.1 Protocolo experimental.....	67
3.6.2 Identificação dos animais	69
3.6.3 Sacrifício dos animais e coleta de sangue e fígado	69
3.6.3.1 Exames bioquímicos séricos.....	71
3.6.3.1.1 Colesterol total.....	71
3.6.3.1.2 Glicose	71
3.6.3.1.3 Transaminases	71
3.6.3.1.4 Triglicérides.....	72
3.6.3.2 Análise histológica	72
3.7 Análise estatística	72
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4.1 Escurecimento enzimático do yacon	73
4.2 Controle de temperatura	75
4.3 Balanço de massa da produção do extrato desidratado de yacon.....	76
4.4 Caracterização dos tubérculos de yacon <i>in natura</i> e extrato desidratado de yacon	78

4.4.1 Propriedades físico-químicas	78
4.5 Perfil de açúcares determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) da raiz de yacon <i>in natura</i>	82
4.6 Perfil de açúcares determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato desidratado de yacon	84
4.7 Resultados dos exames físicos e bioquímicos dos animais	86
4.7.1 Ganho de peso dos grupos experimentais	86
4.7.2 Controle de ingestão alimentar e desenvolvimento ponderal.....	88
4.7.3 Peso corpóreo inicial dos ratos machos e fêmeas	90
4.7.4 Peso corpóreo final dos ratos machos e fêmeas	91
4.7.5 Glicemia em ratos machos e fêmeas.....	93
4.7.6 Colesterol total em ratos machos e fêmeas.....	96
4.7.7 Triglicérides em ratos machos e fêmeas.....	98
4.7.8 Aspartato amino transferase (AST) em ratos machos e fêmeas	100
4.7.9 Alanina amino transferase (ALT) em ratos machos e fêmeas.....	102
4.8 Histologia do fígado	104
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	106
6 CONCLUSÕES.....	108
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
ANEXOS.....	133
APÊNDICE.....	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quantidade percentual de inulina em diversos tipos de alimentos.	28
Tabela 2 - Benefícios específicos dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos pela microbiota intestinal	48
Tabela 3 - Composição das respectivas rações elaboradas.....	63
Tabela 4 - Composição do complexo mineral – mistura salina, utilizado como fonte de micronutrientes das dietas preparadas	64
Tabela 5 - Composição do complexo vitamínico utilizado como fonte de micronutrientes das dietas preparadas.....	65
Tabela 6 - Caracterização química e físico-química do yacon in natura.	78
Tabela 7 - Caracterização química e físico-química do extrato desidratado de yacon.....	80
Tabela 8 - Composição relativa percentual de sacarídeos e respectiva concentração em peso seco observados em amostras de raiz de yacon.....	84
Tabela 9 - Composição relativa percentual de sacarídeos e respectiva concentração em peso seco observados em amostras de extrato desidratado de yacon	86
Tabela 10 - Valores do consumo médio diário das dietas (CMD), ganho médio diário (GMD) e coeficiente de eficácia alimentar (CEA) dos ratos machos durante os 59 dias de experimento	89
Tabela 11 - Valores do consumo médio diário das dietas (CMD), ganho médio diário (GMD) e coeficiente de eficácia alimentar (CEA) dos ratos fêmeas durante os 59 dias de experimento	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reações dos ingredientes alimentares probióticos e prebióticos com a microbiota intestinal, relativo a seus efeitos a saúde	15
Figura 2 - Classificação dos frutanos segundo a estrutura química ..	26
Figura 3 – Raízes, folha e flor de yacon.....	42
Figura 4 - Yacon desidratada.....	46
Figura 5 - Esquema de funcionamento do “spray-drier”.....	52
Figura 6 – Raízes de yacon – Capão Bonito - SP.....	55
Figura 7 - Reator com raízes de yacon..	56
Figura 8 - Filtro à vácuo utilizado no processo	57
Figura 9 - Fluxograma do processamento dos tubérculos de yacon.....	58
Figura 10 - Secador tipo “spray-drier”utilizado na secagem do extrato desidratado de yacon	59
Figura 11 - Misturador industrial CAF Modelo M60.....	66
Figura 12 - Ração peletizada	67
Figura 13 - Ração elaborada manualmente.	67
Figura 14 - Animais utilizados no experimento.	69
Figura 15 - Exsanguinação através de punção cardíaca	70
Figura 16 - Extrato desidratado de yacon com 5% de maltodextrina seco em spray-drier	74
Figura 17 - Pó fino aderente as paredes do spray-drier	76
Figura 18 - Extrato desidratado de yacon arrastado para o ciclone de descarga.....	76
Figura 19 - Balanço de massa da produção do extrato desidratado de yacon	77
Figura 20 - Cromatograma de yacon <i>in natura</i> discriminando os perfis dos açúcares	83
Figura 21 - Cromatograma do extrato desidratado de yacon discriminando os perfis dos açúcares	85
Figura 22 - Evolução do ganho de peso corporal dos animais dos grupos machos nos três grupos experimentais.....	87
Figura 23 - Evolução do ganho de peso corporal dos animais dos grupos fêmeas nos três grupos experimentais.....	88

Figura 24 - Peso corpóreo inicial dos ratos machos nos três grupos experimentais	90
Figura 25 - Peso corpóreo inicial dos ratos fêmeas nos três grupos experimentais	91
Figura 26 - Peso corpóreo final dos ratos machos nos três grupos experimentais	92
Figura 27 - Peso corpóreo final dos ratos fêmeas nos três grupos experimentais.....	93
Figura 28 - Glicemia dos ratos machos nos três grupos experimentais	94
Figura 29 - Glicemia dos ratos fêmeas nos três grupos experimentais	95
Figura 30 - Colesterol total nos ratos machos nos três grupos experimentais	97
Figura 31 - Colesterol total nos ratos fêmeas nos três grupos experimentais	98
Figura 32 - Triglicérides em ratos machos nos três grupos experimentais	99
Figura 33 - Triglicérides em ratos fêmeas nos três grupos experimentais	100
Figura 34 – Aspartato amino transferase em ratos machos nos três grupos experimentais ...	101
Figura 35 – Aspartato amino transferase em ratos fêmeas nos três grupos experimentais	102
Figura 36 – Alanina amino transferase em ratos machos nos três grupos experimentais	103
Figura 37 – Alanina amino transferase em ratos fêmeas nos três grupos experimentais	104
Figura 38 - Cortes histológicos de fígados corados com HE e sem alterações histológicas (200x)	105
Figura 39 – Molde com fígado.	136

LISTA DE ABREVIATURAS

C	Grupo experimental controle
Y	Grupo experimental com extrato desidratado de yacon
YB	Grupo experimental com extrato desidratado de yacon + <i>bifidum</i>
ALT	Alanina amino transferase
AST	Aspartato amino transferase
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
INCA	Instituto Nacional do Câncer
OMS	Organização Mundial da Saúde
FAO	Food and Agriculture Organization
DCV	Doenças Cardiovasculares

RESUMO

Atualmente, o consumidor está cada vez mais exigente por alimentos nutritivos e higienicamente seguros. Estudos têm sido conduzidos para o desenvolvimento de novos produtos e para assegurar as propriedades e os efeitos dos alimentos funcionais sobre o organismo humano. O yacon pode ser considerado alimento funcional pelo seu teor de frutooligossacarídeos (FOS), os quais não são digeridos pelo organismo humano, passando inertes através do trato digestório, fornecendo poucas calorias. Diante da crescente exigência do consumidor e da importância de se obter produto de valor agregado (simbiótico = yacon e *bifidum*), este estudo teve por objetivos verificar os adequados procedimentos para a extração e purificação de frutanos de yacon na utilização da funcionalização de alimentos definindo um protocolo dos procedimentos para produção de uma base alimentar contendo frutanos consorciados com probióticos *Bifidobacterium bifidum* e avaliar qualitativa e quantitativamente a ação funcional da base alimentar projetada em modelo experimental. O processo de aquecimento do yacon foi feito à 90°C por 10 minutos, utilização de 0,5% de ácido cítrico e pré-capa com diatomácea CA/150 e CA/500 resultando na secagem em um produto de coloração clara. O controle das condições de temperatura na entrada (<250°C) e

saída (<110°C) resultou em menor gasto de energia, clareamento do produto e baixa porcentagem de umidade. Para a avaliação do efeito do extrato desidratado de yacon com *Bifidobacterium bifidum* sobre desenvolvimento ponderal, glicemia, colesterol total, triglicérides, alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST), histologia do fígado, 24 ratos Wistar foram tratados por 59 dias. O ensaio foi conduzido com 8 animais (sendo 4 machos e 4 fêmeas) para cada grupo experimental: controle, extrato desidratado de yacon e extrato desidratado de yacon com *bifidum*. O sacrifício dos animais foi realizado no 60º dia, antecedendo 12 horas de jejum, sendo o sangue coletado por exsanguinação através de punção cardíaca para a realização dos exames bioquímicos séricos. O fígado foi coletado para análise histológica. Os resultados obtidos permitiram concluir que os ratos machos e fêmeas do grupo com extrato desidratado de yacon e *bifidum* (YB) apresentaram maior ganho de peso, podendo ser atribuído a maior ingestão de ração e melhor absorção de nutrientes. A ração com extrato desidratado de yacon (32%) e *bifidum* (com população estimada de 2.0×10^9 UFC g⁻¹ ração) diminuiu significativamente as taxas de colesterol total e não interferiu na dosagem de triglicérides. A ingestão das rações não interferiu nos níveis de AST em ratos machos nos três grupos experimentais, pois não houve significância estatística entre os grupos. Entretanto, nas fêmeas nos grupos Y e YB ocorreu diferença estatisticamente significativa, demonstrando que a ração com extrato desidratado de yacon e *bifidum* diminuiu a taxa de AST consideravelmente, o mesmo acontecendo com as concentrações de ALT em ratos fêmeas entre os grupos C e YB. Não foram observadas alterações histológicas indicativas de toxicidade hepática nos diferentes grupos experimentais, independentemente do tratamento dos animais com yacon. Os ensaios experimentais indicaram que o extrato desidratado de yacon utilizado não afetou qualitativamente as rações administradas aos grupos experimentais indicando que os procedimentos de sua produção foram adequados, tornando-o um alimento promissor e com grande potencial no mercado.

Palavras chave: yacon, simbiótico, inulina, alimento funcional

EXTRATION AND UTILIZATION OF YACON (*Polymnia sonchifolia*) FRUCTANS TO FUNCTIONALIZATION IN FOOD PRODUCTS

Botucatu, 2009. 138p.

Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: ROSELI APARECIDA CLAUS BASTOS PEREIRA

Adviser: Prof. Dr. CLÁUDIO CABELLO

ABSTRACT

Nowadays, consumers demand more nutritional and hygienically safe food products. Studies have led to the development of new products, guaranteeing the properties e effects of functional food products on humans. Yacon may be considered a functional product, owing to its fructooligosaccharides (FOS) content, which is not metabolized by the human organism, passing inertly through the digestive tract, providing a few calories. Before the growing consumer's demand and the importance of an aggregated- value product (symbiotic = yacon and *bifidum*), this study aimed at verifying the suitable procedures for the extraction and purification of yacon fructans to functionalization in food products, thus defining a protocol for the production of a food basis containing fructans along with probiotic *Bifidobacterium*

bifidum, and assess both qualitatively and quantitatively the functional action of the food basis projected in an experimental model. Yacon was heated at 90°C, for 10 minutes, with 0,5% of citric acid and Diatomacea CA/150 and CA/500 pre-cover, resulted, in the drying, in a clear coloration product. The control of temperature conditions at the beginning (<250°C) and at the end (<110°C) resulted in less energy expenditure, whitening of the product and low humidity percentage. To asses the effect of dehydrated extract of yacon with *Bifidobacterium bifidum* on ponderal development, glycemia, total cholesterol, triglycerides, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), liver histology, 24 Wistar rats were treated for 59 days. The experiment was carried out with 8 animals (4 males and 4 females) for each group: control, dehydrated extract of yacon and dehydrated extract of yacon with *bifidum*. The animals were sacrificed on the 60th day, and the blood was collected through exsanguination (cardiac puncture), for seric biochemical exams to be performed. The liver was collected for histological analysis. The results allowed the conclusion that the male and female rats in group YB presented a greater weight gain, which may be attributed to the larger ration ingestion. The ration with dehydrated yacon extract (32%) and *bifidum* (estimated population of 2.0×10^9 UFC g⁻¹ ration) significantly diminished the total cholesterol levels and did not interfere in the triglycerides dosage. The rations did not interfere in the AST dosage, in the male rats of the three experimental groups, for no statistic significance was seen among the groups. However, a statistically significant difference was seen for female rats in groups Y and YB, demonstrating that the ration with dehydrated extract of yacon and bifidum diminished the AST rate, considerably, the same happening with the ALT concentrations, in female rats, between groups C and YB. No histological alterations indicating hepatic toxicity were observed, in the different experimental groups, regardless of the treatment with yacon. The experimental trials indicated that the dehydrated extract of yacon utilized did not qualitatively affect the rations administered to the experimental groups, indicating that the procedures for its production were adequate, making it a promising food product, with a great market potential.

KEYWORDS: yacon, symbiotic, inulin, food functional.

1 INTRODUÇÃO

O yacon é uma espécie da família *Asteraceae* sendo natural das regiões andinas. Pode ser considerado um alimento funcional, pois as raízes têm alto conteúdo de inulina e frutooligossacarídeos (FOS), os quais não podem ser hidrolisados pelo organismo humano, atravessando o trato digestório sem serem metabolizados, possuindo o efeito de fibra alimentar (Universidade Nacional Agrária La Molina, 2005).

O desenvolvimento de novos produtos alimentícios torna-se cada vez mais desafiador, à medida que procura atender à demanda dos consumidores por produtos que, concomitantemente, sejam saudáveis e atrativos (KOMATSU et al, 2008).

Os frutanos são polímeros de D-frutose unidos por ligações tipo β (2 $\rightarrow$ 1) e tendo uma glicose na extremidade da cadeia. São reconhecidos como uma classe de carboidratos vegetais há aproximadamente 200 anos e depois do amido e da sacarose são os de maior ocorrência entre as plantas (RIBEIRO, 1993).

O interesse pelos frutanos continua a aumentar desde sua descoberta pela indústria alimentícia como um ingrediente alimentar saudável. Da mesma forma que o amido e a sacarose, os frutanos estão naturalmente presentes em muitas plantas como carboidratos de reserva (RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

Várias espécies de plantas que contém frutanos são vegetais, geralmente comestíveis como: aspargos, alho, salsão, cebola, alcachofra, alcachofra de Jerusalém, raízes de chicória. Apenas um número limitado de espécies é próprio para a industrialização e usos não alimentares (FLAMM et al, 2001).

Os frutanos são frequentemente armazenados em órgãos especializados, por exemplo, na raiz mestra da chicória, nos tubérculos da dália, nos bulbos da tulipa e na cebola (RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

Um dos frutanos mais simples é a inulina, a qual consiste principalmente de ligações β (2 $\rightarrow$ 1) frutossil-frutose. Dentro dos frutanos do tipo inulina estão dois grupos gerais de materiais, inulina e seus subconjuntos oligofrutose e frutoligossacarídeos (FOS). A oligofrutose e FOS são termos sinônimos usados para se referir aos frutanos tipo inulina com um grau de polimerização (GP) máximo inferior a 10 (CARABIN; FLAMM, 1999).

A inulina e a oligofrutose são amplamente utilizados na Europa como dieta de fibras em uma variedade de alimentos (FLAMM et al, 2001).

As espécies de plantas usadas atualmente pela indústria alimentícia para a produção de inulina pertencem à Compositae: a alcachofra de Jerusalém e chicória (FLAMM et al, 2001).

Os possíveis benefícios dos frutanos do tipo inulina para a saúde humana têm sido estudados por mais de uma década, sendo considerados alimentos funcionais. A inulina é uma fibra alimentar solúvel não digerível no trato digestório humano. Possui qualidade prebiótica, pois é fermentada preferencialmente por bactérias intestinais benéficas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no intestino, desta forma alterando a flora bacteriana, sendo que as bactérias patogênicas se tornam menos abundante (RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

Probióticos são “microrganismos vivos que quando ingeridos agem de maneira benéfica, melhorando o equilíbrio intestinal do animal hospedeiro” (FULLER, 1994; OLIVEIRA et al., 2002).

Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são considerados os microrganismos probióticos clássicos, e atuam em sítios diferentes no trato digestório. Esse conhecimento é importante para que tipo de produto e maneira de consumo possa maximizar o efeito funcional esperado (FERREIRA, 2003). Os simbióticos proporcionam a ação conjunta de prebióticos e probióticos.

Estudos recentes identificaram muitos atributos benéficos aos frutanos: controle da constipação, melhora da composição da flora intestinal, estimulação da absorção de cálcio (prevenção da osteoporose), modulação do metabolismo de lipídeos e prevenção de câncer de cólon (RITSEMA; SMEEKENS, 2003). Todos estes efeitos são geralmente considerados como promotores da saúde e são as razões pela qual a inulina é um dos ingredientes alimentícios funcionais mais promissores descobertos até hoje.

Segundo definiu a American Dietetic Association (ADA) em 1995: “alimento funcional é qualquer alimento modificado ou ingrediente alimentar que pode fornecer benefícios à saúde, além dos nutrientes que normalmente contém” (BLOCH; THOMSON, 1995). E, posteriormente, em 1999: “alimentos funcionais são alimentos (*in natura*, fortificados ou enriquecidos) potencialmente benéficos para a saúde quando consumidos regularmente, como parte de uma dieta variada, e em níveis efetivos” (ADA, 1999).

Já o Consenso Europeu define como: “um alimento pode ser considerado como funcional se os benefícios sobre uma ou mais funções orgânicas forem satisfatoriamente demonstradas, além de seus valores nutricionais, e de um modo relevante, tanto para a promoção da saúde e bem-estar quanto para a redução de riscos de doenças. Os alimentos funcionais devem permanecer como alimentos, e seus efeitos devem ser demonstrados em quantidades que possam ser normalmente ingeridos em uma dieta; não são pílulas ou cápsulas, mas componentes normais de um padrão alimentar” (BELISLE et al., 1999).

Diante da crescente exigência do consumidor por produtos que tragam benefícios à saúde, e da importância de se obter um produto de valor agregado (simbiótico = yacon e *bifidobacterium*), este estudo teve por objetivos verificar os procedimentos mais adequados para a extração e purificação de frutanos de yacon na utilização da funcionalização de alimentos, definindo um protocolo dos procedimentos para produção de uma base alimentar contendo frutanos consorciados com probióticos do gênero *Bifidobacterium bifidum* e avaliar qualitativa e quantitativamente a ação funcional da base alimentar projetada em modelo experimental.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alimentos Funcionais

Não há uma definição universal para os alimentos funcionais, entretanto, várias organizações buscam defini-los.

Surgido no Japão, na metade da década de 80, o conceito se refere a um grupo especial de alimentos conhecidos como “alimentos para uso específico de saúde” ou FOSHU (foods for specific health use) (ARAI, 1996; ROBERFROID, 2000).

O *International Food Information Council* (IFIC) define os alimentos funcionais como aqueles que promovem efeitos benéficos à saúde, além daqueles que os nutrientes tradicionais exercem (ADA, 1999).

Para elaborar o conceito de “alimentos funcionais”, a Ação Concertada da Comissão Européia, conhecida como *Functional Food Science in Europe* (Ciência de Alimentos Funcionais na Europa = FUFOSSE), considerou as seguintes características:

- Alimento convencional/diário ou ingrediente alimentar;
- Ocorrência natural nos alimentos;

- Comprovação do(s) efeito(s) benéfico(s) nas funções-alvo, além de valor nutritivo/nutrição básica;
- Comprovação de melhora do bem estar e da saúde e/ou redução do risco de doença, e/ou aumento da qualidade de vida, incluindo desempenho físico, psicológico e comportamental (ROBERFROID, 2005).

Embora há muito tempo sabe-se que os alimentos têm um papel importante na manutenção da saúde e na longevidade, nunca, como nas últimas duas décadas, tem-se pesquisado tanto sobre os componentes e sua ação em nosso organismo (TAIPINA et al, 2002).

Por causa das novidades e de interesses específicos geram-se para esses novos produtos diversos conceitos que refletem várias tendências. Os mais usuais são “alimentos funcionais” ou “alimentos com alegações de funcionais ou de saúde”. Para os ingredientes ativos os termos mais adequados são fitoquímicos ou compostos bioativos. No Japão, fala-se ainda, em “função terciária dos alimentos”: a primária seria a função organoléptica, a secundária, nutricional e a terciária aquela associada à manutenção de uma saúde ótima e à prevenção de doenças futuras (LAJOLO, 2002).

Os principais grupos de compostos biologicamente ativos atualmente conhecidos são: fibras solúveis e insolúveis, flavonóides, carotenóides, fitoesteróis, fitoestanois, ácidos graxos (Ômega 3 e Ômega 6), prebióticos e probióticos (TORRES; MACHADO, 2001).

Devido a grande variedade de produtos alimentícios serem ou serão, no futuro, caracterizados como “alimentos funcionais” com grande diversidade de componentes, afetando uma variedade de funções no organismo relevantes para o estado de bem-estar e saúde e/ou redução do risco de doenças, o termo alimento funcional não corresponde a nenhuma categoria bem definida ou caracterizada. Ao invés disso, deve ser entendido como um conceito único. Pertence à nutrição e não a farmacologia e merece uma categoria própria, uma categoria diferente da nutracêutica ou farmacêutica de alimentos. Alimentos funcionais são e devem ser alimentos, e não fármacos. Eles não têm efeitos terapêuticos. Entretanto, seu papel com relação a doenças, na maioria dos casos, é o de reduzir o seu risco (ROBERFROID, 2002b).

Há tendência em se diferenciar o termo “alimento funcional” de “nutracêutico”. Em 1999, Zeisel propôs que “nutracêutico” seja utilizado somente para suplementos contendo o ingrediente ativo do alimento, geralmente consumidos em quantidades superiores às obtidas em alimentação normal. Esta diferença pode ser útil, considerando que o mercado de suplementos à base de substâncias alimentares bioativas (incluindo antioxidantes, fitoterápicos e ergogênicos) está em expansão, e atrai número cada vez maior de consumidores.

A Portaria nº 15 de 30/04/99 (BRASIL, 1999), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), define que alimento funcional é: “todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica.

De acordo com Roberfroid (2002a), alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções no organismo, além de possuir os efeitos nutricionais, de maneira que seja relevante tanto para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de determinadas doenças. O objetivo primário dos alimentos funcionais é melhorar, manter e reforçar a saúde dos consumidores via alimentação.

Os alimentos funcionais representam união da farmacologia com a tecnologia de alimentos na busca de melhor qualidade de vida, baseada na alimentação. Isso vem sendo reconhecido pelo consumidor moderno, que tem procurado com mais frequência esse tipo de produto nas prateleiras dos mercados. Evidentemente, esses alimentos não podem ser encarados como solução única, mas sim como mais um auxílio que os avanços tecnológicos e científicos colocam à disposição (SKLIUTAS, 2002).

Os consumidores estão mais informados e conscientes sobre assuntos relativos à alimentação e à saúde. Assim, eles estão interessados em alimentos que provêm benefícios à saúde e esperam que esses alimentos sejam convenientes, acessíveis e com sabor agradável (NINESS, 1999).

Atualmente há um crescente interesse pelo consumo de alimentos funcionais. Eles apresentam características que atraem ao consumidor: são alimentos naturais que além de nutrir, trazem benefícios adicionais à saúde, e podem ser facilmente incluídos na

dieta. A demanda dos consumidores por alimentos nutritivos e higienicamente seguros está crescendo mundialmente. Na cadeia produtiva de alimentos há grandes perdas por infestação, contaminação e deterioração. Dentre os processos que podem ser aplicados, a irradiação surge como uma tecnologia útil e competitiva em numerosas aplicações (TAIPINA et al, 2003).

São vários os fatores que vêm estimulando o desenvolvimento de alimentos funcionais ao longo dos últimos anos. Destacam-se principalmente: o aumento da expectativa de vida em países desenvolvidos, o elevado custo dos serviços de saúde, os avanços na tecnologia de alimentos e ingredientes, a necessidade que as instituições públicas de pesquisa têm em divulgarem os resultados de suas investigações e a maior cobertura dos diferentes tipos de mídia dada a essas descobertas e às questões de saúde (ARVANITOYANNIS; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, 2005).

Uma gama de alimentos transformados, com a propriedade de proporcionar benefícios saudáveis, surgiu no mercado graças à indústria alimentícia (BELLO, 1995).

Machado e Santiago (2001) relatam que a viabilidade da criação de alimentos funcionais e as expectativas de elevado retorno financeiro neste mercado promissor têm incentivado volumosos investimentos da indústria alimentícia, tanto em pesquisa e desenvolvimento quanto em propaganda e marketing, provocando polêmicas e discussões dentro da comunidade científica e causando dúvidas ao consumidor quanto a eficácia dos produtos desenvolvidos.

O consumo de alimentos considerados como funcionais tem aumentado vertiginosamente nos países desenvolvidos. Nos Estados Unidos, o consumo dobrou de 1997 a 2004 e, na Europa, triplicou de 12 bilhões de dólares em 1997 para 34 bilhões de dólares em 2004. Sem dúvida, estamos na segunda era de ouro da nutrição, tanto no que se refere à ampliação de conhecimento e, conseqüentemente, à melhoria da saúde da população mundial, como no aspecto econômico, pois a indústria de alimentos possui um grande potencial financeiro e de desenvolvimento (VIGGIANO, 2005).

Especificamente na América Latina, a população de modo geral não tem conhecimento sobre alimentos funcionais, apesar de existir crescente conscientização da importância de boa alimentação e dos cuidados com a saúde. No entanto, ainda é necessário maior investimento em pesquisa, de modo a se aproveitar melhor a biodiversidade regional na

busca por produtos saudáveis. Falta ainda, por parte da comunidade científica e governamental, criar regulamentação oficial com respeito aos alimentos funcionais, sendo que os poucos códigos existentes focam apenas em segurança e eficácia alimentar (LAJOLO, 2002).

A Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais (SBAF) foi criada para ajudar e fazer parte dessa relação. Entre as suas funções, está a de promover e incentivar pesquisas, de forma que se encontrem novos benefícios em novos alimentos. A primeira missão da sociedade é difundir, junto aos profissionais da saúde, a empresários e à população em geral, o conceito e a importância dos alimentos funcionais (SALGADO, 2005).

As perspectivas da América Latina como um produtor potencial e consumidor de alimentos funcionais irá depender amplamente do nível de informação e renda da população, credibilidade dos produtos, investimentos em pesquisa e práticas regulamentadoras (LAJOLO, 2002).

Segundo Roberfroid (2000), produto alimentar pode vir a ser funcional se:

- houver eliminação de componentes que possam causar efeito não desejável;
- a concentração de um componente naturalmente presente que tem efeito benéfico seja aumentada (fortificação);
- houver adição de algum componente que não está normalmente presente, não sendo necessariamente um macronutriente ou micronutriente, mas que tenha efeito benéfico (antioxidante não vitamínico ou prebiótico);
- algum componente usualmente presente seja substituído, em geral um macronutriente (exemplo gordura), cuja ingestão é usualmente excessiva;
- ocorrer aumento da biodisponibilidade ou estabilidade de um componente conhecido por produzir efeito funcional ou reduzir risco de doença.

2.2 Probióticos

O trato gastrointestinal humano é um micro-ecossistema cinético que possibilita o desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro, a menos que

microrganismos prejudiciais e potencialmente patogênicos dominem. Manter equilíbrio apropriado da microbiota pode ser assegurado por suplementação sistemática da dieta com probióticos, prebióticos e simbióticos (BIELECKA et al, 2002).

A microbiota contém cerca de 100 trilhões de bactérias pertencentes a mais de 400 espécies diferentes (CUMMINGS; MACFARLANE, 1991).

Esses microrganismos convivem em relações simbióticas ou antagônicas, crescendo nos componentes de alimentos que são ingeridos ou nas secreções do trato intestinal do hospedeiro (MITSUOKA, 1992).

Segundo Crittenden (1999), é possível aumentar o número de microrganismos promotores da saúde no trato gastrointestinal através da introdução de probióticos pela alimentação ou com o consumo de suplemento alimentar prebiótico, que vai modificar seletivamente a composição da microbiota, fornecendo ao probiótico vantagem competitiva sobre outras bactérias do ecossistema.

Ziemer e Gibson (1998) mencionam que em virtude desse fato, nos últimos anos, o conceito de alimentos funcionais passou a concentrar-se de maneira intensiva nos aditivos alimentares que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal. Os prebióticos e os probióticos são atualmente os aditivos alimentares que compõem a maioria dos alimentos funcionais (Figura 1).

Segundo Goldin (1998), a palavra probiótico foi introduzida por Lilley e Stillwell, em 1965, para descrever microrganismos que desempenham atividades benéficas.

A definição mais aceita e usada de probiótico foi proposta por Fuller (1989), isto é, suplemento alimentar à base de microrganismos vivos, que afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o balanço de sua microbiota intestinal.

Atualmente a definição aceita internacionalmente é que eles são microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002; SANDERS, 2003).

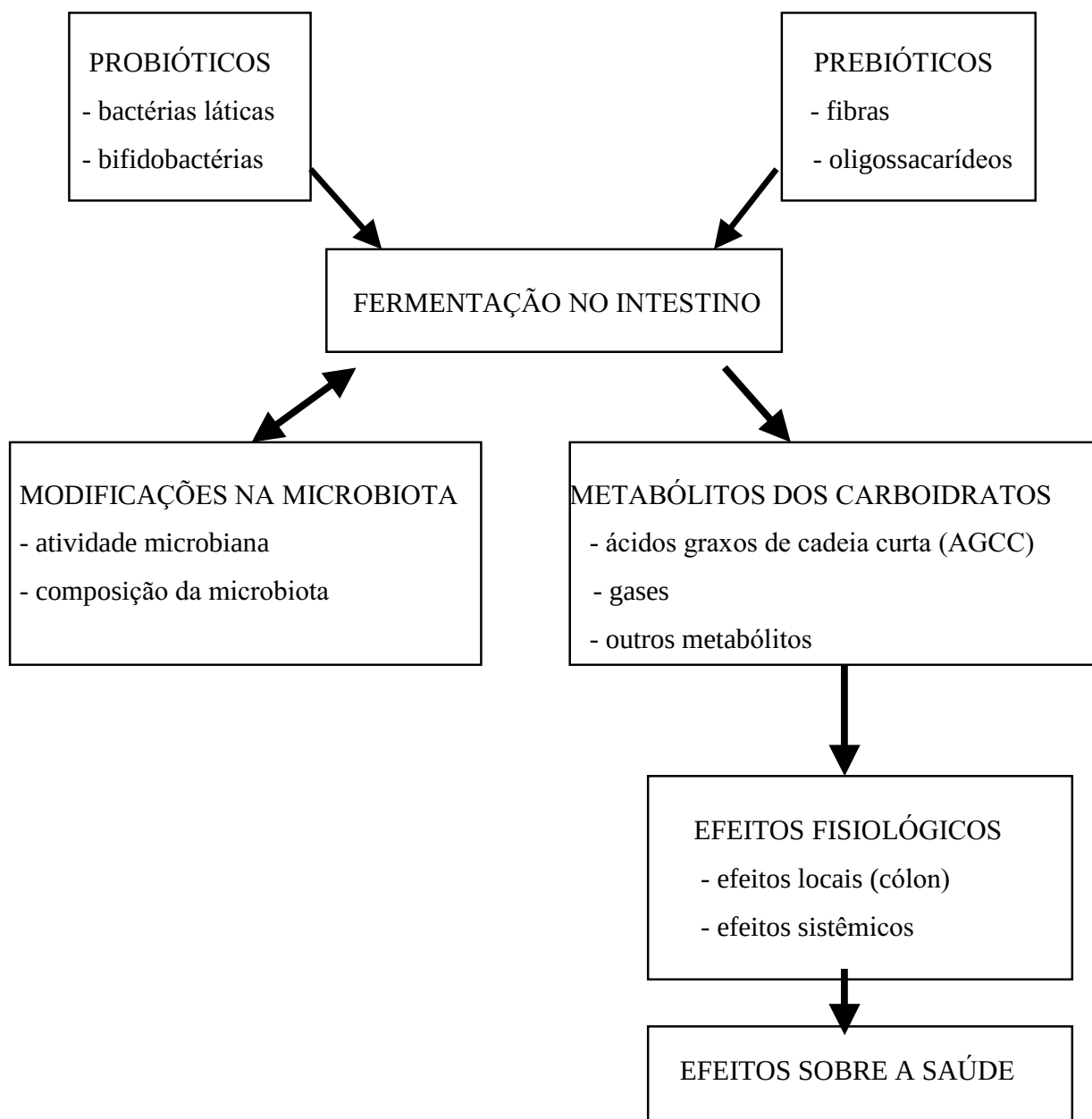


Figura 1. Reações dos ingredientes alimentares probióticos e prebióticos com a microbiota intestinal, relativo a seus efeitos a saúde. Adaptado de Puupponen-Pimiã et al. (2002).

Gibson e Roberfroid (1995) definem probióticos como sendo alimentos ou suplementos alimentares contendo lactobacilos e/ou bifidobactérias viáveis, administradas na dieta com o objetivo de colonizar o intestino, promover balanceamento entre as espécies

naturais e garantir população funcional capaz de promover os efeitos desejados sobre o metabolismo do organismo.

Ferreira, 2003 menciona que para atingirem os sítios intestinais específicos, as bactérias probióticas deverão possuir uma ou mais das seguintes características:

- Origem humana;
- Resistência ao suco gástrico;
- Resistência à bile.
- Capacidade de adesão ao epitélio;
- Resistência a lisozima;
- Resistência às condições de processamento;
- Concentração adequada do microrganismo probiótico no momento

de consumo.

A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em aumento de resistência contra os patógenos. Assim, a utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (PUUPPONEN-PIMIÃ et al, 2002).

Os alimentos probióticos fazem parte do mercado de alimentos funcionais, que vem crescendo vertiginosamente. Estes alimentos estão disponíveis em vários formatos como formulações para animais, produtos farmacêuticos, produtos de confeitaria e produtos lácteos fermentados ou não. Em 1994, o mercado global dos probióticos movimentou US\$6,6 bilhões, liderado pelo Japão, responsável por mais de US\$3,3 bilhões. No ano de 2000, ultrapassou US\$ 17 bilhões, com maior disponibilidade desses produtos nos Estados Unidos da América, onde a formatação da legislação para esses produtos é mais favorável do que na Europa e Japão. Em 2003 movimentou um mercado de mais de US\$20 bilhões (FERREIRA, 2003).

Estima-se que o mercado de alimentos funcionais esteja em volta de US\$ 60 bilhões no mundo (Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres – ABIAD, 2008).

Um microrganismo probiótico deve necessariamente sobreviver às condições do estômago e colonizar o intestino, mesmo que temporariamente, por meio de adesão ao epitélio intestinal (ZIEMER; GIBSON, 1998; LEE et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2002).

Ferreira (2003) relata que, universalmente, os probióticos são consumidos para manter e promover o balanceamento da microbiota intestinal. Uma microbiota desejável equilibrada influencia:

- a transformação de moléculas produzidas pelo hospedeiro;
- o estado fisiológico do trato intestinal do hospedeiro, por meio da modulação da taxa de renovação de células epiteliais;
- modulação do estado imunológico do hospedeiro.

Distúrbios nesse equilíbrio que resultam de dieta, consumo de drogas, situações de estresse, tratamentos quimioterápicos, tratamentos com antibióticos, provocam diferentes problemas gastrointestinais. Nas diferentes regiões do trato intestinal estão presentes grupos específicos de microrganismos como bactérias bífidas (predominância no cólon) e lactobacilos (predominância no intestino delgado), que modulam a microbiota num microambiente, por meio de seus produtos de metabolismo (FERREIRA, 2001).

Para garantir um efeito contínuo, os probióticos devem ser ingeridos diariamente (SAAD, 2006).

Ferreira (2003) menciona que a adição de bactérias probióticas aos produtos lácteos exige uma série de cuidados. Produtos lácteos probióticos devem ser produzidos com as mesmas tecnologias empregadas no processamento dos produtos não probióticos (para não descaracterizá-los), e ainda assim garantir a sua funcionalidade. Alguns fatores podem ser citados para o direcionamento do processo desses produtos:

- adequação da cultura levando em conta o público alvo: criança/adulto/idoso;
- funcionalidade esperada, espécie relacionada ao intestino grosso/delgado;
- sobrevivência em leite;
- produção de ácido na taxa esperada, ou ser carregada na forma concentrada;

- não alterar o sabor característico do produto;
- resultar em produto com textura adequada;
- a cultura deverá ser resistente à acidez do produto e às rápidas mudanças de pH após ingestão;
- deve resistir a presença de bile e de outras secreções intestinais;
- o produto deverá ser eficaz no carregamento da cultura, cujos níveis mínimos deverão ser 10^6 UFC g⁻¹ para *Lactobacillus ssp* e 10^7 UFC g⁻¹ para *Bifidobacterium ssp*.

Alterações favoráveis na composição de microbiota intestinal foram observadas com doses de 100g do produto contendo 10^9 UFC de microrganismos probióticos, geralmente com administração durante o período de 15 dias (SAAD, 2006)

Assim sendo, para serem de importância fisiológica ao consumidor, a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC g⁻¹ do produto pronto para o consumo (ANVISA, 2009).

2.2.1 Grupo *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*

Bactérias pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e, em menor escala, *Enterococcus faecium*, são mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável. O íleo terminal e o cólon parecem ser, respectivamente, o local de preferência para colonização intestinal dos lactobacilos e bifidobactérias (CHARTERIS et al., 1998; BIELECKA et al, 2002).

Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são considerados os microrganismos probióticos clássicos, e atuam em sítios diferentes no trato intestinal. Esse conhecimento é importante para que tipo de produto e maneira de consumo possam maximizar o efeito funcional esperado. Os alimentos lácteos são carreadores universais dos probióticos, e essas bactérias não crescem bem no leite, exigindo estratégias tecnológicas para seu carregamento no alimento, mantendo os números necessários para inferir o seu efeito funcional (FERREIRA, 2003).

Quanto aos probióticos, estudos clínicos controlados com lactobacilos e bifidobactérias não revelaram efeitos maléficos causados por esses microrganismos. Efeitos benéficos causados por essas bactérias foram observados durante o tratamento de infecções intestinais, incluindo a estabilização da barreira da mucosa intestinal, prevenção da diarreia e melhora da diarreia infantil e da associada ao uso de antibióticos (LEE et al., 1999).

Dellaglio et al., 1994 apud Ferreira, 2003 mencionam que o gênero *Bifidobacterium* foi primeiramente isolado de fezes infantis, por Tissier (1990). Este primeiro isolado recebeu o nome de *Bacillus bifidus communis*. Posteriormente foi redenominado para *Lactobacillus bifidus*, e finalmente a espécie foi reconhecida como um gênero à parte, *Bifidobacterium*, agregando atualmente mais de 35 espécies reconhecidas.

Várias espécies são empregadas como probióticos, sendo as principais: *B. bifidum*, *B. infantis*; *B. longum*, *B. breve*, *B. lactis* e *B. adolescentis* (FERREIRA, 2003).

As bifidobactérias diferenciam-se das bactérias ácido lácticas por produzirem, como metabólitos primários, o ácido láctico e o acético (na proporção 2:3), através de um sistema de metabolização da lactose pouco usual. O processo de fermentação bifidobacteriana também produz, frequentemente, pequenas quantidades de ácido fórmico e etanol. A produção de acetato e lactato promove a redução do pH do meio, tornando-o inadequado ao crescimento de *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Campylobacter jejuni* (SILVA; STAMFORD, 2000).

Dentre as bactérias lácticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, destaca-se *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*; *LB. Casei* – *subsp. paracasei* e *subsp. tolerans*, *Lb. paracasei*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, *Lb. johnsoii*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* e *Lb. salivarius* (COLLINS et al, 1998; SANDERS; KLAENHAMMER, 2001).

Bielecka et al (2002) relatam em seu estudo que a administração de bifidobactéria junto com o prebiótico (como simbiótico) aperfeiçoa o efeito bifidogênico por 1,4 log UFC g⁻¹ de fezes. Os resultados obtidos mostraram a seletiva estimulação da bifidobactéria fecal por probióticos, prebióticos e simbióticos, uma importante efetividade bifidogênica de oligofrutose, confirmou uma seleção própria de simbióticos e mostrou suas mais altas efetividades em relação aos probióticos.

No trabalho de Barreto et al. (2003) foi avaliada a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactérias e bactérias totais em 177 amostras de 15 marcas de

produtos probióticos comercializados no Brasil, no período de janeiro a agosto de 2001. Uma amostra analisada foi mistura liofilizada contendo cepas de *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis* e *Bifidobacterium bifidum*, tendo como resultado a contagem de *L. acidophilus* e bifidobactérias viáveis superior aos produtos lácteos fermentados analisados. Em função disso, observa-se uma tendência de produtos liofilizados e acondicionados em cápsulas ou sachês, com vida-de-prateleira mais prolongada e estáveis à temperatura ambiente.

O campo para o desenvolvimento de tecnologias envolvendo o emprego de culturas probióticas é promissor e requer inúmeros estudos, a fim de que se possa estabelecer definitivamente o mecanismo de ação dessas culturas e os veículos apropriados para que essas culturas atinjam o intestino em concentrações efetivas e de maneira a exercer o efeito apropriadamente (OLIVEIRA et al., 2002).

A evolução acelerada dos conhecimentos científicos sobre a atuação dos probióticos veiculados por produtos lácteos e por determinados produtos não-lácteos sobre a saúde do hospedeiro certamente resultará na ampliação do leque de opções de produtos probióticos disponíveis ao consumidor. Aliado a esse fato, o consumidor mais consciente e com estilo de vida equilibrado opta, cada vez mais, por produtos que, ao mesmo tempo, resultem em benefícios à saúde e sejam atrativos do ponto de vista sensorial. Consequentemente, o mercado desses produtos tende a ser cada vez mais competitivo (KOMATSU et al, 2008).

2.3 Prebióticos

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, geralmente oligossacarídeos, com atividade bifidogênica, ou seja, capazes de estimular o crescimento e/ou atividade de algumas bactérias presentes no intestino, preferencialmente pelas bifidobactérias. Adicionalmente, o prebiótico pode inibir a multiplicação de patógenos, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro. Esses componentes atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora possam ter também algum impacto sobre os microrganismos do intestino delgado (GIBSON; ROBERFROID, 1995; ROBERFROID, 2001; GILLILAND, 2001).

São carboidratos complexos (considerados fibras), resistentes às ações das enzimas salivar e intestinal. Ao atingirem o cólon produzem efeitos benéficos à microflora colônica (FAGUNDES; COSTA, 2003; RAO, 2001; PALFRAMAN et al, 2002).

O intestino grosso é uma região de difícil alteração pelo consumo de probióticos, mas é a primeira a ser afetada pela presença de antibióticos. A estratégia de balanceamento dessa região é por meio de substâncias prebióticas que têm a capacidade de estimular de maneira seletiva alguns grupos microbianos. O consumo de prebióticos torna possível o aumento de bactérias bífidas no cólon. Esses prebióticos são por isso chamados de fatores bifidogênicos. Os oligossacarídeos são os ingredientes alimentares que até o momento têm sido indicados como prebióticos, sendo os frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina os mais estudados (FERREIRA, 2003).

Os prebióticos se enquadram como aditivos funcionais com ampla aplicação nos mais diversos produtos, e com várias alegações de saúde (RENHE et al., 2008).

Substâncias prebióticas vêm sendo adicionadas em amplo número de produtos alimentícios, a exemplo de alimentos infantis, cereais matinais, produtos de confeitaria, entre outros, sem, contudo alterar, de modo significativo, as características organolépticas dos mesmos (TEEUWEN et al, 1992).

As fibras das dietas estão incluídas na ampla categoria dos carboidratos. Elas podem ser classificadas como solúveis, insolúveis ou mistas, podendo ser fermentáveis ou não-fermentáveis. A nova definição de fibra da dieta sugere a inclusão de oligossacarídeos e de outros carboidratos não digeríveis. Deste modo, a inulina e a oligofrutose, denominadas de frutanos, são fibras solúveis e fermentáveis, as quais não são digeríveis pela α -amilase e por enzimas hidrolíticas, como a sacarase, a maltase e a isomaltase, na parte superior do trato digestório (CARABIN; FLAMM, 1999).

Gibson e Roberfroid (1995) relatam que para um ingrediente alimentar ser classificado como prebiótico, deve atender as seguintes características:

- não ser hidrolisado e nem absorvido na parte superior do trato digestório;
- ser substrato seletivo para número limitado de bactérias residentes no colón, as quais têm seu crescimento estimulado e/ou são ativadas metabolicamente;

- ser capaz de modificar a microbiota colônica, permitindo composição equilibrada;

- induzir efeitos locais e sistêmicos benéficos à saúde do hospedeiro.

Os FOS e inulina contribuem para o equilíbrio da microbiota intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis. A porção do produto pronto para o consumo deve fornecer no mínimo 3g de FOS ou inulina se o alimento for sólido ou 1,5g se o alimento for líquido (ANVISA, 2009).

Os prebióticos eficazes precisam de fermentação específica para que, através dela, adquiram a capacidade de alterar a composição da microflora intestinal e abriguem assim população de bactérias desejáveis. Isso deve ocorrer através do estímulo dos grupos benignos ou de gêneros potencialmente saudáveis e não pelos grupos nocivos (KOLIDA et al, 2002).

Prebiótico é novo conceito em nutrição. Embora o mecanismo de seus efeitos no intestino esteja sendo descoberto, seus efeitos na saúde são muito mais difíceis de demonstração. No entanto, trata-se de importante área nova para a ciência alimentar e nutricional (CUMMINGS; MACFARLANE, 2002).

2.4 Os efeitos atribuídos aos probióticos e prebióticos

Os benefícios à saúde do hospedeiro atribuídos à ingestão de culturas probióticas que mais se destacam são (CHARTERIS et al., 1998; KLAENHAMMER, 2001; SAAVENDRA, 2001; KAUR et al, 2002; TUOHY et al., 2003):

- controle da microbiota intestinal;
- estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos;
- promoção da resistência gastrointestinal à colonização por patógenos;
- diminuição da população de patógenos através da produção de ácidos acético e láctico, de bacteriocidas e de outros compostos antimicrobianos;
- promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose;
- estimulação do sistema imune;

- alívio da constipação;
- aumento da absorção de minerais e produção de vitaminas;

Embora ainda não comprovados, outros efeitos atribuídos a essas culturas são a:

- diminuição das concentrações plasmáticas de colesterol;
- efeitos anti-hipertensivos;
- redução da atividade ulcerativa de *Helicobacter pylori*;
- controle da colite induzida por rotavírus e por *Clostridium difficile*;
- prevenção de infecções urogenitais;
- efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade.

Alguns efeitos atribuídos aos prebióticos são (ROBERFROID, 2002a):

- modulações de funções fisiológicas chave, como a absorção de cálcio e, possivelmente, o metabolismo lipídico ;
- modulação da composição da microbiota intestinal, a qual exerce um papel primordial na fisiologia gastrointestinal;
- redução do risco de câncer de cólon.

Diversos estudos experimentais mostraram a aplicação da inulina e da oligofrutose como fatores bifidogênicos, ou seja, que estimulam a predominância de bifidobactérias no cólon. Consequentemente, há estímulo do sistema imunológico do hospedeiro, redução nos níveis de bactérias patogênicas no intestino, um alívio da constipação, diminuição do risco de osteoporose resultante da absorção diminuída de minerais, particularmente o cálcio. Adicionalmente, haveria redução do risco de arteriosclerose, através da diminuição na síntese de triglicérides e ácidos graxos no fígado e diminuição do nível desses compostos no sangue (KAUR; GUPTA, 2002).

2.5 Simbióticos

Um produto referido como simbiótico é aquele no qual um probiótico e um prebiótico estão combinados. Os simbióticos proporcionam a ação conjunta de prebióticos e probióticos, podendo ser classificados como componentes dietéticos funcionais que podem aumentar a sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato digestório superior, pelo fato de seu substrato específico estar disponível para fermentação (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

A interação entre o probiótico e prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo. Isto pode, em alguns casos, resultar em vantagem competitiva para o probiótico, se ele for consumido juntamente com o prebiótico. Alternativamente, esse efeito simbiótico pode ser direcionado às diferentes regiões “alvo” do trato intestinal, os intestinos grosso e delgado. O consumo de probióticos e de prebióticos selecionados apropriadamente pode aumentar os efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas leva à escolha dos pares simbióticos substrato-microrganismo ideais (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002; PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002; BIELECKA et al, 2002).

Vários produtos simbióticos foram desenvolvidos em pesquisas no Brasil: queijo *petit-suisse* simbiótico contendo inulina, oligofrutose e mel com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* (Cardarelli, 2006); queijo fresco simbiótico contendo inulina e *Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei* (Buriti, 2005), entre outros.

Nos últimos anos, a investigação sobre o uso de prebióticos, probióticos e simbióticos tem apresentado notável avanço. Contudo, os estudos com pacientes críticos são escassos e insuficientes, existindo às vezes resultados contraditórios. Em Terapia Intensiva, o aporte de probióticos e simbióticos associados à nutrição enteral precoce podem ser capazes de modular a resposta imune e inibir o crescimento bacteriano, diminuindo a translocação bacteriana, a infecção, a resposta inflamatória e a falência orgânica de origem intestinal (MANZANARES et al, 2006).

2.6 Frutanos

Os carboidratos são os compostos orgânicos mais abundantes encontrados na natureza. O conhecimento qualitativo e quantitativo de distribuição de

carboidratos é uma informação essencial na química do alimento (STIKAROVSKA; CHMELIK, 2004).

Da mesma forma que o amido e a sacarose, os frutanos são usados nas plantas como carboidratos de reserva. São produzidos por aproximadamente 15% das espécies das plantas que estão em florescência, e também por bactérias e fungos (RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

Os frutanos são reconhecidos como classe de carboidratos vegetais há aproximadamente 200 anos e depois do amido e da sacarose são os de maior ocorrência entre as plantas (RIBEIRO, 1993).

As espécies de plantas que contêm frutanos são encontradas em várias famílias de mono e di-cotiledônias como *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* e *Compositae*. Várias espécies de plantas que contêm frutanos são vegetais, geralmente, comestíveis como aspargos, alho, salsão, alcachofra, cebola, alcachofra de Jerusalém, escorzonera, raízes de chicória e yacon (FLAMM et al, 2001).

2.6.1. Aspectos químicos

O frutano é um termo geral usado para a ocorrência natural nas plantas de oligo e polissacarídeos e se refere a qualquer composição de carboidrato na qual uma ou mais ligações de frutossil-frutose constituem a maioria das ligações glicosídicas. Os frutanos são lineares ou polímeros de frutose ramificados, que são agrupados por dois tipos de ligações: β (2→1) encontrado em frutanos do tipo inulina ou β (2→6) visto em frutano do tipo levano (CARABIN; FLAMM, 1999).

Os frutanos podem ser classificados, de acordo com sua estrutura, em três grupos: inulinas, levanos e graminanos (Figura 2).

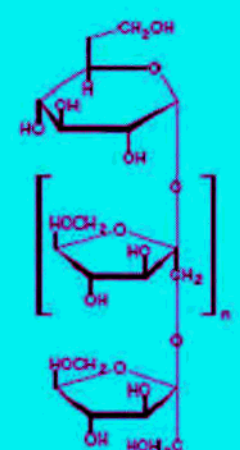
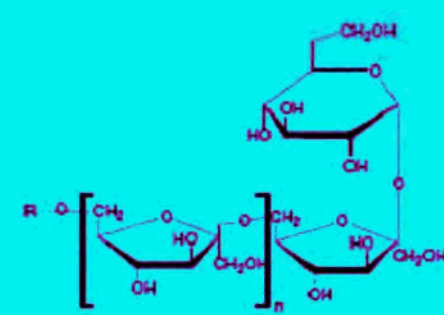
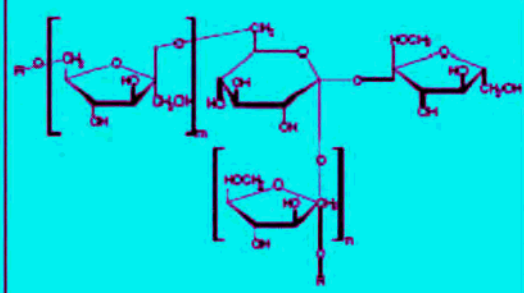
TIPO	ESTRUTURA
INULINA	
LEVANO	
GRAMINANO	

Figura 2. Classificação dos frutanos segundo a estrutura química

Fonte: Quinteros (2000).

Além desses três tipos básicos de frutanos, foram identificados outros contendo ligações mistas na mesma cadeia e com outras estruturas. Os polifrutanos desta série

são frequentemente chamados de inulina em referência ao gênero *Inula* do qual foram originalmente extraídos sendo formados a partir da sacarose.

A inulina e o FOS não têm uma composição química definida. Eles são mistura de frutanos de diferentes tamanhos, e a diferença entre eles está no número de moléculas de frutose que compõem essas cadeias (NINESS, 1999).

A inulina é um carboidrato polidisperso que se constitui, principalmente de ligações $\beta(2\rightarrow1)$ frutossil-frutose. A inulina contém composições tanto de GF_n , quanto F_m , onde n ou m representam o número de unidades de frutose (F) ligadas a cada uma, terminada com uma glicose (G), que pode variar de 2 a 70 (CARABIN; FLAMM, 1999).

Oligofrutose e frutooligossacarídeos (FOS) são termos sinônimos usados para se referir aos frutanos do tipo inulina com grau de polimerização (GP) menor que 10. Seus nomes derivam dos oligossacarídeos (carboidratos constituídos por menos de 10 unidades de monossacarídeos) que são predominantemente frutose. A oligofrutose é mais comumente utilizada na literatura para descrever inulinas de cadeias curtas obtidas pela hidrólise enzimática parcial da inulina da chicória. Essas substâncias contêm tipos de oligômeros GF_n e F_m , com média 4 de grau de polimerização. O FOS tende a descrever misturas de cadeias curtas de frutanos do tipo inulina sintetizados da sacarose. Esse tipo de FOS é constituído de moléculas de sacarose a cada uma, duas ou três unidades de frutose adicionais, que foram enzimaticamente adicionadas pelas ligações de $\beta(2\rightarrow1)$ à unidade de frutose da sacarose. Essas substâncias sintetizadas são do tipo GF_n e tem uma média de 3,5 de grau de polimerização (CARABIN; FLAMM, 1999). A única diferença entre a inulina, a oligofrutose e o FOS sintéticos é o grau de polimerização (número de unidades de monossacarídeos individuais, que formam uma molécula).

O grau de polimerização (DP) dos frutanos varia de 2 a 70 dependendo do tipo da planta do qual foi isolado, das condições de crescimento e idade fisiológica da planta. As mais conhecidas fontes de frutanos são *Cichorium intybus* (chicória) com DP médio de 10 a 14, *Dahlia pinuata* (dália) com DP médio de 20 e *Helianthus tuberosus* (alcachofra de Jerusalém) que possuem um DP médio de 6 (STEVENS et al, 2001).

A inulina da chicória é o frutano primário atualmente em uso como aditivo alimentício. Quando emulsificada com água forma gel que possui textura similar à

gordura, mas com valor calórico menor. Ela é utilizada em iogurtes e sorvetes como substituto de baixa caloria para a gordura (RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

A inulina pode ser encontrada em diversas espécies vegetais, inclusive em alimentos que fazem parte da dieta humana, conforme pode ser observado na Tabela 1 (SILVA, 1996).

Tabela 1 Quantidade percentual de inulina em diversos tipos de alimentos

PLANTA	%
Trigo	1 – 4
Cebola	2 – 4
“Murmong”	8 – 13
Alho poró	10 – 15
Aspargos	10 – 15
Raiz de chicória	13 – 20
“Yacon”	15 – 20
Raiz de barba de bode	15 – 20
Alcachofra de Jerusalém	15 – 20
Tubérculos de Dália	15 – 20
Alho	15 – 25

Fonte: SILVA, 1996.

2.6.2 Aspectos relacionados à saúde

A inulina e a oligofrutose tem a vantagem de ser 1,3 vezes mais doce que o açúcar (WIEDMANN; JAGER, 1997). Elas são fermentáveis e comportam-se como fibra dietética solúvel no trato intestinal. A inulina passa inerte através do trato digestório fornecendo poucas calorias, mas podendo ser fermentada por microorganismos daquele ambiente.

Estudos em humanos e revisão da literatura mantêm a conclusão de que o valor calórico da inulina e da oligofrutose é de 1,5 Kcal/g (CARABIN; FLAMM, 1999;

ROBERFROID, 1999b). Essa propriedade o faz adoçante alternativo para indivíduos com consciência sobre o peso e diabéticos.

Os frutanos são considerados alimentos funcionais, isto é, alimentos (substâncias) com efeitos benéficos à saúde.

Hipócrates há cerca de 2500 anos, afirmava: “permita que o alimento seja teu medicamento e que o medicamento seja teu alimento” (VIGGIANO, 2005).

A história sempre registrou a busca do homem em transformar o alimento em fonte de saúde e longevidade. Os mais recentes conhecimentos de bioquímica, biologia celular e de fisiologia, como também de patologia, sustentam a hipótese de que a dieta controla e modula diversas funções do organismo. Através destes mecanismos a alimentação participa da manutenção do estado de bem-estar, contribuindo para a prevenção de doenças. É provável que diferentes alimentos e produtos alimentícios tenham atividades biológicas diferenciadas, o que leva não somente ao conceito de alimentos funcionais como de uma nova ciência, segundo o International Life Sciences Institute (ILSI), denominada como “CIÊNCIA DOS ALIMENTOS FUNCIONAIS” (VIGGIANO, 2005).

O papel primário da dieta é prover nutrientes necessários para suprir as necessidades metabólicas, enquanto dá à pessoa que consome o alimento sensação de saciedade e bem estar. Conhecimentos recentes, entretanto, sustentam a hipótese de que, além de comprovar as necessidades nutricionais, a dieta pode atuar benéficamente ou prejudicialmente em algumas patologias. Conceitos em nutrição estão crescendo desde as ênfases passadas com relação à sobrevivência, saciedade da fome e prevenção dos efeitos adversos à uma ênfase no uso de alimentos para promover o bem estar, melhora na saúde e para ajudar a reduzir o risco de doenças. Esses conceitos são particularmente importantes com o objetivo de aumentar a expectativa e a qualidade de vida, principalmente dos idosos (ROBERFROID, 2000).

Vários estudos relatam que em animais ou humanos a dieta pode, ao menos temporariamente mudar a composição e/ou a atividade metabólica da flora intestinal e alterar a quantia de produtos finais produzidos pelo metabolismo das bactérias (GRASTEN et al, 2002).

As bactérias nocivas podem formar compostos tóxicos para o hospedeiro. Entre esses compostos estão as substâncias putrefativas (amônia, H₂S, aminas, fenol, indol, escatol e outras) e ácidos biliares secundários. Essas substâncias podem prejudicar o intestino diretamente e são também absorvidos, contribuindo ao longo da vida do hospedeiro, para o processo de envelhecimento, câncer e outros problemas geriátricos como diarreias, constipação e infecções (MITSUOKA, 1992; BIELEKA et al, 2002).

Bifidobactérias fermentam seletivamente os frutanos, preferencialmente a outras fontes de carboidratos, como o amido, a pectina ou a polidextrose (FOLKS et al, 1999).

Nos últimos anos tem sido dada maior atenção sobre o papel da inulina e dos frutooligossacarídeos (FOS) sobre a microbiota intestinal, mais especificamente sobre a população de bifidobactérias (CUMMINGS et al, 2004).

A ingestão média diária per capita de FOS é de 2 a 4g para o norte americano (GIBSON et al, 1994). No Brasil ainda não existem dados relevantes em relação à quantidade ingerida.

Alterações positivas na composição da microbiota intestinal foram demonstradas em estudos *in vivo* em humanos com doses entre 5 e 20 g por dia de inulina e/ou oligofrutose, geralmente com a administração durante um período de 15 dias (NINESS, 1999).

De acordo com Roberfroid (1999a), doses de 4 a 5 g por dia de inulina e/ou FOS são suficientes para o estímulo da multiplicação das bifidobactérias.

No estudo de Rao (2001) ofereceram para homens (4) e mulheres (4) saudáveis uma dose baixa de oligofrutose (5g/dia) e obtiveram estimulação seletiva do crescimento de certos grupos de bactérias (bifidobactérias), assim confirmando as propriedades prebióticas da oligofrutose.

Os FOS e a inulina possuem propriedades físicas que os tornam aplicáveis em vários produtos alimentícios, com ausência de cor e odor, estabilidade em pH neutro e em temperaturas superiores a 140° C (HIDAKA; HIRAYAMA, 2001). Possuem solubilidade maior que a da sacarose, não precipitam, não deixam sensação de secura ou “areia” na boca e não são degradados durante a maioria dos processos de aquecimento, mas

podem ser hidrolisadas em frutose, em condições muito ácidas e em condições onde há exposição prolongada do binômio tempo-temperatura (PASSOS; PARK, 2003).

Nos últimos anos, a utilização de FOS como ingrediente alimentar tem crescido consideravelmente pelas características de fibra que possuem, sendo imperceptíveis no gosto e propriedades organolépticas (NINESS, 1999).

Os FOS são ingredientes alimentares ideais para a indústria de alimentos, por terem aplicação em várias áreas, sendo indicado em formulações dietéticas como sorvetes, cremes vegetais, patês e sobremesa, adicionadas em barras de cereais e biscoitos, bebidas lácteas e leites fermentados (BORNET, 1994).

Leitão et al., 1984 mencionam que a inulina e oligofrutose vêm sendo incorporadas em diversos produtos alimentícios, principalmente em produtos de padaria e confeitaria, como bolo, que têm grande aceitação pelo mercado consumidor devido às suas características reológicas: produtos leves e facilmente mastigáveis; apresentam textura porosa que facilita a digestão e são normalmente muito saborosos.

Entre os produtos de panificação, o bolo vem adquirindo crescente importância no que se refere ao consumo e à comercialização no Brasil, principalmente, devido ao desenvolvimento técnico que possibilitou mudanças nas indústrias que passaram da pequena à grande escala. No estudo de Moscatto et al (2004), a farinha de yacon e inulina apresentaram-se como ingredientes adequados para formulação de bolo de chocolate, uma vez que as formulações contendo inulina e/ou farinha de yacon demonstraram de maneira geral, propriedades físicas, químicas, preferência e estabilidade de armazenamento comparáveis com as da formulação padrão para bolo de chocolate.

Santana e Cardoso (2008) relatam que há evidências de que a utilização de FOS na alimentação animal também pode atuar no controle da disseminação de doenças, através do aprimoramento do sistema imunológico, como, por exemplo, em frangos criados sem administração de antibióticos, área esta que requer mais estudos a fim de se comprovar a eficácia e a segurança desses compostos.

Os efeitos benéficos dos FOS e da inulina assemelham-se àqueles atribuídos às fibras, pois ambos não sofrem atuação das enzimas digestivas e, através da fermentação de bactérias colônicas, formam ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que exercem efeitos trópicos na mucosa intestinal, aumentam o bolo fecal, reduzem o trânsito

gastrointestinal, diminuem os níveis séricos de colesterol e glicose, aumentam a absorção de cálcio e o volume do lúmen intestinal e podem suprimir a digestão e absorção de nutrientes no intestino, além de exercerem um efeito modulador da microbiota intestinal. Porém, não possuem os efeitos físicos da fibra, tais como: aumento na viscosidade, ligação com a água e efeito espessante. Entretanto, apresentam algumas vantagens em relação às fibras, pois não ocasionam diarreia nas doses recomendadas, não quelam minerais, possuem sabor levemente doce e agradável e são fisicamente estáveis, podendo ser adicionados numa variedade de alimentos processados (BORGES, 1997).

As evidências apontam para a atividade funcional nas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), principalmente neoplasias, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, diabetes, artrite reumatóide e osteoporose e no que tange ao sistema imunológico (VIGGIANO, 2005).

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) sugerem que as mortes devido às doenças crônicas aumentarão 17% nos próximos dez anos. Isso significa que, em 2015, dos 64 milhões de pessoas que falecerão, 41 milhões de mortes serão decorrentes de alguma doença crônica. Acredita-se que as doenças crônicas eram exclusivas dos países desenvolvidos, mas infelizmente hoje sabemos que sua incidência também aumentou exponencialmente nos países em desenvolvimento. Entre elas, destacam-se as cardiopatias, acidentes vasculares cerebrais, câncer, doenças respiratórias e diabetes (WHO, 2005).

As doenças crônicas não-transmissíveis respondem pelos maiores gastos com atenção médica no Sistema Único de Saúde (SUS), conforme dados apresentados no site do Ministério da Saúde. Em 2005, dos seis bilhões gastos com o pagamento de Autorizações de Internação Hospitalar (exceto partos), as doenças crônicas representaram 58% do gasto total, liderado pelos gastos das doenças cardiovasculares (22%), doenças respiratórias crônicas (15%) e neoplasias (11%). Os determinantes principais do crescimento epidêmico das doenças crônicas não-transmissíveis no Brasil são demográficos, com proporção maior de indivíduos alcançando a senescência, período em que essas doenças se manifestam com maior frequência. A alteração do padrão dietético-nutricional e de atividade física da população brasileira também contribuem para maior incidência, pois têm como desdobramento o aumento do peso corpóreo e vários desfechos desfavoráveis à saúde como, por exemplo, o diabetes (BRASIL, 2009).

2.6.2.1 Doença metabólica: Diabetes mellito

O Diabetes mellito é uma doença crônica que vem crescendo em prevalência e incidência, sendo considerado um dos problemas mais importantes de saúde pública mundial, afetando cerca de 2 a 5% da população (HERNÁNDEZ *et al*, 2000).

De acordo com Lyra et al. (2006), aproximadamente 171 milhões de pessoas no mundo têm diabetes mellito, e este número tende a se projetar para 366 milhões no ano de 2030, fazendo com que a prevalência de 2,8% em 2000 salte para 4,4%. No Brasil, estima-se que mais de cinco milhões de pessoas de 30 a 69 anos sejam diabéticas, sendo que metade dos pacientes acometidos pela doença desconhece a condição.

Os maiores índices de prevalência de diabetes mellito e de tolerância diminuída à glicose estão nas regiões Sul e Sudeste do país (PACE et al, 2003).

Nos países em desenvolvimento, a prevalência do diabetes em crianças e adolescentes aumenta assustadoramente, em função de aspectos negativos sobre a qualidade de vida que estão diretamente relacionados com as transformações demográficas, socioeconômicas e fatores ambientais, como dieta e sedentarismo (SARTORELLI; FRANCO, 2003).

Dentre os fatores determinantes para o controle da doença está o monitoramento da glicemia, o uso correto dos medicamentos, o desenvolvimento de práticas educativas para os diabéticos e/ou familiares que priorizem o controle metabólico, redução dos fatores de risco e mudanças do estilo de vida utilizando dieta adequada (HERNÁNDEZ *et al*, 2000).

Os sintomas clássicos de diabetes são: poliúria, polidipsia, polifagia, fraqueza, letargia, prurido e diminuição brusca da acuidade visual. Achados de hiperglicemia ou glicosúria em exames de rotina, entre outros estão relacionados às complicações metabólicas (BRASIL, 2001).

As atividades físicas regularmente praticadas diminuem a resistência a insulina, melhoram os níveis glicêmicos, lipídicos e pressóricos e, desta forma, reduzem o risco cardiovascular. É recomendável, portanto, que a dieta e exercícios estejam combinados na orientação de estilo de vida saudável. No entanto, antes de recomendar a prática de

exercícios, é necessária avaliação quanto à presença de complicações macro e microvasculares que podem contra-indicá-la (SILVA; MURA, 2007).

Bailey e Day, 1989 apud Volpato et al, 2002 mencionam que o uso de plantas é o tratamento mais antigo para Diabetes mellito e data do “Papiro de Ebers”, de 1500 a.C., o qual recomendava dieta com grande quantidade de fibras de grãos de algodão e ocre.

Volpato et al. (2002) relatam que muitas plantas utilizadas popularmente para o controle da hiperglicemia, apesar de comprovado efeito em animais, não foram testadas ou não tiveram seu efeito confirmado em pesquisas envolvendo seres humanos. Dentre as mais comuns estão o jambolão, a pata-de-vaca, a cebola e o yacon. Outro fator importante é a dose padronizada em animais e sua equivalência à dose mínima necessária para obtenção do mesmo efeito no homem. Uma vez estabelecido o grau de confiança do ponto de vista toxicológico, e comprovada sua segurança, é possível que essas plantas possam ser usadas como terapêutica complementar da terapia convencional do diabetes.

Os estudos feitos com as plantas medicinais usadas, tradicionalmente, no tratamento do diabetes mellito, demonstraram que em sua maioria possuem característica hipoglicemiante, confirmando a utilização como antidiabético na medicina tradicional. Muitas plantas exercem efeito hipoglicemiante, atribuído a vários mecanismos de ação, porém nem todas são terapeuticamente úteis. Algumas plantas utilizadas podem ser tóxicas, enfatizando a necessidade de encontrar aquelas que possam oferecer eficácia terapêutica e saúde. Há muitas substâncias extraídas de plantas que reduzem o nível de glicose no sangue. A grande diversidade de classes químicas indica que variedade de mecanismos de ação deve estar envolvida na redução do nível de glicose no sangue. Algumas destas substâncias podem ter potencial terapêutico, enquanto outras podem produzir hipoglicemia como efeito colateral devido à sua toxicidade, especialmente hepatotoxicidade (NEGRI, 2005).

2.6.2.2 Doenças cardiovasculares

Há pelo menos quatro décadas os brasileiros convivem com as doenças cardiovasculares como primeira causa de morte, com o excessivo aumento da mortalidade pelo diabetes nas últimas décadas, ascensão de algumas neoplasias malignas como causa de

morte; prevalências elevadas de múltiplos fatores de risco para as DCNT e, sobretudo, com a predominância da medicina curativa (LESSA, 2004).

No contexto epidemiológico e social do Terceiro Mundo, as previsões futuras para o Brasil, em relação às DCNT, até o momento, são sombrias. Persistem as políticas de saúde do País em optar maciçamente pela medicina curativa, pelo atendimento e tratamento das DCNT em serviços de urgência, emergência ou sob hospitalizações (LESSA, 2004).

As doenças cardiovasculares (DCV) englobam a doença arterial coronária, o acidente vascular cerebral, a doença arterial periférica, a doença renal e a insuficiência cardíaca congestiva, constituindo-se na principal causa de morte do mundo industrializado (WHO, 2006).

Estes problemas respondem por cerca de 30% dos óbitos nos países desenvolvidos. Dados da Organização Mundial da Saúde apontam que as doenças cardíacas e os acidentes vasculares encefálicos matam mais de 17 milhões de pessoas a cada ano no mundo, sendo que 20 milhões de pessoas sobrevivem a estas patologias anualmente, muitas necessitando de cuidado médico contínuo e dispendioso (WHO, 2006).

Estima-se que 16,6 bilhões de mortes resultam de várias formas de doença cardiovascular. Há também sérios problemas de incapacidade por causa de cardiopatias ou acidentes vasculares cerebrais, que matam mais de 12 milhões de pessoas por ano. Cerca de 80% dos óbitos por doenças cardiovasculares no mundo ocorrem em países em desenvolvimento, de baixa e média renda. Esses últimos são responsáveis por 86% das doenças cardiovasculares. Estima-se que, até 2010, essas doenças representem a principal causa de óbito nos países em desenvolvimento (OPAS/OMS, 2003).

Apesar disso, é possível reduzir esses índices se houver estratégias de prevenção primária como, mudanças do estilo de vida: redução na ingestão de gordura saturada, controle do peso corporal e prática de atividade física (CASTRO et al, 2004).

A avaliação do estado nutricional é de grande utilidade e importância para o estabelecimento de estratégias de intervenção visando à prevenção de doenças cardiovasculares, uma vez que os marcadores de risco relacionados à nutrição, como os antropométricos, dietéticos e bioquímicos, podem ser modificados com a adoção de estilo de vida saudável e controle do peso corporal. Entre os marcadores bioquímicos, colesterol e

triglicérides são fatores importantes relacionados às doenças cardiovasculares (CASTRO et al., 2004).

2.6.2.3 Dislipidemia

Dislipidemia é um quadro clínico caracterizado por concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue. Sabe-se que a dislipidemia é determinada por fatores genéticos e ambientais (TALMUD; WATERWORTH, 2000; DE FRANCA; ALVES; HUTZ, 2004).

Dos pontos de vista fisiológico e clínicos, os lípides biologicamente mais relevantes são os fosfolípidos, colesterol, triglicérides e ácidos graxos. Os fosfolípidos formam a estrutura básica das membranas celulares. O colesterol é precursor dos hormônios esteróides, dos ácidos biliares e da vitamina D. Além disso, como constituinte das membranas celulares, o colesterol atua na fluidez destas e na ativação de enzimas aí situadas. Os triglicérides são formados a partir de três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol e constituem uma das formas de armazenamento energético mais importantes no organismo, depositados nos tecidos adiposo e muscular (IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, 2007).

As dislipidemias estão entre os mais importantes fatores de risco da doença cardiovascular aterosclerótica. Vários estudos têm evidenciado que o combate às dislipidemias traz benefícios à pacientes em diferentes riscos cardiovasculares, e que, através das reduções das hipercolesterolemias, proporcionam-se efeitos benéficos cada vez maiores na redução de eventos coronarianos (SANTOS et al, 2000).

Desses estudos, avanços significativos foram obtidos no conhecimento e controle das dislipidemias. O programa de tratamento recomendado para as dislipidemias é baseado na monitoração dos níveis dos lipídeos sanguíneos e na instituição de intervenções no estilo de vida. Essas intervenções compreendem hábitos alimentares saudáveis, manutenção do peso ideal, atividade física regular e combate ao tabagismo. A intervenção dietética é a primeira abordagem no tratamento de dislipidemias, devendo ser mantida mesmo havendo necessidade de intervenção medicamentosa (KANDEL et al, 2002; KRAUSE; MAHAN, 2002).

A American Heart Association (AHA) enfatiza o uso de uma dieta que inclua uma variedade de frutas, vegetais e grãos, pois esses alimentos podem reduzir o risco de doenças cardiovasculares, por meio da oferta de vitaminas, nutrientes antioxidantes (flavonóides), fitoquímicos e fibras neles contidos (NCEP, 2002).

2.6.2.4 Neoplasias

Segundo o Instituto Nacional de Câncer – INCA, câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. As causas de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de ambiente social e cultural. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Esses fatores causais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais (INCA, 2009).

De todos os casos, 80% a 90% dos cânceres estão associados a fatores ambientais. Alguns deles são bem conhecidos: o cigarro pode causar câncer de pulmão, a exposição excessiva ao sol pode causar câncer de pele, e alguns vírus podem causar leucemia. Outros estão em estudo, tais como alguns componentes dos alimentos que ingerimos, e muitos são ainda completamente desconhecidos. O envelhecimento traz mudanças nas células que aumentam a sua suscetibilidade à transformação maligna. Isso, somado ao fato de as células das pessoas idosas terem sido expostas por mais tempo aos diferentes fatores de risco para câncer, explica em parte o porquê de o câncer ser mais frequente nesses indivíduos. Os fatores de risco ambientais de câncer são denominados cancerígenos ou carcinógenos. Esses fatores atuam alterando a estrutura genética (DNA) das células. São raros os casos de cânceres que se devem exclusivamente a fatores hereditários, familiares e étnicos, apesar de o fator genético exercer um importante papel na oncogênese (INCA, 2009).

O número de casos novos de câncer de cólon e reto estimados para o Brasil no ano de 2008 é de 12.490 casos em homens e de 14.500 em mulheres. Esses valores

correspondem a um risco estimado de 13 casos novos a cada 100 mil homens e 15 para cada 100 mil mulheres. Em termos de incidência, o câncer de cólon e reto é a terceira causa mais comum de câncer no mundo em ambos os sexos e a segunda em países desenvolvidos (INCA, 2009).

O câncer colo-retal varia sua frequência em diversas partes do mundo. Embora possa ocorrer em qualquer idade, mais de 90% dos pacientes têm mais de 40 anos. Tanto a predisposição genética quanto os fatores ambientais estão envolvidos em sua gênese. Em relação aos fatores ambientais, observa-se que a alimentação é o fator mais importante. Nesta, dieta rica em gordura saturada e pobre em fibras alimentares (FA) estariam favorecendo o desenvolvimento de neoplasia em indivíduo predisposto geneticamente (ANDRADE; PIMENTA, 2003).

Atualmente, muitas pesquisas têm levantado o papel das fibras alimentares na redução do risco de câncer. As frutas, verduras e hortaliças são interessantes por sua estrutura, contendo minerais, vitaminas antioxidantes, agentes fitoquímicos e fibra dietética. Todas essas substâncias estão relacionadas com menor frequência no desenvolvimento de problemas de saúde como alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade (ARANCETA, 2004).

É inquestionável a comprovação das propriedades funcionais atribuídas aos FOS, principalmente sua ação como fibra alimentar, diante dos resultados apresentados pela literatura dos últimos 15 anos. Muitos estudos têm sido conduzidos para assegurar os efeitos dos FOS sobre a microbiota intestinal, sua atividade anticarcinogênica e sobre as taxas de colesterol e glicemia no sangue (SILVA et al., 2007).

Os FOS chegam ao intestino grosso intactos e servem de substrato para as bifidobactérias, que secretam a β -frutosidase (enzima que seria responsável pela hidrólise dos FOS), aumentando a frequência de evacuações e diminuindo o pH fecal, destruindo as bactérias putrefativas. Também é mantido baixo os níveis de bacterióides, clostridia ou coliformes, contribuindo na prevenção do câncer do cólon (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Rowland et al. (1998) *apud* Pool-Zabel et al. (2002) observaram que a combinação de inulina (prebiótico) e *Bifidobacterium longum* (probiótico) inibiram os focos de criptas aberrantes induzidos por AOM (azoximetano) de maneira sinérgica. Especialmente,

o efeito nos focos com multiplicidade de mais de quatro criptas, que acreditam serem os marcadores mais relevantes para a formação de tumores. Esta foi a primeira demonstração de um efeito simbiótico.

2.6.2.5 Osteoporose

A osteoporose é definida como doença caracterizada pela perda de massa óssea e deterioração microestrutural do tecido ósseo, levando a maior fragilidade e a consequente aumento no risco de fraturas (WHO, 1998).

Dentre os fatores de risco (idade, estado hormonal, atividade física, constituição genética, medicamentos, fumo, álcool) para o desenvolvimento da osteoporose, a nutrição exerce um papel preponderante. Assim, a adequada ingestão e absorção de cálcio (Ca) asseguram mineralização durante períodos de rápido crescimento e mantêm a massa e a densidade óssea durante períodos críticos do desenvolvimento (BALLABRIGA, 2000; LOUIE, 1996).

Em estudo de revisão, Scholz-Ahrens et al. (2001) afirmam que os prebióticos são capazes de estimular a absorção de alguns minerais e consequentemente, a promoção da mineralização óssea. Tal evidência é proveniente de estudos experimentais com animais, cujos resultados demonstram que os prebióticos aumentam a biodisponibilidade de cálcio, magnésio, zinco e ferro. Recentemente, tais evidências foram confirmadas por meio da realização de estudos com humanos, os quais demonstraram que tais efeitos são dependentes da dose administrada, do tipo de administração, do conteúdo de cálcio da dieta consumida, da parte óssea estudada e da idade dos indivíduos.

Inulina e oligofrutose e outros prebióticos têm sido relacionados com a absorção de cálcio na dieta. Uma alta absorção de cálcio aumenta o pico de massa óssea, que diminui os riscos de osteoporose em idosos. Muitos experimentos com ratos e humanos comprovam esse aumento na absorção relacionado com a ingestão de prebióticos (ABRAMS et al., 2005).

Há três possíveis mecanismos envolvidos na absorção de minerais estimulada por prebióticos:

- os prebióticos, substratos não-digeríveis, são fermentados por flora bacteriana específica com produção de ácidos graxos de cadeia curta e redução de pH, levando a melhor solubilização dos minerais;
- nas vilosidades, verifica-se que a altura das criptas, o número de células epiteliais e o fluxo de cálcio (transporte passivo) são aumentados pelos prebióticos;
- em nível celular, ocorre estímulo para a expansão de calibidina-D9K e do transporte ativo de cálcio (ROBERFROID, 2002b).

2.6.3 Toxicidade

Numerosos estudos têm sido desenvolvidos para avaliar a toxicidade dos frutooligossacarídeos: *in vitro* e *in vivo*, tanto em animais quanto em humanos (TOKUNAGA et al, 1986).

Vários estudos demonstraram que o frutano do tipo inulina, quando administrado em níveis altos na dieta, não resulta em mortalidade, morbidade, toxicidade em órgão alvo, toxicidade reprodutiva ou no desenvolvimento ou carcinogenicidade. Estudos laboratoriais também mostraram a ausência de potenciais mutagênicos ou genotóxicos. A única base para limitar o uso dessas fibras nas dietas para humanos está relacionada com a tolerância gastrointestinal. Vários estudos clínicos têm mostrado que a ingestão de 20g dia⁻¹ de inulina e/ou oligofrutose é bem tolerada em indivíduos saudáveis (CARABIN; FLAMM, 1999).

Alles et al.(1999) e Davidson et al (1998) observaram sintomas de flatulência em indivíduos que consumiram dietas contendo 15g e 18g dia⁻¹, respectivamente de frutooligossacarídeos.

Sintomas gastrointestinais adversos são mencionados por Williams; Jackson (2002) quando indivíduos consomem um excesso de 15g dia⁻¹ de inulina.

2.7 Yacon

2.7.1 Origem

O yacon é uma espécie da família *Asteraceae* (também chamada *Compositae*) e seu nome científico é *Polymnia sonchifolia* ou *Polymnia edulis* (ASAMI et al, 1990). Fernandez et al (2000) realizaram estudos citológicos e morfológicos e sugeriram o nome científico de *Smallanthus sonchifolius*, pois acreditam que *Smallanthus macroscyphus* é possivelmente seu pregenitor.

É uma planta nativa dos Andes que surgiu nas montanhas úmidas do Peru e Bolívia, expandindo para o norte e sul ao longo dos declives úmidos andinos e vales interandinos secos e a costa peruana. Existem representações fitomórficas na cultura NAZCA (500-1200 dC) que se atribuem ao yacon, as quais estão representadas em cerâmicas têxteis (Universidade Nacional Agrária La Molina, 2005).

A raiz tuberosa tem recebido nomes diferentes nos idiomas andinos dominantes: Aymara e Quéchua. Na língua Quéchua, *yacu* e *unu* são palavras que significam água, enquanto *yakku* significa aquoso ou insípido. Porém esta espécie é conhecida também por outros nomes regionais como: arboloco, aricoma, jícama/yíquima, chícama, jiquimilla, llacon, llagon, llag on e yacón (ZARDINI, 1991).

A Figura 3 mostra as raízes, folha e flor de yacon.



Figura 3. Raízes, folha e flor de yacon

2.7.2 Distribuição Geográfica e Centros de Diversidade

Yacon é cultivado em muitas localidades isoladas dos Andes, desde o Equador até o noroeste Argentino (província de Salta e Jujuy), principalmente para o consumo familiar. Os agricultores raramente cultivam o yacon como principal cultivo nas suas terras aráveis (Universidade Nacional Agrária La Molina, 2005).

Atualmente, o yacon tem sua cultura em muitos países fora dos Andes, como Paraguai, Estados Unidos, Checoslováquia, China, Coreia e Taiwan. No Japão está sendo realizado o maior número de investigações científicas, no que se refere ao manejo agrônomo, composição química, propriedades sobre a saúde e desenvolvimento de produtos processados (ALFARO; MELGAREJO, 2004).

O cultivo comercial de yacon no Brasil foi introduzido em 1991, em Capão Bonito – São Paulo (KAKIHARA et al, 1996; VILHENA et al, 2000; OLIVEIRA; NISHIMOTO, 2004).

No Brasil, a safra vai de março a setembro, mas pode-se encontrar pequena oferta em outros meses (QUINTEROS, 2000).

2.7.3 Características

A planta do yacon é perene e herbácea de 1 a 3 metros de altura. O sistema radicular está composto de raízes de reservas e camadas, em número de 4 a 20, que podem alcançar até o tamanho de 25 cm de longitude por 10 cm de diâmetro, e um sistema extensivo de delgadas raízes fibrosas. As raízes de armazenamento são principalmente fusiformes, com função de fixação da planta ao solo, absorção de água e nutrientes; de cor branca, alaranjada ou roxa (ALFARO; MELGAREJO, 2004).

As raízes tuberosas pesam aproximadamente 200-500g cada, mas podem atingir até 2000g. Cada planta produz de 5 a 20 unidades, obtendo uma média de 5 kg/planta (GOTO et al, 1995).

Suas raízes subterrâneas são carnosas, doces e translúcidas, chegando até 20 cm de comprimento, de cor externa marron e interna creme (KAKIHARA et al, 1996).

Grau e Rea, 2004 relatam que a cor da casca do yacon varia do marrom até tonalidade arroxeadas, enquanto que a porção comestível pode ser branca, amarela, laranja ou roxa, dependendo do clone cultivado. O yacon apresenta coloração amarelo-clara à intensa, devido à presença de pigmentos carotenóides (QUINTEROS, 2000).

Yan et al., 1999 relatam que a presença de compostos fenólicos como o ácido clorogênico e o L-triptofano tornam as raízes do yacon susceptíveis ao escurecimento enzimático, causado pela enzima polifenoloxidase (PPO) e peroxidase. As raízes do yacon integral contêm $48,5 \pm 12,9 \mu\text{g g}^{-1}$ de ácido clorogênico e $14,6 \pm 7,1 \mu\text{g g}^{-1}$ de L-triptofano, que são fenóis utilizados como substrato pela PPO. Nessa reação ocorre a formação de melanina, pigmento escuro que prejudica a aparência dos produtos.

Esta oxidação se dá em presença de oxigênio livre, escurecendo rapidamente a superfície recém-cortada dos tubérculos. Os fatores responsáveis pela reação são as enzimas, o substrato e o oxigênio e, teoricamente, a interferência em um desses fatores impede a reação de ocorrer, controlando assim a oxidação. Do ponto de vista prático, o controle do escurecimento enzimático é geralmente limitado à inibição da enzima utilizando calor, pois inativam-se as enzimas polifenoloxidase e peroxidase, responsáveis pelo escurecimento (CABELLO, 2005).

As raízes tuberosas recém colhidas são insípidas, mas após 3 a 5 dias de exposição ao sol, tornam-se suculentas e doces, pela hidrólise dos frutanos (GOTO et al, 1995).

A técnica de exposição à luz solar por muitos dias após a colheita a fim de incrementar seu gosto doce denomina-se soleado (GRAEFE et al, 2004).

Alguns autores descrevem o sabor do yacon como semelhante ao da pêra (OHYAMA et al, 1990; GIBSON; ROBERFROID, 1995; ARAJARA, 1999).

É uma espécie extremamente adaptável quanto ao clima, altitude e tipo de solo, sendo que sua alta resistência ao frio e à seca está relacionada à grande quantidade de carboidratos de reserva nos órgãos subterrâneos. Além disso, seus rizóforos contêm gemas que regeneram uma nova planta a cada ano, após o inverno (VILHENA et al, 2000).

2.7.4 Composição Química e Nutricional

O yacon apresenta alto teor de carboidratos, elevado conteúdo de potássio e cálcio e relativamente baixos níveis de outros minerais, vitaminas, lipídios e proteínas. Contém compostos fenólicos derivados de ácido cafeíco e substâncias antioxidantes como ácido clorogênico e triptofano (KAPULER; GURUSIDIAH, 1994; TAKENAKA et al., 2003).

É uma das raízes comestíveis com maior conteúdo de água, entre 83 a 90% do peso fresco das raízes. Devido ao alto conteúdo de água, o valor energético da raiz é baixo. Porém este fator reduz a vida útil do produto em condições ambientais (NIETO, 1991; LACHMAN et al., 2004).

A maioria das raízes armazena carboidratos na forma de amido, já o yacon armazena os carboidratos na forma de frutanos que são polímeros de frutose (GALLARDO, 1999; CAPITO, 2001).

Os carboidratos que estão presentes no yacon são a frutose, glicose, sacarose e frutooligossacarídeos (FOS) de baixa polimerização e traços de amido e inulina (ASAMI et al, 1989).

Os oligofrutanos são os carboidratos em maior quantidade nos tubérculos com teores que podem chegar a 67% do peso seco da planta (ASAMI et al., 1989).

Os carboidratos constituem aproximadamente 90% do peso seco das raízes recém colhidas, dos quais entre 50 a 70% são frutooligossacarídeos e inulina, os quais não podem ser hidrolisados pelo organismo humano e atravessam o trato digestório sem serem metabolizados, proporcionando calorias inferiores ao da sacarose, excelentes para as dietas hipocalóricas e para diabéticos (ASAMI et al., 1991)

As raízes tuberosas do yacon apresentam elevado conteúdo de açúcares solúveis, frutose e frutanos de baixo grau de polimerização (DP 3 a 10), sendo que os demais carboidratos são sacarose e glicose (ASAMI et al., 1991; NIETO, 1991).

O yacon apresenta compostos bioativos de importância à saúde humana (RIVIERA; MANRIQUE, 2005). Portanto pode ser considerado alimento funcional, pois é fonte de FOS e suas propriedades funcionais decorrem do fato de que possuem efeitos de fibras dietéticas e um valor calórico reduzido (NINESS, 1999).

2.7.5 Formas de Utilização

Consumo humano: as raízes são consumidas *in natura*, assada, refrescos e sucos. Possui sabor doce agradável, sendo consumida depois de colocada ao sol (“doçura das raízes”).

Uso industrial: cachaça, xaropes, chips secos, “açúcar dietético”, curtidos de yacon e chá (folhas) (Universidade Nacional Agrária La Molina, 2005).

A alta produtividade e rusticidade do yacon têm levado alguns cientistas a pleiteá-lo como fonte de matéria-prima para xarope de frutose (GRAU; REA, 1997).

O yacon desidratado (Figura 4) possui alto valor agregado no comércio internacional, como no Chile e Alemanha, que comercializam as fatias de yacon desidratadas a U\$ 18,4/100g (MOURA, 2004).

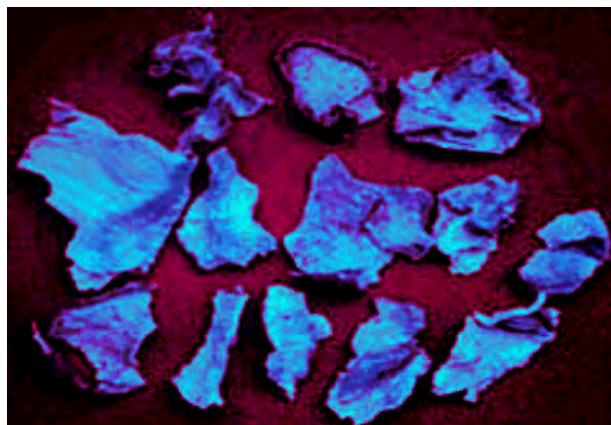


Figura 4. Yacon desidratada

Fonte: PHARMA (2002-04)

No Brasil, vários estudos foram desenvolvidos com yacon, dos quais podemos destacar: pão integral com yacon (DZAZIO et al., 2007), doce de goiaba vermelha, yacon e acerola (VENTURA, 2004), aplicação de farinha de yacon em produtos à base de cereais, como bolo inglês, biscoito tipo “champurrada” e snacks à base de arroz (MARANGONI, 2007), farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate (MOSCATTO et al, 2004), bebida funcional à base de yacon (SILVA, 2004) entre outros.

2.7.6 Propriedades do Yacon

O yacon diferentemente da maioria dos tubérculos que armazenam amido, acumula inulina e frutooligossacarídeos.

Estudos recentes identificaram muitos atributos benéficos da inulina e FOS:

- controle da constipação;
- melhora da composição da flora intestinal;
- estimulação da absorção de cálcio (prevenção da osteoporose);
- modulação do metabolismo de lipídeos;
- prevenção do câncer de cólon;

- efeito no controle glicêmico;
- o aumento da resposta imunológica (CARABIN; FLAMM, 1999; RAO, 2001; FLAMM et al, 2001; PALFRAMAN et al, 2002; RITSEMA; SMEEKENS, 2003; FERREIRA, 2003; STIKAROVSKÁ; CHMELÍK, 2004).

O yacon no Brasil foi introduzido por imigrantes japoneses na década de 90, na região de Capão Bonito (SP), que utilizavam suas folhas e raízes tuberosas nos tratamentos contra diabetes e altas taxas de colesterol sanguíneo (KAKIHARA et al., 1996).

Os frutooligossacarídeos e a inulina têm sido designados como prebióticos e fibras alimentares solúveis por sua não digestibilidade pelas enzimas do trato digestório (RITSEMA; SMEEKENS, 2003).

Fibra dietética ou alimentar (FA) é a parte comestível de plantas ou análogos aos carboidratos que são resistentes à digestão e absorção pelo intestino delgado humano, com fermentação parcial ou total no intestino grosso (MARLETT et al, 2002).

No processo de fermentação da fibra são produzidos, principalmente, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e os gases dióxido de carbono (CO₂), hidrogênio (H₂) e metano (CH₄). Esses ácidos graxos são absorvidos pelo epitélio do cólon e metabolizados em diversas partes do corpo, de onde provém baixos valores calóricos (1 a 3 kcal/g) atribuídos aos oligossacarídeos (NINESS, 1999; ALÍPIO, 2000).

Os principais substratos para fermentação das bactérias residentes no intestino grosso são os resíduos da dieta que não foram hidrolisados por enzimas no intestino delgado, como carboidratos na forma de polissacarídeos e oligossacarídeos e os prebióticos (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Os principais gêneros bacterianos envolvidos na degradação desses compostos são *Bacteróides* e *Bifidobacterium*, sendo acetato, propionato e butirato os principais ácidos graxos de cadeia curta produzidos no cólon (CUMMINGS; MACFARLANE, 1991).

A produção de AGCC pela microbiota intestinal diminui o pH do cólon, podendo protegê-lo contra carcinogênese através da redução da biodisponibilidade de aminas tóxicas (TOPPING, 1996).

Outros benefícios específicos dos ácidos graxos de cadeia curta produzidos pela microbiota intestinal estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Benefícios específicos dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos pela microbiota intestinal.

AGCC	Efeitos específicos	Benefícios
AGCC total	Redução do pH	Diminuição da biodisponibilidade de compostos alcalinos citotóxicos; Inibição do crescimento de bactérias sensíveis ao pH.
Acetato	Possível aumento da absorção de cálcio e magnésio; Diminuição da resistência em vasos sanguíneos.	Diminuição de perda fecal de cálcio e magnésio; Aumenta o fluxo sanguíneo venoso portal hepático e do cólon.
Propionato	Aumento da contração muscular do cólon; Diminuição da resistência em vasos sanguíneos; Estimulação do transporte de eletrólitos no cólon; Proliferação do epitélio do cólon.	Laxação mais fácil, aliviando a constipação; Aumenta o fluxo sanguíneo venoso portal hepático e do cólon; Maior absorção de íons e fluidos, prevenindo a diarreia. Possível aumento da capacidade de absorção.
Butirato	Diminuição da resistência em vasos sanguíneos; Metabolismo por ação de colonócitos; Manutenção do fenótipo normal de colonócitos; Estimulação do transporte de eletrólitos no cólon.	Aumenta o fluxo sanguíneo venoso portal hepático e do cólon; Manutenção da integridade da mucosa, reparo de colites ulcerativas, proliferação de colonócitos; Diminui o risco de malignidade; Maior absorção de íons e fluidos, prevenindo a diarreia.

Fonte: TOPPING (1996).

O tipo de fibra que atinge o cólon influencia na composição da flora do cólon, o que por sua vez, afeta a saúde do hospedeiro. Os frutooligosacarídeos e, em menor grau, a inulina, promovem seletivamente, a proliferação das bifidobactérias nos seres humanos

e podem diminuir o número de bactérias prejudiciais. Por isto, tais compostos são denominados “bifidogênicos” ou “prebióticos” (ROBERFROID, 1993; GIBSON et al., 1995).

Apesar dos notórios benefícios provenientes do cultivo do yacon tanto para a obtenção das raízes e desenvolvimento de produtos quanto para o solo, são requeridas mais pesquisas e divulgação a respeito das potencialidades da espécie para o plantio em diferentes tipos de condições climáticas. Igualmente são necessárias implementações de técnicas e processamentos para que a raiz - na pós-colheita - e seus produtos contenham maiores teores de componentes como os FOS, bem como apresentem características que tornem o consumo mais atrativo e popular, posto que é uma alimento promissor (SANTANA; CARDOSO, 2008).

2.8 Secagem por atomização

A secagem é uma das práticas mais antigas de conservação de alimentos desenvolvida pelo homem. Alimentos de origem vegetal como cereais, feijão e ervilhas, quando são colhidos suficientemente secos e adequadamente armazenados, permanecem em condições de consumo e/ou industrialização por longos períodos de tempo. Todavia, a maioria dos alimentos contém suficiente umidade para permitir a ação de suas próprias enzimas e de microrganismos que nele se encontram, de modo que, para preservá-los, faz-se necessário a remoção da maior quantidade de água possível (SILVA, 2000).

O processo de secagem ou desidratação consiste na aplicação de calor sob condições controladas para remover, por evaporação, a maioria da água normalmente presente em um alimento (FELLOWS, 2006).

A eficiência do processo de secagem está relacionada com a qualidade do produto final (BROD et al, 1999).

A desidratação é a secagem pelo calor produzido artificialmente em condições de temperatura, umidade e corrente de ar cuidadosamente controladas. O uso do calor do fogo para secar os alimentos é de conhecimento bem antigo, porém, a câmara de desidratação por ar quente é mais recente, só veio a ser reconhecido no final do século XVIII. A maioria dos métodos de secagem artificial envolve a passagem de ar aquecido, com

umidade relativa controlada sobre o alimento a ser desidratado, que pode estar parado ou em movimento (SILVA, 2000).

Os principais objetivos pelos quais a indústria alimentícia recorre à secagem são:

- Aumentar o período de conservação de alimentos. Trata-se do método de conservação no qual se inibem o crescimento dos microrganismos, a atividade de algumas enzimas e determinadas reações químicas por redução da atividade de água. Portanto, é na eliminação da água que reside o efeito conservante dessa operação;
- Reduzir o peso e o volume dos alimentos para facilitar e diminuir custos de transporte e armazenamento;
- Facilitar o uso e diversificar a oferta de produtos (ORDÓÑEZ et al., 2005; FELLOWS, 2006).

Silva (2000) menciona que no caso da desidratação pela circulação de ar quente, bem como a temperatura, a umidade, a velocidade do ar são controladas, podendo variar de acordo com o produto e o grau de secagem desejado. Em função de sua maior disponibilidade, o ar é o meio mais utilizado na secagem de alimentos.

O custo do combustível para aquecer o ar é o principal fator econômico que afeta as operações de secagem, razão pela qual os secadores comerciais possuem diversas características projetadas para reduzir as perdas de calor e economizar energia (FELLOWS, 2006).

Existem hoje muitos tipos de secadores que podem ser utilizados na desidratação de alimentos, porém a escolha de um determinado secador depende da natureza da matéria-prima, do produto final a ser obtido, dos aspectos econômicos e das condições de operação. De modo geral, os secadores podem ser divididos em adiabáticos e por contato. Os secadores adiabáticos são aqueles que fornecem o calor por meio de ar quente. Neste grupo podem ser incluídos os secadores de cabine, de túnel, atomizadores, leito fluidizado e os fornos secadores. Nos secadores por contato, a transferência de calor por superfície sólida é realizada em equipamentos como o secador de tambor (SILVA, 2000).

O equipamento mais importante para a desidratação de produtos líquidos com ar quente na indústria alimentícia é o secador atomizador (Figura 5). O produto

líquido subdivide-se em gotas muito pequenas no interior da câmara, onde elas entram em contato com o ar quente. A evaporação da água das gotas é praticamente instantânea, e cada uma delas se transforma em uma partícula seca que é transportada pelo ar de secagem. Em seguida, e na saída da câmara, as partículas secas separam-se da corrente de ar na qual estão suspensas e são recolhidas para o seu acondicionamento. A velocidade de desidratação é muito alta porque a área superficial das partículas é grande, e a temperatura do ar, elevada (150°C a 300°C). Contudo, o risco de superaquecimento do produto é mínimo, pois normalmente a temperatura da superfície das partículas não supera a temperatura do bulbo úmido do ar de secagem (40°C a 70°C), devido ao resfriamento associado com a evaporação da água e a seu tempo de permanência na câmara (1 a 10s). Os três elementos essenciais nesse tipo de secadores são o atomizador, a câmara de secagem e um sistema de recolhimento das partículas secas (ORDÓÑEZ, 2005).

A pulverização do líquido na câmara de secagem pode ser feita por discos ou bicos atomizadores (SILVA, 2000).

Os atomizadores de bico são suscetíveis ao entupimento por alimentos particulados, e os alimentos abrasivos gradualmente alargam as aberturas e aumentam o tamanho médio das gotículas (FELLOWS, 2006).

A desidratação por atomização é um processo contínuo onde o líquido ou pasta é transformado em produto seco, caracterizando-se pelo tempo de secagem relativamente curto. O processo consiste basicamente na atomização do líquido em câmara que recebe o fluxo de ar quente. A rápida evaporação da água permite manter a temperatura das partículas relativamente baixa, de maneira que a alta temperatura do ar de secagem não afete em demasia o produto. A forma como o ar quente entra em contato com o líquido atomizado é muito importante para as características do produto final (SILVA, 2000).

Domingues et al., (2002) mencionam que a desidratação por atomização quando bem conduzida gera produto de maior valor nutritivo, estável e também versátil em sua utilização.

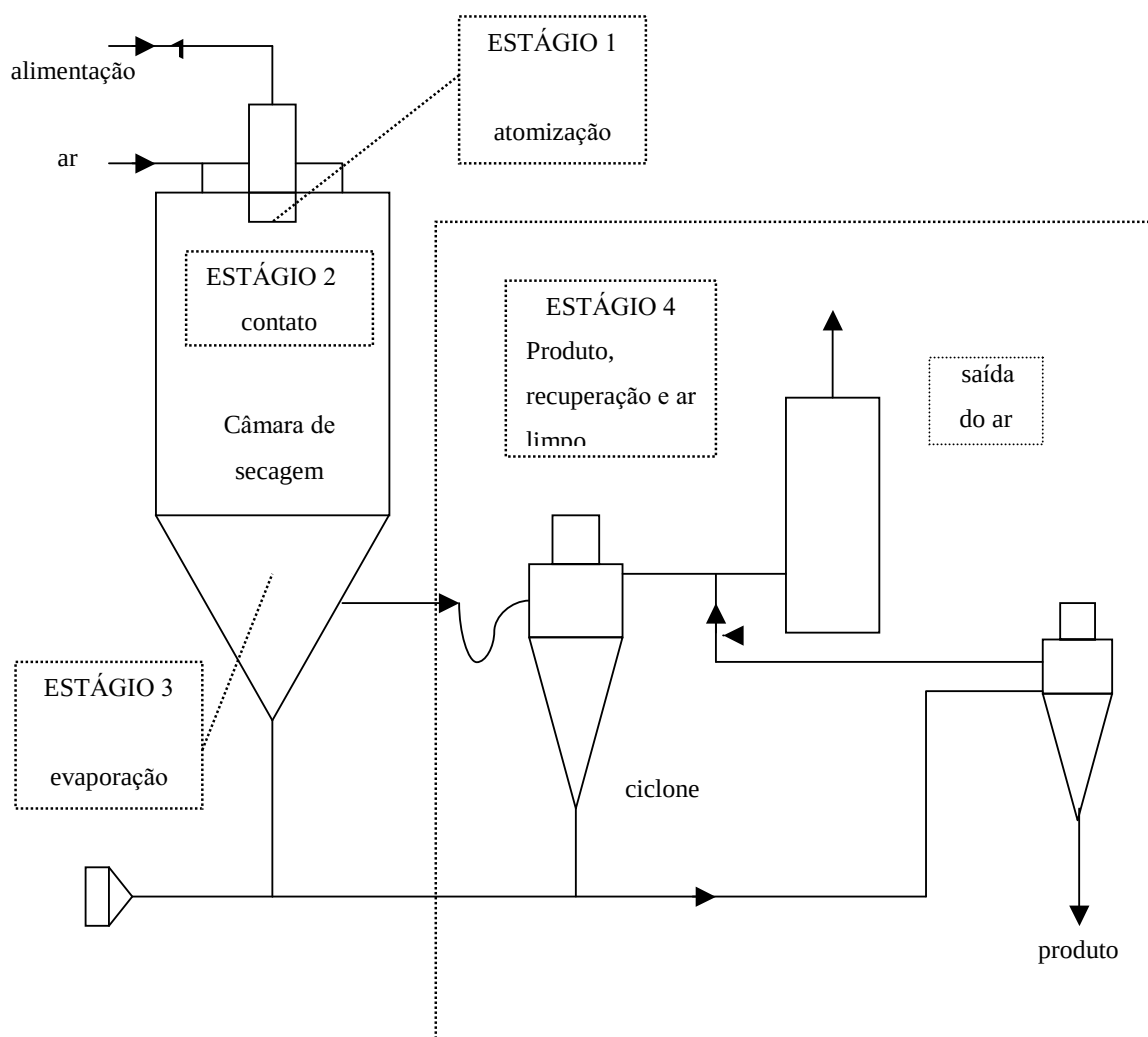


Figura 5. Esquema de funcionamento do “spray dryer”. Fonte: Masters (1979).

Gava (1983) menciona que as quatro fases da atomização interferem nas características do pó final. Assim, a maneira de atomizar e as propriedades do líquido atomizado influenciam o tamanho da partícula sólida, sua densidade, aparência e umidade. Já o contato líquido, ar quente e a evaporação influenciam a densidade do pó, aparência, umidade, retenção de aroma e sabor. As variáveis importantes no controle das características do pó final são: líquido atomizado (teor de sólidos, número e tamanho de partículas e

viscosidade), atomizador (tipo e mecanismo de funcionamento) e ar de secagem (velocidade, temperatura do ar de entrada e temperatura do ar de saída).

As principais vantagens do secador atomizador são a secagem rápida, a produção contínua em larga escala, baixos custos de mão-de-obra e operação e manutenção relativamente simples. As principais limitações são o alto custo inicial e a necessidade de um teor de umidade relativamente alto de alimentação para garantir que o alimento possa ser bombeado até o atomizador (FELLOWS, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Matéria-prima

Utilizaram-se os tubérculos de yacon (Figura 6) fornecidos por uma propriedade agrícola de Capão Bonito – SP, os quais após colheita foram armazenados em câmaras frias a 4°C.

As cepas de *Bifidobacterium bifidum* foram adquiridas em pó na Pharmácia Específica – Bauru – SP. O fornecedor do produto é PHARMA NOSTRA Lote 71130BB10, com data de fabricação em 11/2007 e validade em maio/2009, procedência EUA, tendo concentração de 20 bilhões UFC g⁻¹.

Para o ensaio experimental foram utilizados ratos machos e fêmeas da linhagem Wistar fornecidos pelo Biotério Central da UNESP Campus Botucatu (Botucatu – SP).



Figura 6. Raízes de yacon – Capão Bonito – SP.

3.2. Produção do yacon em pó

A produção de extrato desidratado de yacon foi desenvolvida no Laboratório de Processamento do CERAT/UNESP.

O processo foi realizado num reator de aço inoxidável fabricado pela R.A.B Ranazzi e Cia Ltda com capacidade de 50 litros com acabamento do tipo espelhado com fundo arredondado com válvula esférica de escoamento central, e o sistema de agitação possui um impelidor tipo âncora. O reator é dotado de parede dupla e recebe vapor de água para aquecimento de material em agitação.

Inicialmente as raízes recém-colhidas de yacon com casca foram higienizadas e cortadas em fatias finas e adicionadas no reator com água potável previamente aquecida a 90° C e permanecendo em agitação lenta por 10 minutos para aquecimento de efeito similar ao branqueamento. A Figura 7 mostra o reator com as raízes de yacon.



Figura 7. Reator com raízes de yacon.

Os ensaios foram realizados utilizando 20 kg de raízes de yacon em fatias de 1,5 cm de espessura e adicionadas a 20 litros de água aquecida a 90° C. Após o tempo de residência de 10 minutos, as raízes foram removidas e o líquido descartado. O mesmo procedimento foi repetido para todo o lote de yacon do experimento.

As raízes foram retiradas do reator e trituradas em liquidificador industrial por 1 minuto. A polpa produzida foi passada em tela de aço inox com malha de abertura 150 mesh, sendo posteriormente retornado ao reator e sob agitação recebeu aquecimento até atingir 90° C e permanecendo 10 minutos nesta temperatura. Após este tempo, a polpa recebeu 40g de carvão ativado, 40g de terra diatomácea CA/150, 120g de terra diatomácea CA/500 e permanecendo por 24 horas em agitação sem aquecimento. O filtrado coletado foi estocado sob refrigeração por 24 horas.

O carvão ativado utilizado foi adquirido da empresa CARBOMAF 346-5.

A diatomácea utilizada foi da marca DIATOMITA CIEMIL TIPO CA/150 e CA/500. É um material classificado como não perigoso, estável, não é inflamável, explosivo ou tóxico. A sua finalidade é de auxiliar na filtração de produtos químicos, com quantidade e modo de uso definido pelo usuário em função do tipo de processo empregado.

Ao filtrado foi adicionado 0,5% de ácido cítrico P.A e a seguir submetido a novo processo de filtração em filtro à vácuo (Figura 8) com pré-capa formada por mistura à 50% de terra diatomácea CA/150 e CA/500. A torta filtrante apresentou espessura de 30 mm e sobre esta superfície o líquido foi aplicado cuidadosamente. No reservatório o filtrado com características de ausência de particulados e cores foi removido e estocado sob refrigeração para posterior secagem. O produto foi seco em sistema tipo “spray-drier”. A Figura 9 mostra o fluxograma do processamento.



Figura 8. Filtro à vácuo utilizado no processo.

3.3 Processo de secagem

O produto foi seco em secador tipo “spray dryer” de aço inoxidável fabricado pela A.B Ranazzi e Cia Ltda, como mostra a Figura 10. O sistema de secagem é composto por:

- secador de ar;
- sistema de aquecimento, por resistências elétricas fixadas na parte superior do equipamento e encapsulada por uma cobertura de isolante térmico para minimizar perdas de calor;
- sistema de pulverização de líquido → localizado abaixo do sistema de aquecimento e dotado de um bico micro-aspersor;
- câmara de secagem e
- ciclone para a recuperação de pós-finos.

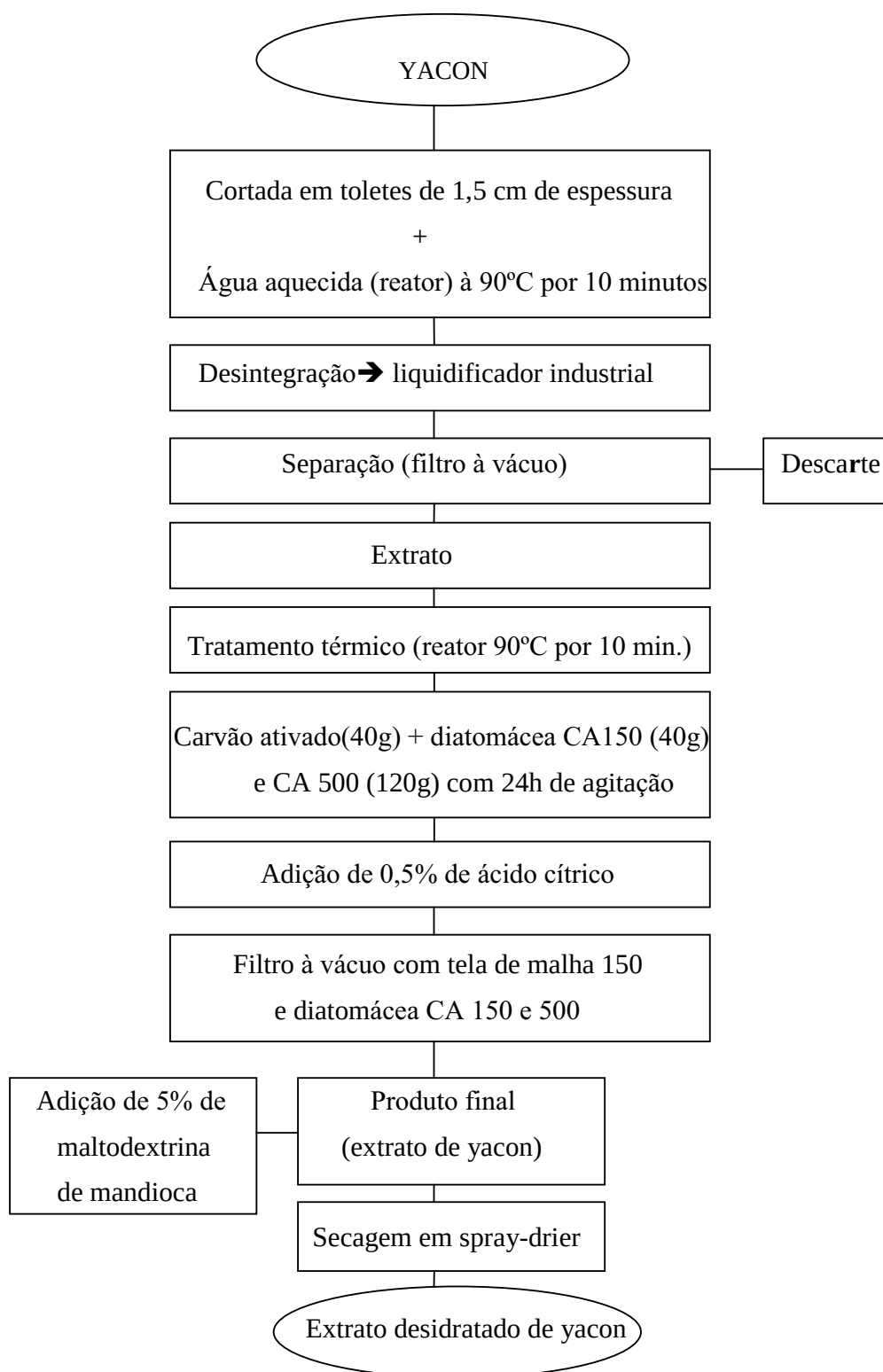


Figura 9. Fluxograma do processamento dos tubérculos de yacon.

Todo o equipamento possui acabamento do tipo espelhado.



Figura 10. Secador tipo “spray-dryer” utilizado na secagem do extrato desidratado de yacon.

Em todas as amostras foram adicionados 5% de maltodextrina de mandioca, que auxiliou como suporte para o processo de secagem. O equipamento operou com vazão de líquido de 25 mL/min e com bico micro aspersor de 0,2 mm de diâmetro. As temperaturas de entrada do ar de secagem variaram de 230°C a 250°C e as temperaturas de saída de secagem variaram de 100°C a 110°C. O produto em pó foi coletado, passado em peneira 0,180 mm e homogeneizado posteriormente. As amostras foram acondicionadas em potes de vidro herméticos rotulados para estocagem e evitar aumento da umidade.

3.4 Caracterização da matéria-prima

As análises químicas e físico-químicas do yacon *in natura* e extrato desidratado de yacon foram realizadas no Laboratório de Análises do Centro de Raízes e Amidos Tropicais CERAT/UNESP. Todas as análises foram feitas em triplicatas.

3.4.1 Umidade e Sólidos Solúveis Totais

Para a determinação do teor de umidade, as amostras foram colocadas em estufa a 104°C por 8 horas. Após esse período foram retiradas da estufa e colocadas em dessecador e novamente pesadas (AOAC, 1997).

O teor de sólidos solúveis foi medido, à temperatura ambiente, diretamente em um refratômetro (marca BIOBRIX) de bancada com escala de 0 a 100° Brix (BRASIL, 2005).

3.4.2 Cinzas

Foi determinada pela combustão da matéria seca em mufla a 550°C durante 2 horas. Após esse período as amostras foram colocadas em dessecador e pesadas (AOAC, 1997).

3.4.3 Proteínas

O teor de nitrogênio foi medido pelo método de micro Kjeldahl, conforme AOAC, “Association of Official Analytical Chemists” (1997). O fator utilizado para conversão do teor de nitrogênio em proteína bruta foi de 6,25.

3.4.4 Lipídios Totais

A determinação da matéria graxa foi realizada em extrator Soxhlet, utilizando éter de petróleo para a extração (AOAC, 1997).

3.4.5 pH

O pH foi determinado em pHmetro à 24°C usando a metodologia descrita pela AOAC (1997).

3.4.6 Acidez

A acidez foi determinada sob agitação magnética titulando a amostra com solução padronizada de hidróxido de sódio a 0,1N até atingir pH 8.2 – 8.3, segundo metodologia descrita pela AOAC (1997).

3.4.7 Carboidratos totais

O teor de carboidratos totais foi determinado por diferença, subtraindo de 100 a soma dos valores obtidos de umidade, proteína, lipídeos e cinzas (ANVISA, 2003).

3.4.8 Determinação da concentração de sacarídeos

Os perfis de açúcares foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com cromatógrafo da marca VARIAN, modelo PRO STAR, com duas bombas binárias, injetor automático (AUTO SAMPLER 410) e colunas BIORAD HPX-42A (BIORAD, sd; SCOTT, 1992) com detector de IR (índice de refração). A fase móvel foi água deionizada e filtrada em membrana PVDF 0,22 µm com 40 mm de diâmetro da marca MILLIPORE a um fluxo de 0,6 mL minuto⁻¹ e a temperatura da coluna foi de 85°C.

A determinação da concentração dos açúcares foi calculada em relação às análises de soluções padrões na concentração de 1%.

Como padrão para determinação da concentração de frutanos foi utilizado solução de 1% de inulina extraída de Dália, produto Sigma Aldrich nº 232-684-3 (KANEKOT et al, 1990).

3.4.9 Determinação de cálcio no extrato desidratado de yacon

A determinação da dosagem de cálcio (ANEXO B) no extrato desidratado de yacon foi realizada no Laboratório de Fertilizantes e Corretivos do Departamento de Recursos Naturais/Ciência do Solo – FCA/UNESP, pelo método de absorção atômica através do aparelho Perck Elmer.

3.5 Formulação de rações a partir do extrato desidratado de yacon

Para a formulação dos três tipos de ração, foram utilizados ingredientes de uso convencional com acréscimo de extrato desidratado de yacon e extrato desidratado de yacon com *Bifidobacterium bifidum*, sendo processadas anteriormente no Laboratório de Processamento de Matéria Prima do CERAT, em diferentes concentrações. Foram preparados três tipos de ração: controle, com extrato desidratado de yacon e extrato desidratado de yacon adicionado de *Bifidobacterium bifidum*. A Tabela 3 mostra os ingredientes das rações e suas respectivas quantidades. Foi utilizada como referência uma dieta manufaturada (dieta controle) sem adição de extrato desidratado de yacon contendo a composição de proteína (21% albumina), óleo de soja (8%), mistura mineral 5% (Tabela 4) AOAC (1975), mistura vitamínica 2% (Tabela 5) (Nutritional Biochemicals Corporation, 1977/78), fibra 1%, mistura carboidrato (25% sacarose /75% amido) para completar 100%.

Para o preparo de cada dieta foi utilizado o misturador industrial (MARCONI) e posteriormente utilizado o misturador industrial (CAF – modelo M60) (Figura 11) sendo misturado até a completa homogeneização e umidificação. Após esse processo, a massa obtida foi peletizada (Figura 12) em máquina peletizadora de ração (Chavantes – PR), seca por ventilação e acondicionada em sacos plásticos previamente identificados e mantida sob congelamento. Sendo transferida para temperatura ambiente duas horas antes do consumo.

Tabela 3. Composição das respectivas rações elaboradas.

Ingredientes	Dietas ¹		
	C	Y	YB
Albumina (kg)	0,21	0,21	0,21
Óleo de soja	0,08	0,08	0,08
Minerais (kg)	0,05	0,05	0,05
Vitaminas (kg)	0,02	0,02	0,02
Fibras (Kg)	0,01	0,01	0,01
Sacarose (kg)	0,16	0,09	0,09
Amido (Kg)	0,47*	0,34*	0,34*
Extrato desidratado de yacon (kg)	-----	0,20**	0,20**
<i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i> (kg)	-----	-----	0,01

¹ C = dieta controle, Y = dieta com yacon (pó), YB = dieta com yacon e *Bifidobacterium bifidum*.

* Valor referente à fécula de mandioca.

** Valor referente à adição de extrato desidratado de yacon.

Tabela 4. Composição do complexo mineral – mistura salina, utilizado como fonte de micronutrientes das dietas preparadas.

<i>Minerais</i>	<i>**Quantidade (g)</i>	Fo
Carbonato de cálcio	69,655	n
Fosfato tricálcio	189,20	te:
Cobre	0,0088	AO
Citrato férrico	1,332	AC
Sulfato de magnésio	20,0	(19
Manganês quelado	0,304	75)
Iodeto de potássio	0,068	**
Cloreto de potássio	46,40	Val
Cloreto de sódio	26,40	ore
Fosfato de sódio bifásico	46,40	s
Zinco glicina	0,228	esti
		pul
		ado
		s

para o preparo de 400g de complexo mineral/salino.

A mistura salina foi preparada no Laboratório de Análises do CERAT.

Tabela 5. Composição do complexo vitamínico utilizado como fonte de micronutrientes das dietas preparadas.

<i>Vitaminas</i>	<i>**Quantidade (g)</i>
Tiamina (Vit B1)	0,08
Piridoxina (Vit B6)	0,08
Riboflavina (Vit B2)	0,08
Cianocobalamina (Vit B12)	0,0009
Pantotenato de cálcio	0,32
Colina ou citrato de colina (Vit B7)	32,00
Retinol (Vit A)	0,024
Ergocalciferol (Vit D)	0,02
Tocoferol acetato (Vit E)	0,80
Menadiona (Vit K)	0,32
Ácido paraminobenzóico (PABA)	1,60
Niacina	0,80
Ácido ascórbico (Vit C)	16,0
Inositol	16,0
Biotina	0,0048
Sacarose	91,84

Fonte: Nutritional Biochemicals Corporation (1977/78).

** Valores estipulados para o preparo de 160g de complexo vitamínico.

O complexo vitamínico utilizado nesse estudo foi preparado na Farmácia de Manipulação Cruz Vermelha de Botucatu.

Não foi possível elaborar a ração controle através da peletizadora, sendo a mesma feita manualmente (Figura 13). A ração com yacon e *Bifidobacterium bifidum* foi armazenada em temperatura ambiente. Para o tratamento total dos animais, foram preparados 8 kg de cada dieta para consumo ao longo do experimento.



Figura 11. Misturador industrial CAF – Modelo M60.



Figura 12. Ração peletizada.



Figura 13. Ração elaborada manualmente.

3.6 Experimentação Animal

3.6.1 Protocolo Experimental

Neste experimento foram utilizados 24 ratos (Figura 14) da linhagem Wistar (12 machos e 12 fêmeas) com 45 dias de idade para os machos e 52 dias para as fêmeas e peso corpóreo médio de 190 e 180g, respectivamente. Todos os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da UNESP Campus Botucatu (Botucatu – SP) e mantidos no biotério da Universidade do Sagrado Coração (Bauru – SP). O projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da USC para aprovação (Anexo A).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, onde cada grupo foi constituído por quatro animais machos e quatro fêmeas separadamente, mantidos em gaiola de polipropileno de 41x34x16 cm, com tampa de aço inox na forma de grade, e forradas com maravalha, sendo as trocas das gaiolas e da maravalha realizada três vezes na semana (segundas, quartas e sextas-feiras).

Os machos e fêmeas dos grupos controle (C) receberam dieta semi-sintética durante todo o período experimental com reposição e controle diário. Os machos e fêmeas dos grupos com yacon (Y) receberam ração manufaturada com yacon durante o período experimental; os animais do grupo yacon + *Bifidobacterium bifidum* (YB) receberam dietas com yacon acrescida de *Bifidobacterium bifidum*.

Receberam água filtrada em bebedouros de vidro com capacidade de 500 ml, tampa de borracha e bico gotejador, “*ad libitum*” durante todo o experimento. Ao longo de todo o período o peso corpóreo dos animais foi registrado para verificar o ganho de peso dos mesmos através de balança semi-analítica em dias alternados e também registrado mudanças do crescimento, alterações comportamentais e gastrintestinais. Todos os animais foram sacrificados 60 dias após o início do experimento



Figura 14 Animais utilizados no experimento.

3.6.2 Identificação dos animais

Durante o experimento, os animais foram identificados na cauda, com caneta de ponta porosa de acordo com numeração individual dos animais indicando o número referente ao grupo, com numeração de 1 – 4 (riscos) especificamente. Esta marcação foi mantida durante todo o experimento, sendo reforçada a marcação a cada 6 dias.

As gaiolas foram identificadas com ficha descrita de cada grupo, e foram separados oito animais para cada um, quatro machos e quatro fêmeas para cada tratamento.

3.6.3 Sacrifício de animais e coleta de sangue e fígado

O sacrifício dos animais foi realizado no 60º dia, através de anestesia intraperitoneal com relaxante muscular Anasedan = cloridrato de xilazina (0,2 ml) e anestésico Dopalen = cloridrato de ketamina (0,2 ml). Por exsanguinação através de punção cardíaca

(Figura 15), o sangue foi coletado para a realização dos exames bioquímicos séricos (colesterol, triglicérides, glicemia e transaminases). O sangue foi coletado em frascos isento de anti-coagulantes, da marca BD – Vacutainer SST II 5ml devidamente identificados. Após repouso foi centrifugado a 3000 rpm por 10 min (Centrifuga Centribio 80- 2B) para se obter o soro de cada animal. Apartir do soro é que foram feitas determinações das moléculas de glicose, colesterol, triglicérides e transaminases.

Todas as amostras foram mantidas à -18° C até o momento da análise.

Foi coletado o fígado e retirado um fragmento longitudinal do lobo direito para análise histológica. Um fragmento longitudinal de 0,3 a 0,5 cm de espessura do lobo direito do fígado de cada animal foi fixado em solução de formol em solução salina a 10% v/v por 48 horas, a seguir imerso em álcool a 70% por 24 horas. As secções de 0,4 a 0,5µm de espessura foram coradas com hematoxilina e eosina (HE).

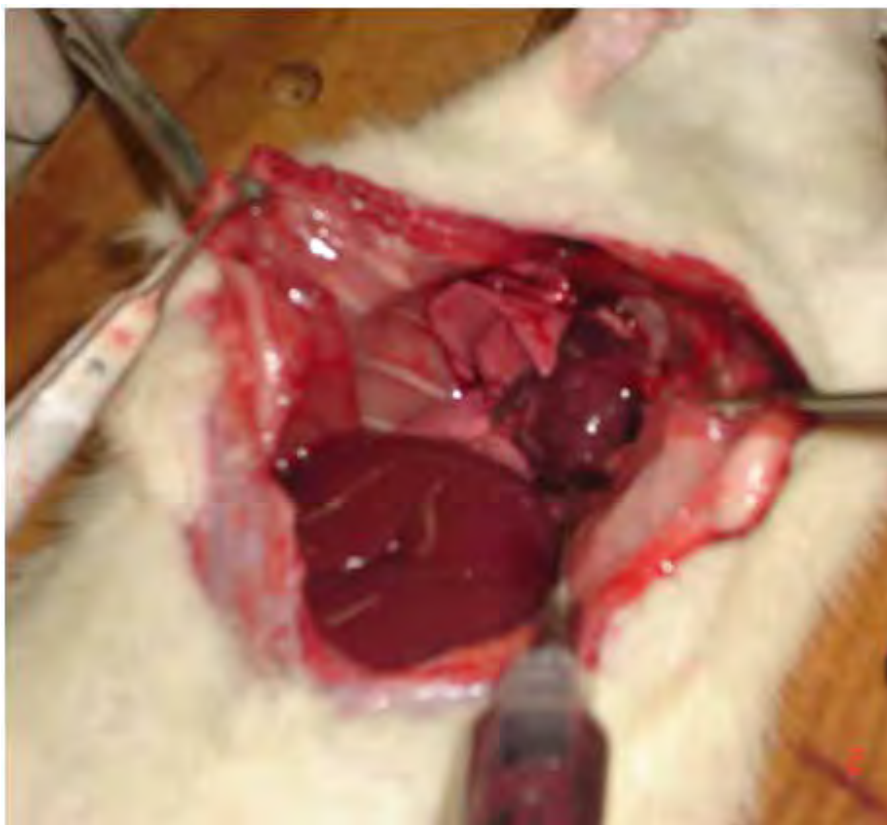


Figura 15. Exsanguinação através de punção cardíaca.

3.6.3.1 Exames bioquímicos séricos

3.6.3.1.1 Colesterol Total

O teste foi feito no soro para a determinação do nível de lipídio no sangue. O colesterol está presente nos glóbulos vermelhos e músculos, mas a maioria do colesterol está combinado com os ácidos graxos no sangue circulante. Para a realização deste exame foi utilizado o método enzimático da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.

3.6.3.1.2 Glicose

O teste foi feito no soro para a determinação de níveis de glicose. Para a realização do teste foi utilizado o método enzimático da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.

3.6.3.1.3 Transaminases

- **Aspartato Amino Transferase (AST) – Método cinético – UV**

O teste foi feito para identificar a enzima AST (Aspartato Amino Transferase) anteriormente chamada de Transaminase Glutâmico Oxalacética encontrada no coração, fígado, músculo esquelético, rins e pâncreas. O teste é usado primariamente para identificar dano ao coração ou fígado. Para a realização deste exame foi utilizado o método cinético - UV da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.

- **Alanina Amino Transferase (ALT) – Método cinético – UV**

O teste foi feito para identificar a enzima ALT (Alanina Amino Transferase) anteriormente chamada de Transaminase Glutâmico Pirúvica encontrada no fígado. Dano químico do fígado (drogas e álcool) ou hepatite aguda provocam altos níveis de

ALT. Para a realização deste exame foi utilizado o método cinético - UV da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.

3.6.3.1.4 Triglicérides

O teste foi feito para determinar os níveis de triglicérides. A metodologia colorimétrica enzimática confere boa reprodutibilidade e grande especificidade ao sistema. Para realização do teste foi utilizado o produto Triglicérides Liquiform da Labtest Diagnóstica S.A.

3.6.3.2 Análise histológica

Cortes histológicos de fígado corados (APÊNDICE A) pela hematoxilina-eosina foram analisados para detecção de alterações estruturais indicativas de toxicidade, utilizando-se de critérios histopatológicos validados pela literatura científica (HARD et al., 1999; HARDISTY ; BRIX, 2005).

3.7 Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente pelo Programa SIGMASTAT (versão 3.5), realizando-se a análise de variância com comparação de mais de 2 grupos (ANOVA para variáveis paramétricas e KRUSKAL-WALLIS para variáveis não paramétricas complementadas com teste de TUKEY, métodos de HOLM-SIDAK e DUNN's). O nível de significância foi de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Escurecimento enzimático do yacon

O processo de aquecimento no experimento foi realizado à 90°C por 10 minutos, utilização de 0,5 % de ácido cítrico a fim de evitar o escurecimento enzimático e pré-capa com diatomácea CA 150 e 500 resultando na secagem em um produto de coloração clara (Figura 16).

O processo utilizado segundo Ishiki (1997) *apud* Quinteros (2000) da polpa de yacon foi diferente deste estudo principalmente na lavagem das raízes com solução de bissulfito de sódio a 0,5%, adição de 0,1% de sorbato de potássio, 0,3% de ácido ascórbico e acidificação até pH de 4,5. Ribeiro (2008) utilizou somente o bissulfito de sódio, porém em menores concentrações Já Silveira (2009) utilizou 0,5% de ácido cítrico e 0,03% de ácido áscorbico.

Quinteros (2000) utilizou no suco de yacon, aquecimento superior ao processo deste estudo, porém utilizou o mesmo tempo e adicionou solução de ácido ascórbico a 0,2%. Entretanto não foi possível eliminar totalmente a atividade da polifenoloxidase, sendo necessária uma nova adição de 0,2% de ácido ascórbico (p/v) no suco para evitar alterações na

cor. Silva (2004) também adicionou ácido ascórbico, porém em uma porcentagem maior, sendo o tratamento térmico com tempo mais reduzido.

Para inativação enzimática e inibição da oxidação química do yacon, no estudo realizado por Ventura (2004) foi utilizado solução aquosa de metabissulfito de sódio a 200 mg L^{-1} por 2 minutos. O mesmo produto foi utilizado por Marangoni (2007) na obtenção da farinha de yacon, sendo também utilizado por Tanaka et al (2005).

O trabalho de Lobo (2004) difere totalmente do processo deste estudo, uma vez que as amostras de yacon *in natura* foram submetidas à autoclavagem (121°C por 20 min.) para inativação das enzimas presente nas raízes e posteriormente foi submetido à liofilização para obtenção da farinha de yacon.

Não foi relatado nenhum processo para evitar o escurecimento enzimático no trabalho de Moscatto et al (2004) na produção de farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate.



Figura 16. Extrato desidratado de yacon com 5% de maltodextrina seco em spray-drier.

A espessura da pré-capa com diatomácea CA150 e 500 mesh foi um fator relevante para obtenção do produto de cor clara, uma vez que sua finalidade é para auxiliar na separação de produtos químicos indesejáveis ao produto.

Os procedimentos utilizados nos ensaios foram físicos, exceto a adição de ácido cítrico que é considerado um aditivo conservante e encontra-se na lista de materiais reconhecidos como seguros, conhecido como GRAS (Generally Recognized As Safe) e publicada nos Estados Unidos por uma equipe integrada pela Associação dos Fabricantes de Extratos e Flavorizantes (FEMA = Flavor and Extract Manufactures Association) e da Administração de Drogas e Alimentos (FDA = Food and Drug Administration).

O ácido cítrico é o ácido mais comum usado na indústria de alimentos e sua aplicação é de redução do pH, bom agente tamponante, controle de crescimento microbiano, aromatizante, ação quelante e mascara o gosto desagradável da sacarina. É considerado sinergista em relação a antioxidantes na prevenção de gorduras e do escurecimento não enzimático do produto (BRASIL,1997).

As operações de adição de diatomácea e carvão ativado objetivaram a remoção de moléculas contaminantes, e para diminuir a coloração e opacidade no filtrado final.

4.2 Controle de temperatura

Neste estudo o controle das condições de entrada e saída de temperatura no *spray-drier* foi necessário, uma vez que a entrada acima de 250°C e saída acima de 110°C resultam em maior gasto de energia e afetam o produto conforme dados da literatura.

Algumas variáveis do processo de secagem podem afetar as propriedades dos produtos e devem ser controladas como: variações na concentração e temperatura do produto, variações na temperatura do ar, variações nos métodos e condições de atomização e diferenças nas propriedades físicas e químicas do material de alimentação.

O produto obtido foi um pó fino, aderente às paredes internas do equipamento (Figura 17), e pequena quantidade foi arrastada para o ciclone de descarga (Figura 18).

O processo de injeção do filtrado na temperatura ambiente no secador através de bico pulverizador e as temperaturas de entrada em torno de 230 a 250 °C e saída de 100 a 110 °C foram suficientes para a obtenção de produto com umidade final de 2,1%.

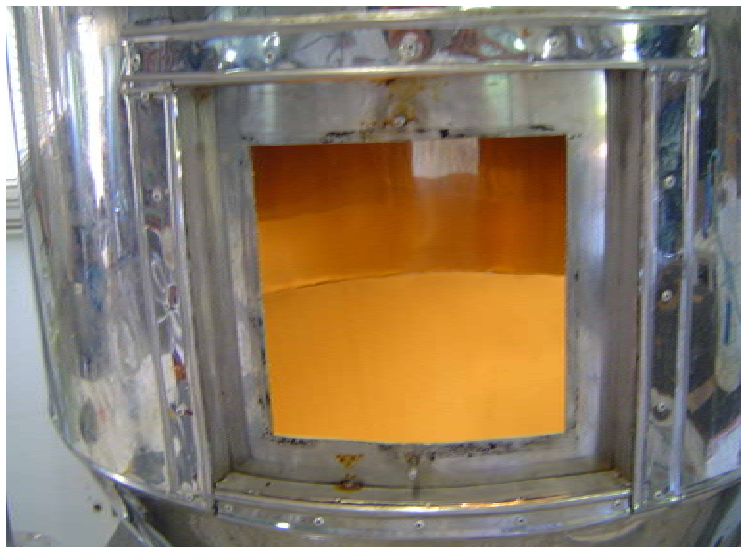


Figura 17. Pó fino aderente as paredes do spray-drier.



Figura 18. Extrato desidratado de yacon arrastado para o ciclone de descarga.

4.3 Balanço de massa da produção do extrato desidratado de yacon

A produção de 3,42 kg de extrato desidratado de yacon com umidade de 2,1% foi obtida a partir de 47,35 kg de raízes de yacon através de diversas etapas de processamento conforme especificados no balanço de massa da Figura 19. O rendimento do produto foi de 7,2%.

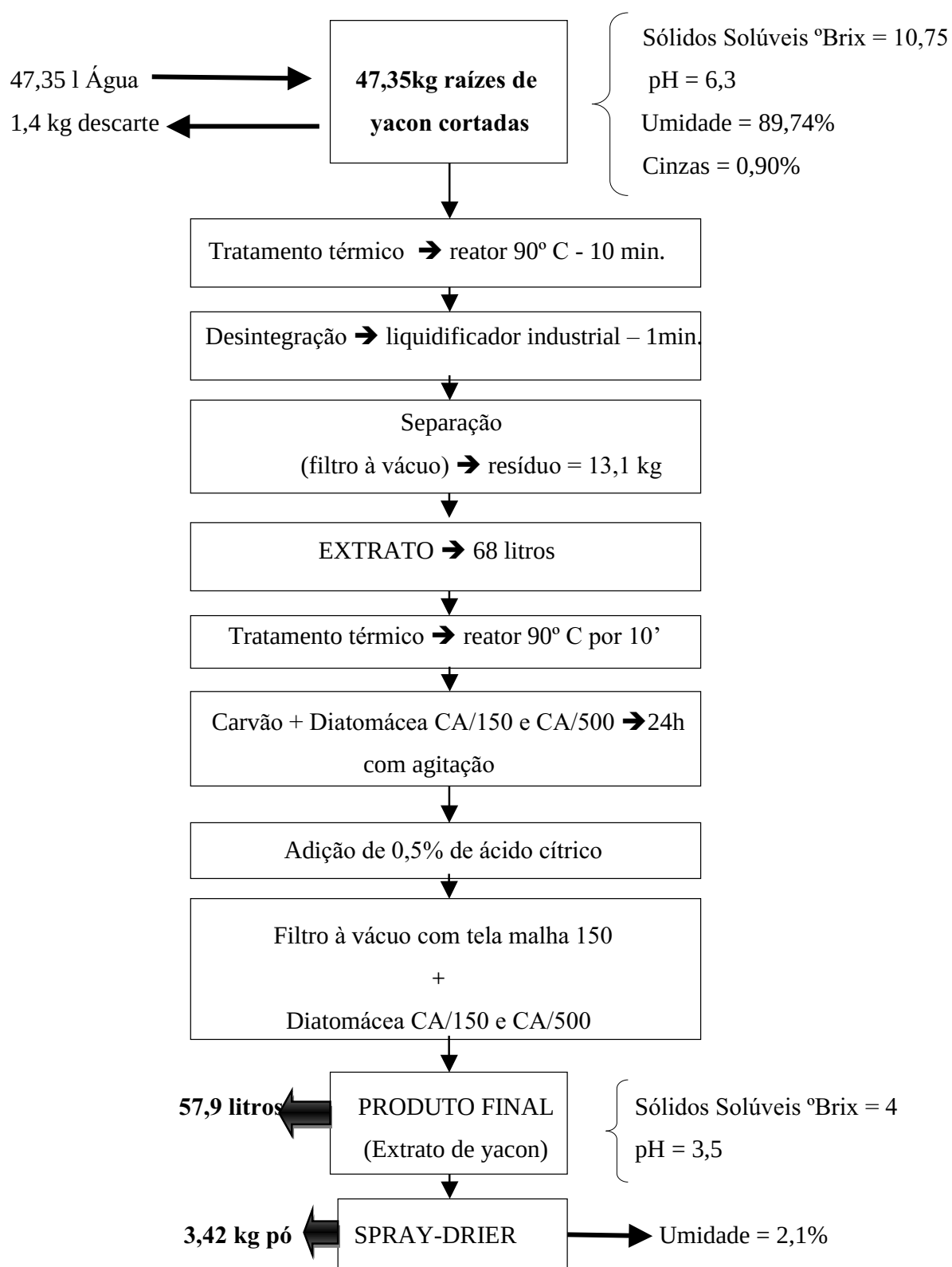


Figura 19. Balanço de massa da produção de extrato desidratado de yacon.

4.4 Caracterização dos tubérculos de yacon *in natura* e do extrato desidratado de yacon

4.4.1. Propriedades físico-químicas

A caracterização química e físico-química das raízes do yacon *in natura* utilizadas nos ensaios está apresentada na Tabela 6.

Tabela 6. Caracterização química e físico-química do yacon *in natura*¹

<i>Análises</i>	<i>Teores</i>	
	Base úmida	Base seca
Umidade (%)	89,74 ± 0,252	----
Carboidratos totais (%)	2,2	73,85
Lipídios Totais (%)	0,8 ± 0,042	7,62 ± 0,311
Proteína (%)	6,40 ± 0,283	9,65 ± 0,323
Acidez (% em solução Normal)	24,15 ± 0,071	24,15 ± 0,071
Cinzas (%)	0,90 ± 0,162	8,85 ± 1,603
pH	6,3 ± 0	
Sólidos Solúveis (° Brix)	10,75	

¹ resultados expressos como média e desvio padrão, n = 3;

De acordo com a Tabela 6, observa-se que os teores de umidade das raízes de yacon *in natura* na base úmida estão em conformidade com os trabalhos de Nieto (1991), Vilhena et al (1997), Quinteros (2000), Capito (2001) e Marangoni (2007), que encontraram 84,8; 85,93; 86,16 90,8 e 87,45% respectivamente. Porém não estão de acordo com o estudo de Silva (2007) que obteve teores médios de 94,78; 95,63 e 95% na yacon cultivada no estado de Santa Catarina em três regiões distintas.

O teor de lipídios encontrado neste estudo foi de 0,8%. Os teores de lipídios citados na literatura apresentam grandes variações. Quinteros (2000), Capito (2001) e Marangoni (2007) encontraram 0,03, 0,08 e 0,10% respectivamente. Silva (2007) encontrou

em seu estudo 0,26; 0,24 e 0,04% nas raízes de yacon de três regiões estudadas do estado de Santa Catarina. Já Nieto (1991) encontrou 9,87 % de lipídeos em raízes de yacon de um clone amarelo da Bolívia.

Os valores de proteínas encontrados nas raízes de yacon foram superiores aos mencionados na literatura, exceto por Nieto (1991) que relata teor de 24,34% em um clone amarelo. Quinteros (2000), Capito (2001) e Marangoni (2007) mencionam valores de 0,62, 0,32 e 0,26% respectivamente. Em seu trabalho, Silva (2007) menciona valores semelhantes de 0,73 e 0,76% em duas regiões e 0,35% diferindo das demais regiões estudadas.

Os teores de cinza encontrados nas raízes de yacon foram superiores aos mencionados na literatura, exceto por Nieto (1991) que relata teor de 23,03% em um clone amarelo. Quinteros (2000) e Capito (2001) relatam valores de 0,41%. Marangoni (2007) encontrou em seu estudo 0,15%. Silva (2007) menciona teores de 0,41; 0,48 e 0,17% nas três regiões estudadas.

O teor de carboidratos totais foi semelhante com Silva (2007) encontrado nas raízes de yacon em uma das regiões do estado de Santa Catarina que foi de 2,89%. Nas demais regiões foram mencionados valores de 3,82% e 4,44% respectivamente. Os valores estão em desacordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (USP, 2004) que relata valor de 8,41%. Em seu estudo Marangoni (2007) relata valor de 12,04% de carboidratos totais.

A análise de pH resultou em 6,3, valor semelhante ao do estudo de Marangoni (2007) que obteve 6,51. Esses valores decorrem da composição e pH natural da matéria-prima.

Em base seca, pode-se observar que o teor de carboidratos totais foi semelhante ao encontrado por Silva (2007) nas raízes de yacon de uma região do estado de Santa Catarina que foi de 73,25%. No mesmo estudo, nas demais regiões foram encontrados 66,13 e 88,85% respectivamente. Marangoni (2007) menciona um valor de 95,94% de carboidratos totais, valor este superior ao encontrado.

Os valores de lipídios encontrados diferem dos dados da literatura, sendo valor superior ao estudo de Marangoni (2007) que obteve 0,84% e de Silva (2007) que

menção valores de 5,05; 5,52 e 0,75%. Em seu trabalho, Nieto (1991) obteve 1,5% de lipídios e Vilhena et al. (1997) encontraram teor de 1,66%.

Os teores de cinzas são semelhantes ao trabalho de Silva (2007) em duas regiões, que tem como valores 7,77 e 10,93% respectivamente. Na outra região, o teor encontrado foi de 3,48, valor semelhante ao encontrado por Nieto (1991) de 3,5% e de Vilhena et al. (1997) que encontraram 3,56%. O valor obtido no estudo de Marangoni (2007) foi de 1,26%, o qual difere deste estudo.

Em relação às proteínas, o valor encontrado foi inferior ao relatado por Silva (2007) que obteve 13,93 e 17,42% em duas regiões estudadas. Em outra região o valor foi de 6,92. Nieto (1991) menciona um teor de 3,7% e 2,07% em Marangoni (2007), valores inferiores ao encontrado neste estudo.

Os valores citados na literatura apresentam grandes variações, sugerindo diferenças entre clones cultivados, região, época de colheita, entre outros.

A Tabela 7 demonstra a caracterização química e físico-química do extrato desidratado de yacon.

Tabela 7. Caracterização química e físico-química do extrato desidratado de yacon ¹

<i>Análises</i>	<i>Teores</i>	
	Base úmida	Base seca
Umidade (%)	2,1 ± 0,220	----
Carboidratos totais (%)	93,68	95,66
Lipídios Totais (%)	0,16 ± 0,096	0,17 ± 0,096
Proteína (%)	1,6 ± 0,136	1,7 ± 0,128
Acidez (% em solução Normal)	77,1 ± 0	77,1 ± 0
Cinzas (%)	2,60 ± 0,126	2,67 ± 0,128
pH	4,36 ± 0,092	
Ca (%)		0,04

¹ resultados expressos como média e desvio padrão, n = 3;

Os resultados do extrato desidratado de yacon na Tabela 7 mostram na base úmida que o teor de umidade diferiram da literatura, pois não foi encontrado dados de yacon submetidos ao processo de secagem através de *spray-drier*. Em seu trabalho, Marangoni (2007) utilizou farinha de yacon, a qual sofreu o processo de secagem em estufa com circulação de ar durante 72 horas e posteriormente triturada em multi-processador e obteve 15,42% de umidade. No estudo de Silva et al (2004) as raízes de yacon foram desidratadas e obtiveram uma média de umidade de 8,24%. Lobo (2004) relata que as raízes de yacon *in natura* foram submetidas à autoclavagem (121° por 20 min.) e posteriormente o material foi submetido à liofilização e foi obtida a farinha de yacon, a qual resultou em 3,25% de umidade. Moscatto et al (2004) utilizaram farinha de yacon secas e trituradas e obtiveram 4,37% de umidade.

Através dos resultados observados nos ensaios, o processo de secagem por *spray-drier* foi satisfatório em relação à umidade, uma vez que neste trabalho obteve-se pequena porcentagem (2,1%). Neste nível de umidade o produto tem baixa atividade de água, mas com alta higroscopia, razão pela qual deve ser adequadamente armazenado.

Os teores de carboidratos totais diferem dos valores encontrados na literatura, uma vez que dados relatam sobre farinha de yacon submetidas à secagem em estufa. Moscatto et al (2004) obtiveram 82,49% e Marangoni (2007) valor de 77,94%.

Os valores de lipídios coincidem com o estudo de Marangoni (2007) que obteve 0,16% mesmo sendo um processo diferente de obtenção da farinha de yacon. Moscatto et al (2004) mencionam o teor de 1,07% de lipídeos.

Marangoni (2007) menciona que em relação às proteínas obteve 1,76%, teor semelhante a este estudo. No trabalho de Moscatto et al (2004) obtiveram 8,32%.

Os teores de cinzas foram inferiores aos encontrados na literatura, sendo que Moscatto et al (2004) mencionam 3,75% e 4,72% no estudo de Marangoni (2007).

A acidez do produto final das raízes de yacon (pó) foi superior em relação ao produto *in natura* devido à adição de ácido cítrico. O mesmo ocorreu com o valor do pH, que foi alterado de alcalino para ácido.

Em base seca, foi observado valores de carboidratos totais semelhantes ao estudo de Marangoni (2007) que obteve 92,15% e 91,37% em Silva et al (2004), porém o

produto utilizado foi farinha de yacon desidratada. O valor difere quando comparado ao trabalho de Moscatto et al (2006) que mencionam teor de 86,97%.

Os valores de lipídios foram semelhantes ao do trabalho de Marangoni (2007) que relata valor de 0,19% de lipídios. Em Moscatto et al (2006) observa-se 0,70% e 2,36% relatado no estudo de Silva et al (2004).

Os teores de proteínas foram semelhantes ao estudo de Marangoni (2007) que menciona valor de 2,08%. Alguns estudos diferem deste trabalho, como mencionam Silva et al (2004) e Lobo (2004) que obtiveram 3,22% e 2,56% de proteínas, respectivamente. Moscatto et al (2006) com valores de 7,77%. No estudo de Lobo (2004) as raízes foram autoclavadas e liofilizadas. Silva et al (2004) e Moscatto et al (2006) utilizaram raízes de yacon desidratadas.

Os teores de cinzas foram inferiores aos encontrados na literatura, sendo que Silva et al (2004) encontraram valores de 3,05% de cinzas e Lobo (2004) menciona valores de 3,73%. Moscatto et al (2006) mencionam 4,55% e 5,58% no estudo de Marangoni (2007).

Vale ressaltar que neste estudo o produto foi submetido à filtração através de filtro à vácuo com tela de malha 150 com pré-capa de diatomácea 150 e 500, antes do processo de secagem e foi adicionado 5% de maltodextrina de mandioca. Estes processos resultaram em um produto diferenciado, podendo interferir na caracterização físico-química do produto final.

O teor de cálcio foi inferior aos encontrados na literatura, sendo que Nieto (1991) encontrou nas raízes tuberosas de yacon em base seca 0,14%. No estudo de Lobo (2004) foram mencionados valores de 0,11%; 0,80% e 0,83%, sendo amostras de raízes tuberosas de yacon autoclavada, liofilizada e seca respectivamente.

4.5 Perfil de açúcares determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) da raiz de yacon *in natura*

Os açúcares livres verificados nas raízes estudadas por Asami et al (1989) foram somente frutose, glicose e sacarose, num total de 29% da massa seca.

As concentrações calculadas podem ser observadas na Tabela 8 que representa a composição percentual de sacarídeos e respectiva concentração em peso seco observados em amostras de raiz de yacon.

Tabela 8. Composição relativa percentual de sacarídeos e respectiva concentração em peso seco observados em amostras de raiz de yacon.

<i>Sacarídeos</i>	Composição em Carboidratos %	Concentração (g 100 ⁻¹)
Frutanos	46,1	2*
Sacarose	9,7	0,3
Glicose	14,5	0,6
Frutose	29,6	2

*Padrão 1% de inulina extraída de Dália (Sigma Aldrich nº 232-684-3)

4.6 Perfil de açúcares determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato desidratado de yacon

A Figura 21 mostra os perfis cromatográficos dos açúcares encontrados no extrato desidratado de yacon, sendo os mesmos constituintes da raiz de yacon.

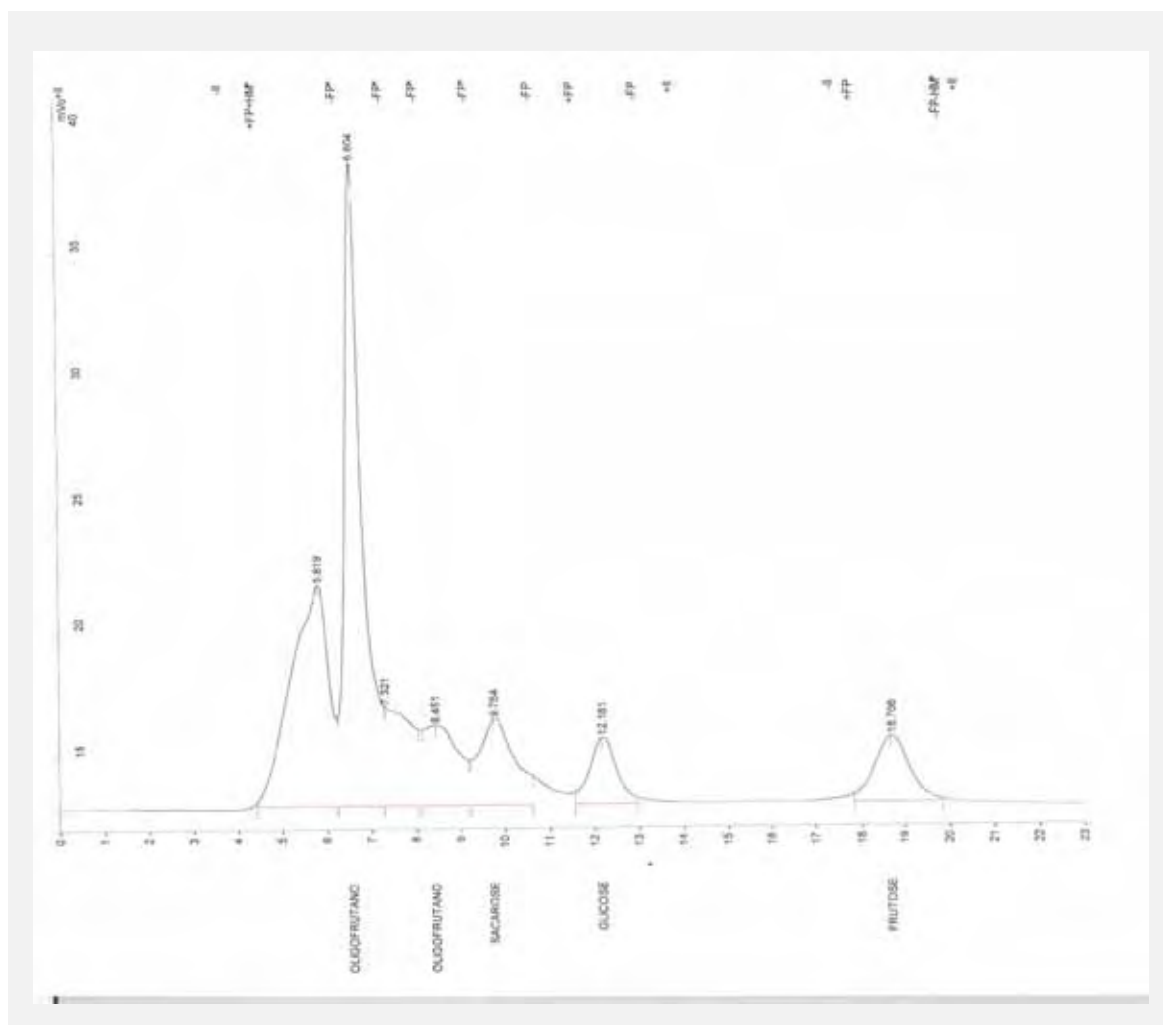


Figura 21. Cromatograma do extrato desidratado de yacon discriminando os perfis dos açúcares na coluna BIORAD HPX- 42 A, temperatura da coluna 85°, com fluxo de 0,6 mL/minuto, fase móvel água deionizada e tempo de corrida de 30 minutos.

As concentrações calculadas podem ser observadas na Tabela 9 que representa a composição percentual de sacarídeos e respectiva concentração em peso seco observados em amostras de extrato desidratado de yacon.

Tabela 9. Composição relativa percentual de sacarídeos e respectiva concentração em peso seco observados em amostras de extrato desidratado de yacon.

<i>Sacarídeos</i>	Composição em Carboidratos %	Concentração (g 100 ⁻¹)
Frutanos	77,5	22*
Sacarose	9,5	2,3
Glicose	5,5	1,5
Frutose	7,5	3,1

* Padrão 1% de inulina extraída de Dália (Sigma Aldrich nº 232-684-3)

4.7 Resultados dos exames físicos e bioquímicos dos animais

4.7.1 Ganho de peso dos grupos experimentais

O ganho de peso dos animais machos e fêmeas ao longo do tratamento foram obtidos pela diferença entre o peso no 59º e no 1º dia, demonstrado nas Figuras 22 e 23, respectivamente. Os dados indicaram que houve evolução dos grupos, sendo o maior ganho de peso do grupo YB (149,5g para os ratos machos e 77,25g para as fêmeas). Em todo o experimento o grupo citado consumiu uma média de $19,05 \pm 3,49$ g/rato/dia correspondente aos machos e $13,61 \pm 1,97$ g/rato/dia as fêmeas. No início do experimento os animais do grupo YB apresentaram um quadro de diarreia, o qual foi normalizado após uma semana, sugerindo que se trata de um período de adaptação à ração e um maior consumo do grupo.

No trabalho de Gråsten et al (2002) compararam os efeitos de três dietas com farelos de cereal distintos (fibra) e uma dieta com inulina. Os resultados não demonstraram que houve diferença significativa no aumento de peso entre os diferentes grupos dietéticos.

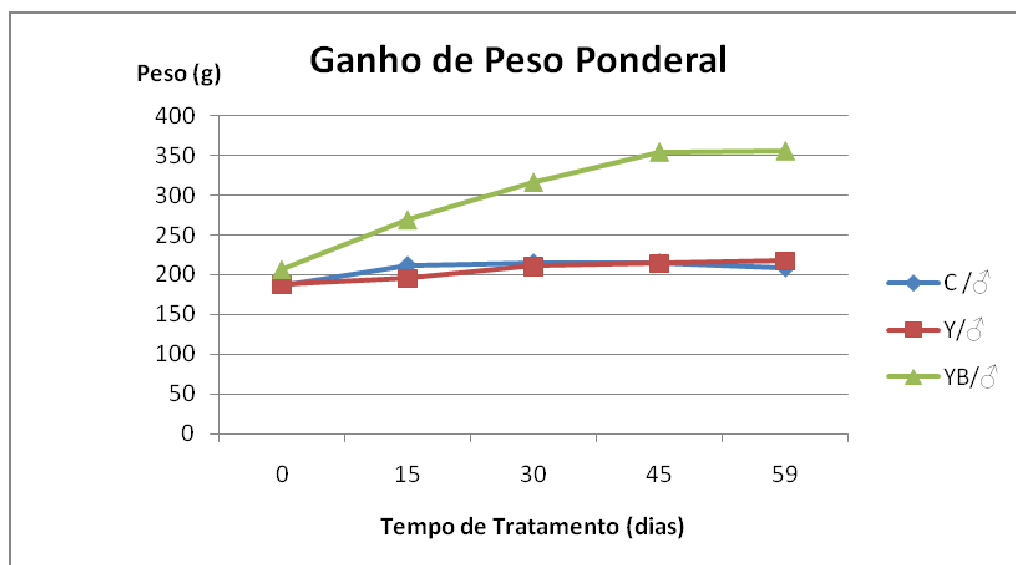


Figura 22. Evolução do ganho de peso corporal dos animais dos grupos machos nos três grupos experimentais.

* houve diferença estatística significativa entre grupo YB e C ($p < 0,05$) – Teste t

Os grupos de machos alimentados com rações C e Y apresentaram ganho de peso semelhante entre si, sendo que o grupo de maior significância em relação ao ganho de peso foram os animais tratados com ração YB.

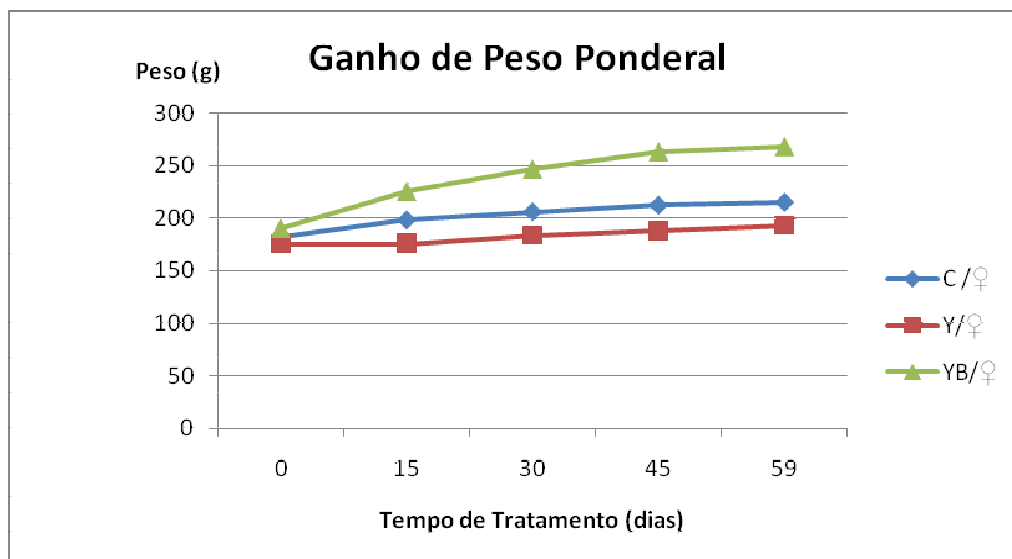


Figura 23. Evolução do ganho de peso corporal dos animais dos grupos fêmeas nos três grupos experimentais.

* houve diferença estatística significativa entre o grupo YB e C ($p < 0,05$) – Teste t

Os grupos experimentais com rações C e Y, independente do gênero demonstraram ganho de peso semelhante entre si, sendo que as fêmeas do grupo YB resultaram em maior ganho de peso final.

4.7.2 Controle de ingestão alimentar e desenvolvimento ponderal

O controle do consumo de ração e ganho ponderal durante os 59 dias de experimento permitiu o cálculo do consumo médio diário (CMD), ganho médio diário de peso (GMD) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA), demonstrados nas Tabelas 10 e 11. O coeficiente de eficiência alimentar permite mostrar a relação entre ganho de peso e consumo da dieta conforme descritos por Pellet; Young (1980).

Tabela 10. Valores do consumo médio diário das dietas (CMD), ganho médio diário (GMD) e coeficiente de eficácia alimentar (CEA) nos ratos machos durante os 59 dias de experimento

<i>Grupos</i>	CMD* (g)	GMD**(g)	CEA***
Controle (C)	11,61±4,07	0,45±0,21	0,04
Yacon (Y)	13,10±3,04	0,49±0,24	0,04
Yacon + bifidum (YB)	19,05±3,49	2,53±0,57	0,13

*CMD = Consumo médio diário;

**GMD = Ganho médio diário;

***CEA = Coeficiente de eficiência alimentar.

Através do CMD de ração, observa-se que os ratos machos consumiram ração com extrato desidratado de yacon e *bifidum* em média 3g de frutanos/dia, e os animais do grupo yacon ingeriram em média 2g de frutanos/dia.

Tabela 11. Valores do consumo médio diário das dietas (CMD), ganho médio diário (GMD) e coeficiente de eficácia alimentar (CEA) nos ratos fêmeas durante os 59 dias de experimento

<i>Grupos</i>	CMD* (g)	GMD**(g)	CEA***
Controle (C)	11,09±2,82	0,56±0,20	0,05
Yacon (Y)	11,58±1,69	0,38±0,08	0,03
Yacon + bifidum (YB)	13,61±1,97	1,30±0,18	0,09

*CMD = Consumo médio diário;

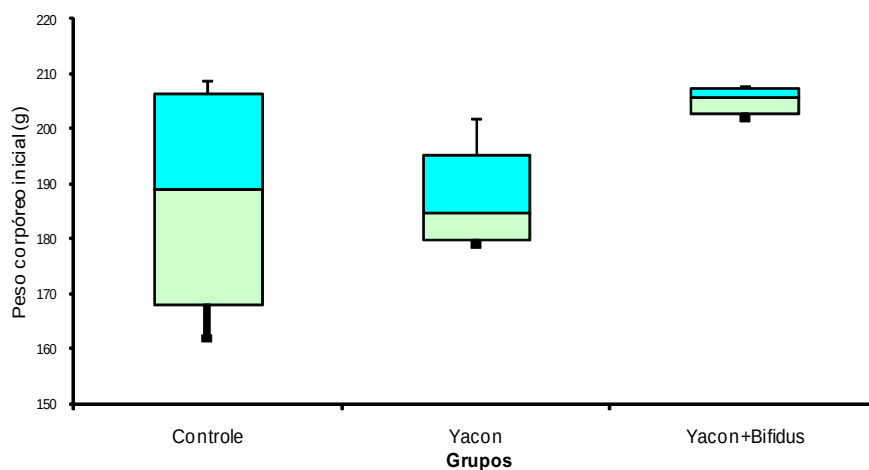
**GMD = Ganho médio diário;

***CEA = Coeficiente de eficiência alimentar.

Através do CMD de ração, os ratos fêmeas nos dois grupos experimentais (com extrato desidratado de yacon e yacon) consumiram em média 2g de frutanos/dia.

4.7.3 Peso corpóreo inicial dos ratos machos e fêmeas

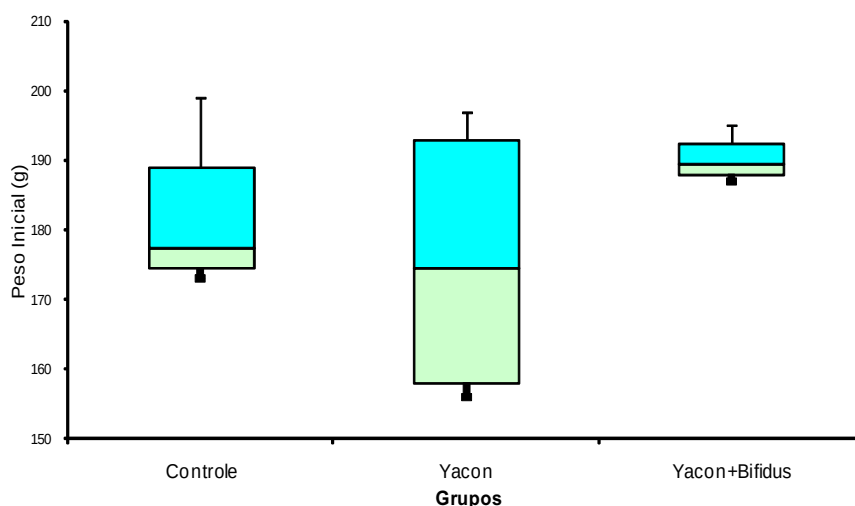
O peso corpóreo inicial dos ratos machos está representado na Figura 24. Observou-se que no grupo Controle (C) a mediana foi de 189 g, já no grupo Y o valor encontrado foi menor (185 g), enquanto no grupo YB mostrou o maior valor entre os grupos (206 g). Os valores compreendidos pela dispersão indicam que não houve significância estatística entre os grupos ($p>0,05$).



* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos
 $p>0,05$

Figura 24. Peso corpóreo inicial dos ratos machos nos três grupos experimentais.

A Figura 25 mostra que a mediana do peso corpóreo inicial dos ratos fêmeas no grupo C foi 177,5 g, já no grupo Y foi 174,5 g, enquanto o maior dos grupos (YB = 189,5 g). Mediante os valores observados, não houve diferença estatística significante entre os grupos ($p>0,05$).



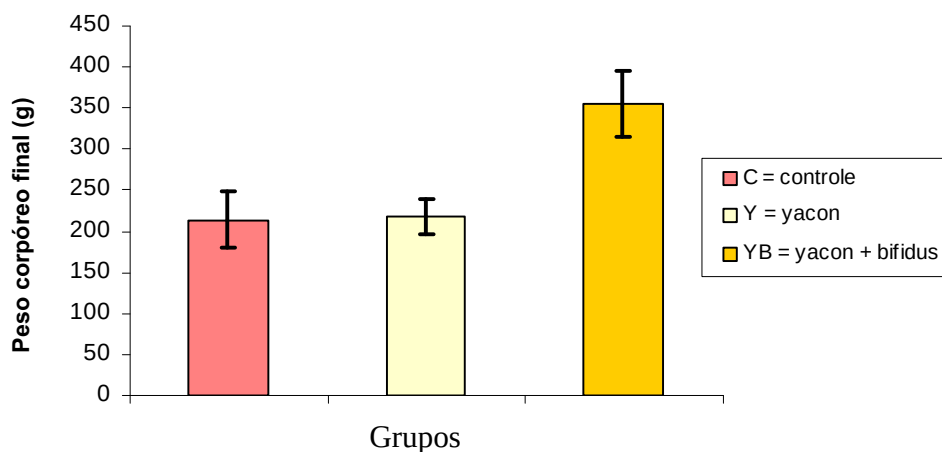
* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos
 $p > 0,05$

Figura 25. Peso corpóreo inicial dos ratos fêmeas nos três grupos experimentais

4.7.4 Peso corpóreo final dos ratos machos e fêmeas

O aumento do peso corpóreo final dos ratos machos nos três grupos está ilustrado na Figura 26. Os pesos médios dos ratos machos indicaram valores de 214 ± 34 g (C), $217,25 \pm 21,4$ g (Y) e 355 ± 41 g (YB). Entre os grupos C e Y não houve diferença estatisticamente significativa. Contudo, no grupo YB a diferença foi estatisticamente significativa ($p \leq 0,001$) quando comparados com C e Y. Tal fato, pode ser atribuído a maior ingestão da ração neste grupo e melhor absorção de nutrientes.

Fuller (1989) relata que os probióticos promovem equilíbrio na microbiota intestinal através da colonização por bactérias benéficas, favorecendo a saúde intestinal e, dessa maneira pode melhorar a absorção dos nutrientes da dieta, o que reflete em maiores coeficientes de digestibilidade.



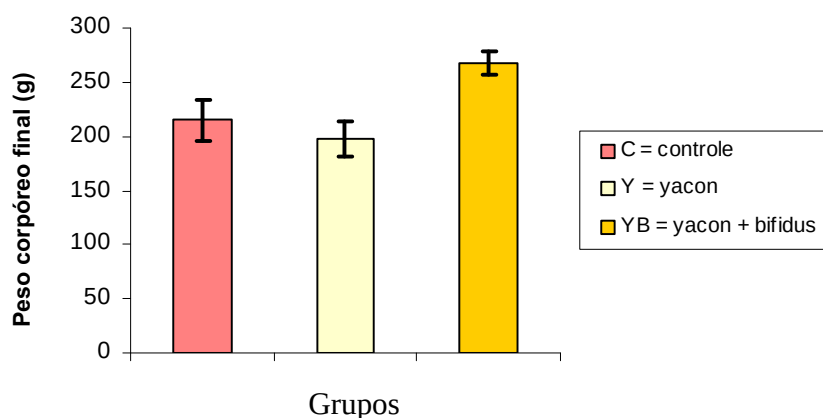
*Houve diferença estatística significativa entre os grupos C e YB

$$p \leq 0,001$$

Figura 26. Peso corpóreo final dos ratos machos nos três grupos experimentais

A Figura 27 mostra os resultados do peso corpóreo final dos ratos fêmeas nos três grupos. Não houve significância estatística entre o grupo C e Y. Observou-se que o peso médio no grupo C foi de $214,7 \pm 18,2$ g, enquanto no grupo Y foi de $197,7 \pm 17$ g e no YB $267,5 \pm 11,4$ g. Porém, a diferença estatística foi observada entre o grupo C e Y com o grupo YB ($p \leq 0,001$).

O grupo YB apresentou maior consumo da ração e melhor absorção de nutrientes, uma vez que relatam que as bactérias diminuem a susceptibilidade de infecções, mantendo a flora intestinal saudável e equilibrada, com níveis imunológicos aceitáveis, para que o intestino possa atuar na sua função que é digerir e absorver nutrientes para o nosso organismo e expelir o bolo fecal formado. Os probióticos em nosso organismo melhoram a digestibilidade dos alimentos, principalmente dos nutrientes como proteínas, lipídios e a lactose (CAO; FERNANDEZ, 2005)



*Houve diferença estatística significativa entre os grupos C e Y com grupo YB

$$p \leq 0,001$$

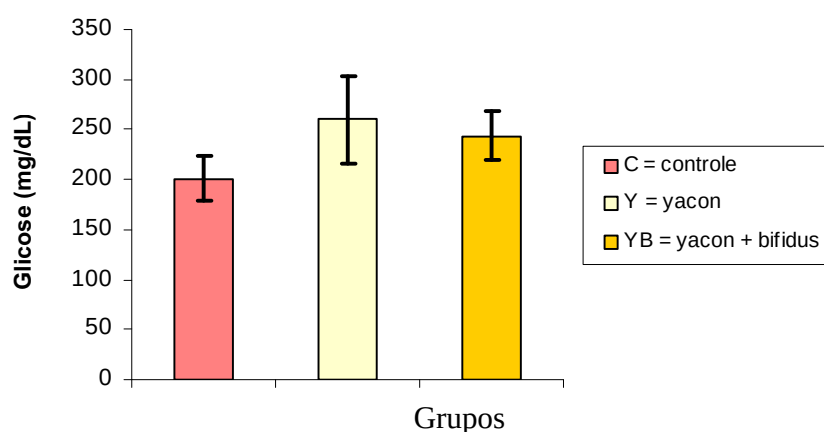
Figura 27. Peso corpóreo final dos ratos fêmeas nos três grupos experimentais.

4.7.5 Glicemia em ratos machos e fêmeas

As Figuras 28 e 29 mostram os resultados da mensuração de glicemia plasmática dos ratos machos e fêmeas nos três grupos. Neste aspecto notou-se que não houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos ($p > 0,05$), independente do gênero.

Os valores médios de glicose obtidos nos ratos machos mostraram-se de acordo com o grupo C, Y e YB, respectivamente: $201,0 \pm 22,14 \text{ mg dL}^{-1}$, $259,9 \pm 43,2 \text{ mg dL}^{-1}$ e $243,3 \pm 24,6 \text{ mg dL}^{-1}$. Já nas fêmeas, nos grupos C, Y e YB, as medianas de glicose obtidas foram respectivamente: 294 mg dL^{-1} , 291 mg dL^{-1} e 344 mg dL^{-1} . Os valores nos três grupos independentes do gênero foram superiores aos de referência ($50 - 135 \text{ mg dL}^{-1}$) citado por Mitruka e Rawnsley (1977).

Exames bioquímicos realizados no Laboratório de Bioquímica do Laboratório Central do Hospital das Clínicas no período de janeiro de 1999 a junho de 2000 (Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) com ratos machos da linhagem heterogênea Wistar encontraram valores médios de $68 \pm 44 \text{ mg dL}^{-1}$ e para fêmeas valores médios de $138 \pm 35,7 \text{ mg dL}^{-1}$ de glicose. Comparando os valores de glicemia nos machos e fêmeas, observou-se que nas fêmeas o valor indicado é o dobro do macho. Pode-se observar que os valores de glicemia nas fêmeas também foram maiores que dos machos.



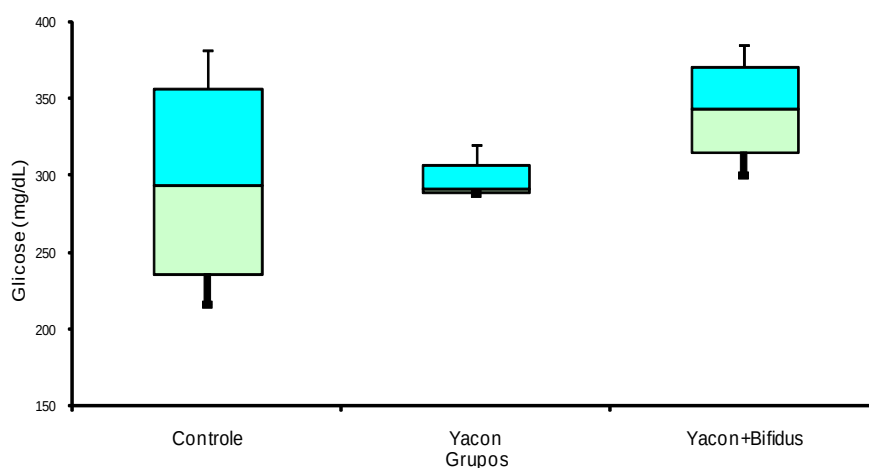
* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos

$$p > 0,05$$

Figura 28. Glicemia dos ratos machos nos três grupos experimentais.

Melby e Altaman (1977) relatam o intervalo de 119 a 279 mg dL^{-1} de glicose em ratos e que estes podem ser influenciado pelo sexo e pela linhagem.

Ressalta-se que os dados encontrados no experimento foram concordantes segundo os autores citados acima. Neste cenário, os resultados obtidos podem evidenciar que a linhagem dos animais é um fator influenciador.



* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos

$$p > 0,05$$

Figura 29. Glicemia dos ratos fêmeas nos três grupos experimentais.

Alles et al. (1999) conduziu um estudo usando 15g dia⁻¹ de oligofructose (pó adicionado em iogurte de baixa gordura), em vinte pacientes (homens e mulheres diabéticos não insulino-dependentes). Nenhum efeito em lipídios ou em glicose do sangue foi observado sobre um período de um tratamento de 3 semanas.

Entretanto, Aybar et al. (2001) mencionam que a administração “ad libidum” de 2% de chá de yacon (*Smallantus sonchifolius*) em vez de água por 30 dias produziu um efeito hipoglicemiante significativo em ratos diabéticos induzidos com estreptozotocina (STZ).

Animais diabéticos tratados com extrato aquoso de raízes de yacon (0,17g/100g/peso corporal e administrado semanalmente durante 30 dias) apresentaram menor ($p < 0,05$) consumo de ração e maior peso corporal. Estes resultados podem ser atribuídos ao controle da glicemia ($105,35 \pm 20,14 \text{ mg dL}^{-1}$) provocado pelo extrato aquoso de raízes de yacon. Através dos resultados obtidos, concluíram que o extrato aquoso de raízes de yacon apresentou efeito antidiabetogênico (Oliveira et al., 2008).

Por outro lado, o efeito hipoglicemiante não foi observado no experimento, conforme os resultados.

Kaur e Gupta (2002) relatam que o efeito da inulina e da oligofrutose sobre a glicemia e a insulinemia ainda não foi elucidado e os dados disponíveis a esse respeito são, algumas vezes, contraditórios, indicando que esses efeitos dependem da condição fisiológica (em jejum ou estado pós-prandial) ou de doença (diabetes).

4.7.6 Colesterol total em ratos machos e fêmeas

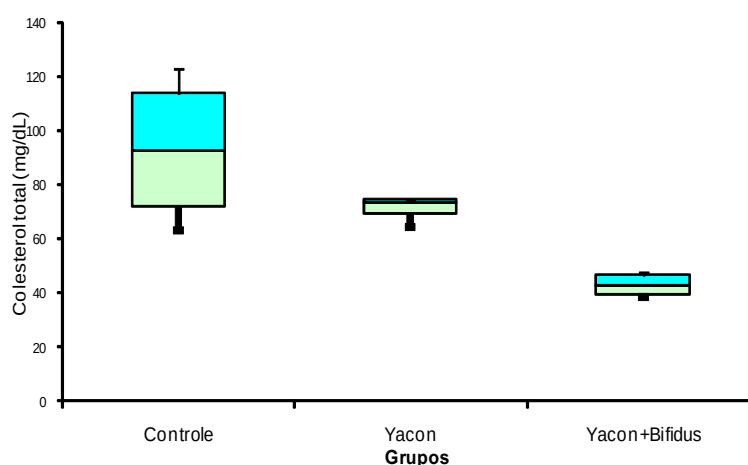
As Figuras 30 e 31 mencionam os valores de colesterol total dos ratos machos e fêmeas nos três grupos experimentais. Os valores medianos de colesterol total em ratos machos nos grupos C, Y e YB, respectivamente foram, 92,7 mg dL⁻¹, 73,4 mg dL⁻¹ e 42,3 mg dL⁻¹. Observa-se que não houve diferença estatística significativa entre os grupos C e Y nem entre Y e YB. Ressalta-se que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos C e YB ($p < 0,05$), demonstrando que a ração com extrato desidratado de yacon (32%) e *bifidum* (com população estimada de 2.0×10^9 UFC g⁻¹ ração) diminui significativamente as taxas de colesterol.

No grupo das fêmeas, a média do colesterol total no grupo C foi de 40,4 mg dL⁻¹, no Y de 45,3 mg dL⁻¹ e YB de 17,9 mg dL⁻¹. Não houve significância estatística entre os grupos C e Y. Contudo, entre os grupos C e YB houve diferença estatisticamente significativa, o mesmo ocorrendo com os grupos Y e YB ($p < 0,001$), demonstrando que a ração com extrato desidratado de yacon (32%) e *bifidum* (com população estimada de 2.0×10^9 UFC g⁻¹ ração) diminuiu a taxa de colesterol significativamente.

Os valores de referência segundo Mitruka e Rawnsley (1977) devem estar entre 10 – 54 mg dL⁻¹, sendo que para ratos machos os valores dos grupos C e Y não se encontram no intervalo citado. Entretanto o grupo YB mostra-se dentro dos valores de referência. Nas fêmeas os resultados dos três grupos encontram no intervalo citado.

Exames bioquímicos realizados no Laboratório de Bioquímica do Laboratório Central do Hospital das Clinicas no período de janeiro de 1999 a junho de 2000 (Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) com ratos machos da linhagem

heterogênea Wistar encontraram valores médios de $55,8 \pm 3,6 \text{ mg dL}^{-1}$ de colesterol total e para fêmeas valores médios de $45,6 \pm 5,9 \text{ mg/dL}$ de colesterol total. Nas fêmeas os três grupos encontram-se dentro dos valores citados, exceto nos machos que apenas o grupo YB está dentro do intervalo.

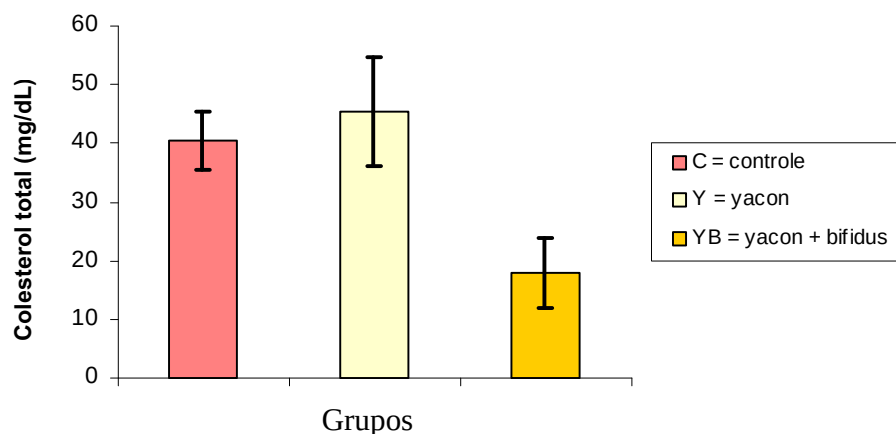


* Houve diferença estatística significativa entre os grupos C e YB

$p < 0,05$

Figura 30. Colesterol total em ratos machos nos três grupos experimentais

Fiordaliso et al (1995) observaram redução de 15% nas taxas de colesterol total, 15% dos fosfolípidios e 25% nos triglicérides em ratos após ingestão de 10% de FOS.



* Houve diferença estatística significativa entre os grupos C e YB; Y e YB

$$p < 0,001$$

Figura 31. Colesterol total em ratos fêmeas nos três grupos experimentais

Yamamoto et al. (1999) detectaram queda de 83% e 59% de colesterol sérico em ratos alimentados com 1 e 5% de FOS, respectivamente.

Os efeitos hiperlipidêmicos dos FOS foram observados também em humanos. Davidson et al.(1998) conduziram um experimento em homens e mulheres com níveis de lipídios levemente alterados no sangue e verificaram diminuição de 8,7% na concentração de colesterol total e de 14,4% na concentração de LDL-colesterol após ingestão de 18g por dia de inulina.

4.7.7 Triglicérides em ratos machos e fêmeas

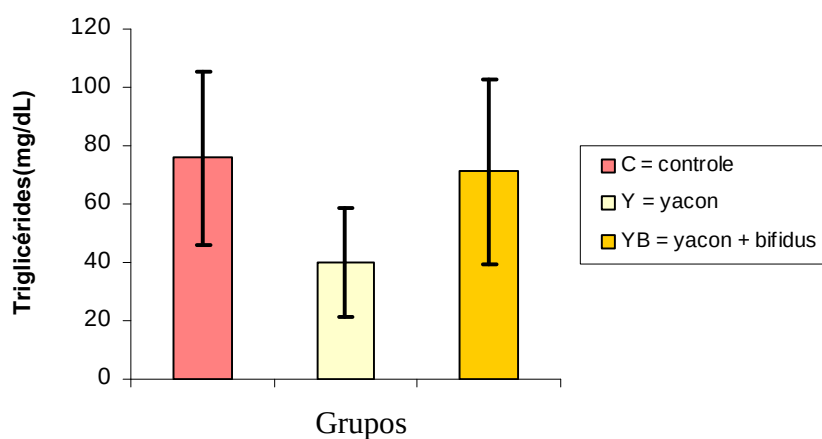
As Figuras 32 e 33 mostram os resultados da quantificação de triglicérides dos ratos machos e fêmeas nos três grupos. Os valores médios de triglicérides dos ratos machos foi de $75,9 \pm 29,6$ mg dL⁻¹ no C, $39,7 \pm 18,6$ mg dL⁻¹ no Y e $71,0 \pm 31,6$ mg dL⁻¹ no grupo YB. Nas fêmeas os valores médios nos grupos C, Y e YB foram respectivamente,

$34,9 \pm 16,3 \text{ mg dL}^{-1}$, $28,8 \pm 8,1 \text{ mg dL}^{-1}$ e $24,8 \pm 5,9 \text{ mg dL}^{-1}$. Neste aspecto, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$), independente do gênero.

Exames bioquímicos realizados no Laboratório de Bioquímica do Laboratório Central do Hospital das Clínicas no período de janeiro de 1999 a junho de 2000 (Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) com ratos machos da linhagem heterogênea Wistar encontraram valores médios de $72,3 \pm 13,4 \text{ mg dL}^{-1}$ de triglicérides e para as fêmeas valores médios de $69,8 \pm 14,3 \text{ mg dL}^{-1}$.

Melby e Altaman (1977) relatam que o intervalo de triglicérides deverá estar entre 26 a $145,0 \text{ mg dL}^{-1}$. Estando os valores na totalidade dentro do intervalo mencionado pelos autores, independente do gênero.

Delzenne et al (2002) relatam que alimentar ratos Wistar machos com dieta contendo 10% de inulina ou oligofrutose abaixa significativamente concentrações de triglicérides e fosfolipídios.

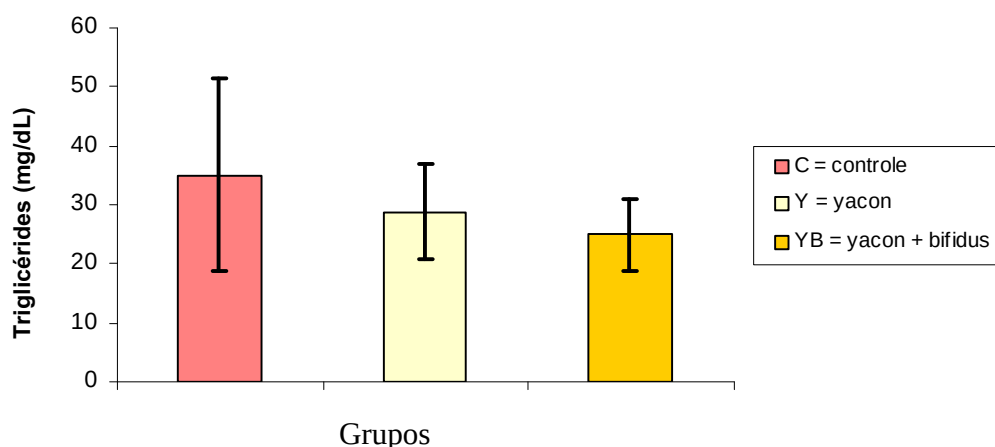


* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos

$p > 0,05$

Figura 32. Triglicérides em ratos machos nos três grupos experimentais.

O trabalho de Delzenne et al. (1993) relataram o decréscimo dos triglicérides no sangue de ratos alimentados com dietas contendo 20% de FOS e 10% de inulina do total da dieta diária.



* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos
 $p > 0,05$

Figura 33. Triglicérides em ratos fêmeas nos três grupos experimentais.

4.7.8 Aspartato Amino Transferase (AST) em ratos machos e fêmeas

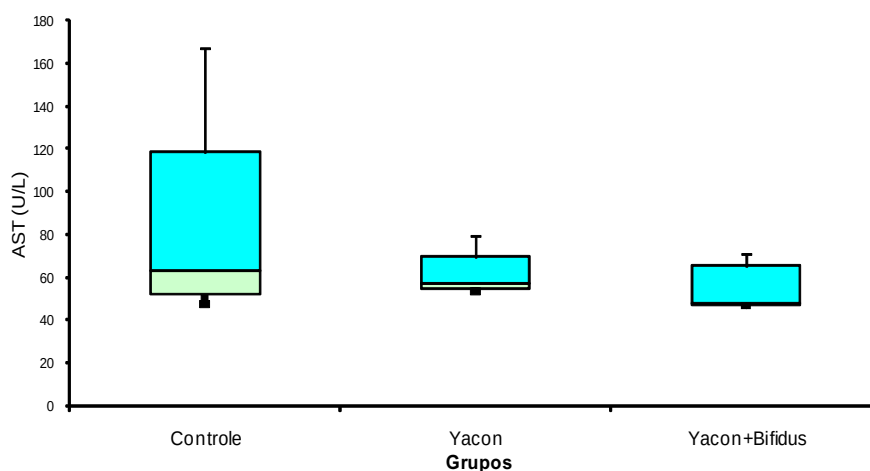
Transaminases são enzimas hepáticas detectadas no sangue. Concentrações elevadas destas enzimas (aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) indicam dano hepatocelular. As Figuras 34 e 35 mostram os resultados da AST dos ratos machos e fêmeas nos três grupos experimentais. Nos ratos machos, os valores medianos de AST do grupo C foram de $63,1 \text{ U L}^{-1}$, Y $57,6 \text{ U L}^{-1}$ e YB de $48,3 \text{ U L}^{-1}$. Não houve significância estatística entre os grupos ($p > 0,05$).

Nas fêmeas, os valores medianos nos grupos C, Y e YB foram respectivamente, $41,3 \text{ U L}^{-1}$, $50,3 \text{ U L}^{-1}$ e $10,7 \text{ U L}^{-1}$. Entre os grupos C e Y não houve diferença estatística significativa, o mesmo procede para os grupos C e YB. Contudo, entre o

grupo Y e YB houve significância estatística ($p = 0,005$). Sugere-se que a ração com extrato desidratado de yacon com *bifidum* diminui a taxa de AST consideravelmente, estando o valor abaixo das referências.

Os valores encontrados estão dentro do intervalo de referência ($45.7 - 80.8 \text{ U L}^{-1}$) citados por Mitruka e Rawnsley (1977) para os ratos machos. Nas fêmeas, ressalta-se que os valores dos grupos C e Y são concordantes com os autores, porém o grupo YB encontra-se abaixo dos valores mencionados.

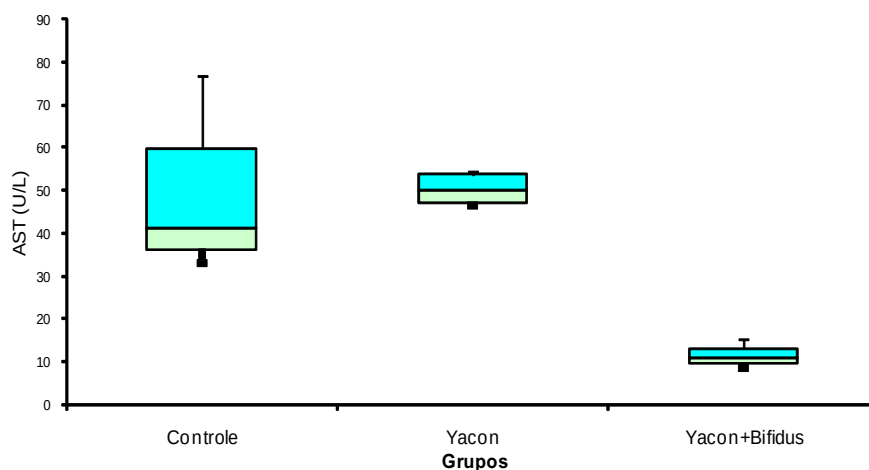
Exames bioquímicos realizados no Laboratório de Bioquímica do Laboratório Central do Hospital das Clínicas no período de janeiro de 1999 a junho de 2000 (Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) com ratos machos da linhagem heterogênea Wistar encontraram valores médios de 212 U L^{-1} e para fêmea $137,8 \text{ U L}^{-1}$, valores estes superiores ao encontrado neste experimento. Sendo mencionado que as causas destes valores estão sendo pesquisadas.



* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos

$p > 0,05$

Figura 34. Aspartato amino transferase (AST) em ratos machos nos três grupos experimentais



* Houve diferença estatística significativa entre os grupos Y e YB

$$p = 0,005$$

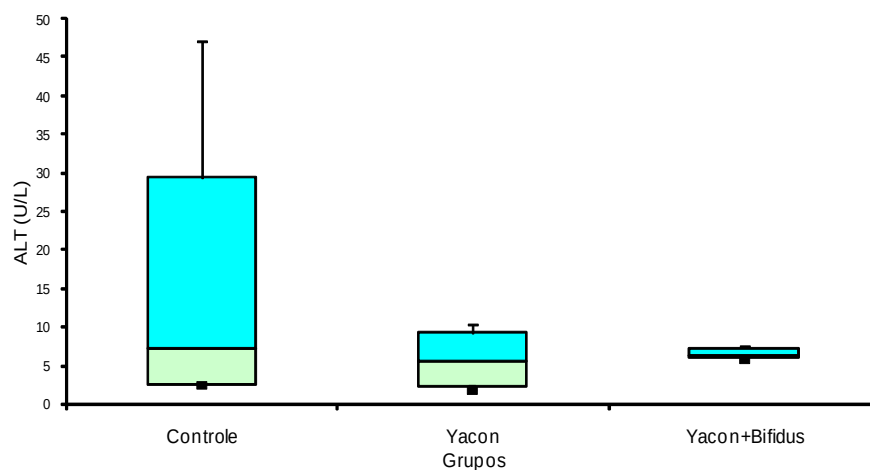
Figura 35. Aspartato amino transferase (AST) em ratos fêmeas nos três grupos experimentais

4.7.9 Alanina Amino Transferase (ALT) em ratos machos e fêmeas

As Figuras 36 e 37 mencionam a mediana da quantificação de ALT em ratos machos e fêmeas nos três grupos experimentais.

Em ratos machos, nos grupos C, Y e YB, as medianas de ALT foram respectivamente: $7,2 \text{ U L}^{-1}$, $5,5 \text{ U L}^{-1}$ e $6,4 \text{ U L}^{-1}$. Observa-se que entre os grupos não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Nas fêmeas, os valores médio de ALT foram de $11,2 \pm 4,8 \text{ U L}^{-1}$, $8,7 \pm 1,6 \text{ U L}^{-1}$ e $4,6 \pm 1,7 \text{ U L}^{-1}$ nos grupos C, Y e YB respectivamente. Entre os grupos C e Y não houve significância estatística, o mesmo acontecendo com os grupos Y e YB. Neste aspecto, observa-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos C e YB ($p > 0,05$). Ressalta-se, que a ração de extrato desidratado de yacon com *bifidum* diminuiu significativamente o nível de ALT.

Os valores encontrados estão abaixo do intervalo de referência ($17,5 - 30,2 \text{ U L}^{-1}$) citados por Mitruka e Rawnsley (1977), independente do gênero.

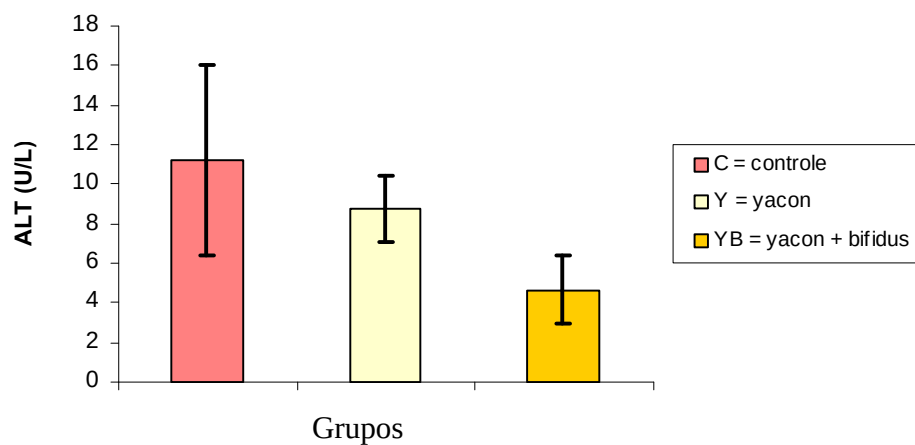


* Não houve diferença estatística significativa entre os grupos

$p > 0,05$

Figura 36. Alanina amino transferase (ALT) em ratos machos nos três grupos experimentais

O Laboratório de Bioquímica do Laboratório Central do Hospital das Clínicas no período de janeiro de 1999 a junho de 2000 (Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) realizou exames bioquímicos com ratos machos da linhagem heterogênea Wistar e encontraram valores médios de 61 U L^{-1} , e para fêmeas $55,6 \text{ U L}^{-1}$, valores estes superiores ao encontrado na literatura e neste estudo. Sendo mencionado que as causas destes valores estão sendo pesquisadas.



* Houve diferença estatística significativa entre os grupos C e YB
 $p > 0,05$

Figura 37. Alanina amino transferase (ALT) em ratos fêmeas nos três grupos experimentais

4.8 Histologia do fígado

Não foram observadas alterações histológicas indicativas de toxicidade hepática (Figura 38) nos diferentes grupos experimentais, independentemente do tratamento dos animais com yacon.

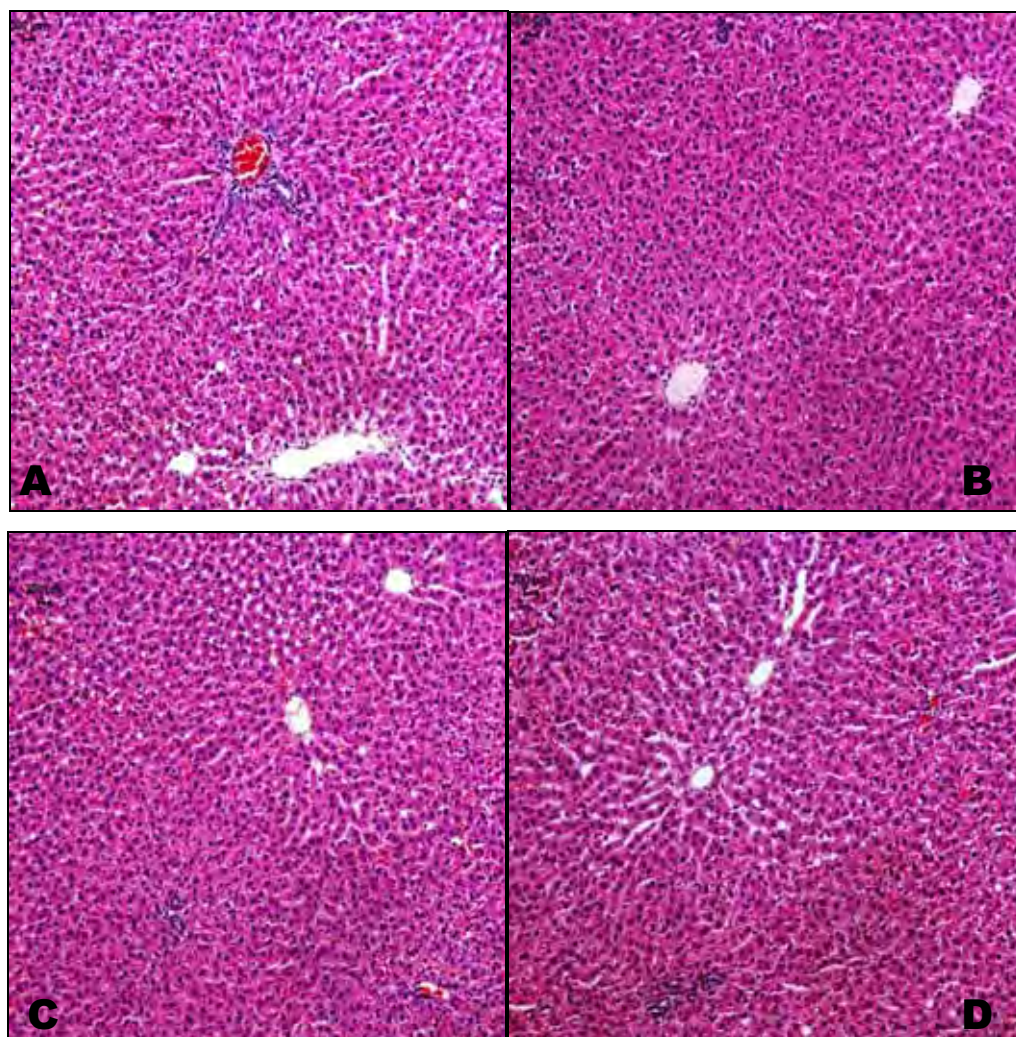


Figura 38. Cortes histológicos de fígados corados com a HE e sem alterações histológicas (200x). A) Animal do grupo controle (macho); B) animal do grupo Yacon (macho); C-D) Animais do grupo Yacon + *Bifidum* (macho e fêmeas, respectivamente).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O peso final dos ratos machos e fêmeas apresentaram estatisticamente diferença significativa do grupo YB ($p < 0,001$) comparada com o grupo C e Y. Sendo que o maior ganho de peso foi do grupo YB (149,5g para os ratos machos e 75,5g para as fêmeas), podendo ser atribuído a maior ingestão de ração neste grupo.
- O tratamento com ração contendo extrato desidratado de yacon (32%) e *bifidum* (com população estimada de 2.0×10^9 UFC g⁻¹ ração) diminuiu significativamente as taxas de colesterol total tanto nos machos como nas fêmeas.
- A dosagem de triglicérides nos ratos machos e fêmeas nos três grupos experimentais não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$), portanto a ração não interferiu nesta molécula, estando os valores na totalidade dentro do intervalo citado na literatura.

- As rações não interferiram na dosagem de Aspartato Amino Transferase em ratos machos nos três grupos experimentais, pois não houve significância estatística entre os grupos ($p>0,05$). Entretanto em ratos fêmeas nos grupos Y e YB ocorreu diferença estatisticamente significativa ($p=0,005$), demonstrando que a ração com extrato desidratado de yacon (32%) e bifidus (com população estimada de 2.0×10^9 UFC g⁻¹ ração) diminui a taxa de Aspartato Amino Transferase consideravelmente, estando abaixo dos valores de referência. O mesmo acontecendo com as concentrações de Alanina Amino Transferase em ratos fêmeas entre os grupos C e YB ($p>0,05$).

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que:

- Os ensaios experimentais indicaram que o extrato desidratado de yacon utilizado não afetou qualitativamente as rações administradas aos grupos experimentais indicando que os procedimentos de sua produção foram adequados, além da viabilidade em larga escala.
- Não foram observadas alterações histológicas indicativas de toxicidade hepática nos diferentes grupos experimentais, independentemente do tratamento dos animais com yacon.
- Os resultados observados demonstraram que o extrato desidratado de yacon produzido aditivado com *Bifidobacterium bifidum* apresenta-se como um produto simbiótico promissor e com grande potencial de utilização.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, S. A. et al. A combination of prebiotic short-and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 82, n. 2, p. 471-6, 2005.

ALFARO, M. E. C.; MELGAREJO, S. A. V. **El yacon: uma nueva alternativa em la prevencion y tratamiento de la salud**. Peru, dez., 2004. Disponível em: <<http://www.yacon.com.es/articulos.php>> Acesso em: 14 jul. 2004.

ALIPIO, R. Oligossacarídeos e suas propriedades funcionais. **Food Ingredients**, n. 7, p. 94-95, 2000.

ALLES, M. S. et al. Consumption of fructo-oligosaccharides does not favorably affect blood glucose and serum lipid concentration in patients with type 2 diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p. 64-69, 1999.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Position of ADA: phytochemicals and functional foods. **Journal of the American Dietetic Association**, p. 493, 1995.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Reports Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, p. 1278-1285, 1999.

ANDRADE, A. B. ; PIMENTA, L. G. Câncer de colon. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v.18, Suppl. 3, 2003. Disponível em: < <http://www.scielo.br/scielo.php> > Acesso em: 04 abr. 2009.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis. 12 ed. Washington, s/n., 1975. 109p.

AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**, 16 ed., 3ª rev. Gaithersburg: Published by AOAC international, 1997.

ARAI, S. Studies on functional foods in Japan state of the art. **Bioscience Biotechnology & Biochemistry**, v. 60, p. 9-15, 1996.

ARAJARA, F. Yacon, o primo da batata que ajuda a controlar o diabete. **Saúde**. São Paulo, n. 194, p.38-42, nov., 1999.

ARANCETA, J. Frutas, verduras y hortalizas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 54, Suppl. 1, p. 65-71, jun., 2004.

ARVANITOYANNIS, I. S.; VAN HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, M. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 385-404, 2005.

ASAMI, T. et al. Chemical composition of yacon, a new root crop from the Andean Highlands. **Japan Journal Soil Science and Plant Nutrition**. Japan, v. 60, p.122-126, 1989.

ASAMI, T. et al. Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Japan Journal Soil Science Plant Nutrition**, v. 36, n. 1, p. 167-171, 1990.

ASAMI, T. et al. Fluctuations of oligofructan contents in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*) during growth and storage. **Japan Journal Soil Science Plant Nutrition**, v. 62, p. 621-627, 1991.

AYBAR, M. J. et al. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 125-132, 2001.

BAILEY, C. J.; DAY, C. Tradicional plant medicines as treatments for diabetes. In: VOLPATO, G. T. et al. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 2, p. 35-45, 2002.

BALLABRIGA, A. Morphological and physiological changes during growth: an update. **European Journal Clinical Nutrition**. London, v. 54, Suppl. 1, p. S1-S6, 2000.

BARRETO, G.P.de M. et al. Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactérias e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n. 1, p. 36, jan./jun., 2003.

BELISLE et al. Scientific concepts of functional foods in European consensus document. **British Journal of Nutrition**, n. 81, p. S1-S27, 1999.

BELLO, J. Los alimentos funcionales o nutraceuticos: nueva gama de productos en la industria alimentaria. **Alimentaria**, n.265, p. 25-30, 1995.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, n. 35, p. 125-131, 2002.

BIORAD. Manuais Técnicos para pré-coluna e coluna HPLC. Califórnia, sd.

BLOCH, A.; THOMSON, C. A. Position of the American Dietetic Association: phytochemicals and functional foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 95, p. 493-496, 1995.

BORGES, V. C. Oligossacarídeos x fibras alimentares, **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 4, p. 161-164, 1997.

BORNET, F. R. Undigestible sugars in food products. **American Journal of Clinical Nutrition**, Paris, v. 59, n. 3, Suppl., p. 763S-769S, 1994.

BRASIL. Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres. ABIA. Disponível em: <http://www.abiad.org.br> Acesso em: 15 dez.2009.

BRASIL. IV Diretriz Brasileira sobre dislipidemia e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, Suppl. 1, Abril, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**. Dispõe sobre regulamento técnico: aditivos alimentares – definição, classificação e emprego.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 15, de 30 de abril de 1999**. Dispõe sobre Comissão de assessoramento de alimentos funcionais e novos alimentos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica – Área técnica de diabetes e hipertensão arterial. **Cadernos de Atenção Básica**, p. 22-42, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 4 ed. 2005. 1018p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº **360, de 23 de dezembro de 2003**. Dispõe sobre regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Disponível em:
http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/360_03rdc.htm. Acesso em: 07 fev. 2009.

BRASIL. Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde. Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. **OPAS/OMS**. Brasília, 2003.

BRASIL. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – Universidade de São Paulo, 2004. Disponível no site: <http://www.fcf.usp.br/tabela>. Acesso em: 31 mai. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 14 fev. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Informes Técnicos Institucionais. ELSA Brasil: maior estudo epidemiológico da América Latina. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n.1, fev., 2009.
Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>. Acesso em: 14 mai. 2009.

BRASIL. **Instituto Nacional do Câncer**. INCA. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br> >
Acesso em: 03 jul.2009.

BROD, F. P. R.; ALONSO, L. F. T.; PARK, K. J. Secagem de produtos agrícolas. **XI SEMEAGRI – Semana de Engenharia Agrícola da UNICAMP**. Campinas: Agrológica – Empresa Junior de Engenharia Agrícola, 1999, 122p.

BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de queijo cremoso simbiótico**. 2005. 75 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

CABELLO, C. Extração e pré-tratamento químico de frutanos de yacon, *Polymnia sonchifolia*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 25, n.2, abr./jun., 2005.

CAO, Y. C. C.; FERNANDÉZ, A. F. Probióticos y Salud: una reflexión necesaria. **Revista Cubana de Medicina General Integral**, v. 21, p. 3-4, 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. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

CARABIN, I. G.; FLAMM, W. G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, n. 30, p. 268-282, 1999.

CARDARELLI, H. R. **Desenvolvimento de queijo *petit-suisse* simbiótico**. 2006. 133 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CASTRO, L. C. V. et al. Nutrição e doenças cardiovasculares: os marcadores de risco em adultos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 369-377, jul./set., 2004.

- CHARTERIS, W. P. et al. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. **International Journal of Dairy Technology**, Long Hanborough, v. 51, n. 4, p. 123-136, 1998.
- COLLINS, J. K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G. O. Selection of probiotic strains for human applications. **International Journal of Dairy Technology**, Amsterdam, v. 8, p. 487-490, 1998.
- CRITTENDEN, R. G. Prebiotics. In: TANNOCK, G. M. Probiotics: a critical review. Norfolk: **Horizon Scientific Press**, p. 141-156, 1999.
- CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. **Journal Applied Bacteriology**, v. 70, p. 443-459, 1991.
- CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Gastrointestinal effects of prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. S145-S151, 2002.
- CUMMINGS, J. H.; EDMOND, L. M; MAGEE, E. A. Dietary carbohydrates and health: do we still need the fiber concept? **Clinical Nutrition Supplements**, v.1, p. 5-17, 2004.
- DAVIDSON, M. H. et al. Effects of dietary inulin in serum lipids in men and woman with hypercholesterolemia. **Nutrition Research**, v. 18, n. 3, p. 503-517, 1998.
- DE FRANCA, E.; ALVES, J.G.B.; HUTZ, M.H. Apolipoprotein E polymorphism and its association with serum lipid levels in Brazilian children. **Hum Biol.**, v.76,p. 267-75, 2004.
- DELLAGLIO, F. H. et al. Características gerais das bactérias lácticas. In: FERREIRA, C.L.L.F. **Prebióticos e Probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa, MG, p. 7-33, 2003.
- DELZENE, N. M. Dietary fructoligosacharides modify lipid metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 5, p. 820S, 1993.

DELZENE, N. M. et al. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. **British Journal of Nutrition**, v. 87, Suppl. 2, p. S255-S259, 2002.

DOMINGUES, A. M. et al. Caracterização das propriedades físicas do suco de abacaxi (*Ananas comosus*) em pó desidratado por spray dryer otimizado através da análise de superfície de resposta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2002, Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre: SBCTA, 2002.

DZAZIO, C. H. et al. Análise de aceitação e elaboração do pão integral com batata yacon (*Polymnia sonchifolia*) *in natura*. **V Semana de Tecnologia em Alimentos**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil, INSN: 1981-366X, v. 2, n. 1, 21 a 25 de maio, 2007.

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. **Parâmetros biológicos dos principais animais de experimentação fornecidos pelo biotério central da FMUSP**. 1999/2000. Disponível no site: <http://www.tcirurgica.fm.usp.br/parametros.htm>. Acesso em: 2 mai. 2009.

FAGUNDES, R. L. M.; COSTA, Y. R. Uso dos alimentos funcionais na alimentação. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 108, mai., 2003.

FAO/WHO. **Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London, Ontario, Canada, april 30 and may 1, 2002.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2006, 602p.

FERNANDEZ, A. M. et al. studio citologico del yacon (*Smallanthus sonchifolia*) y yacon del campo (*Smallanthus macroscipus*). **Lilloa**, v. 40, n.1, p. 115-25, 2000.

FERREIRA, C. L. L. F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. In: PORTUGAL et al. O agronegócio do leite e os alimentos funcionais. **Epamig**, Juiz de Fora, p. 181-203, 2001.

FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e Probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa, MG, 2003. 206p.

FIORDALISO, M. et al. Dietary oligofructose lower triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. **Lipids**, v. 30, n. 2, p. 163-167, 1995.

FLAMM, G. et al. Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 41, n. 5, p. 353-362, 2001.

FOLKS, L. J.; FULLER, R.; GIBSON, G.R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 53-61, 1999.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, p. 365-378, 1989.

FULLER, R. History and development of probiotics. In: FULLER, R. (ed) **Probiotics**. New York: Chapman & Hall, p. 1-8, 1994.

GALLARDO, R. S. C. **Obtención y caracterización de los oligofructanos a partir de la raíz del yacon (Smallanthus sonchifolius Poepp & Endl)**. Lima/Perú, 1999. 125 f. Tese (M. Sc. Tecnologia de Alimentos). Universidad Nacional Agraria La Molina.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1983, 284p.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G. R.; WILLIS, C. L.; VAN LOO, J. Non digestible, oligosaccharides and bifidobactéria implications for health. **International Sugar Journal**, v. 96, n. 1150, p. 381-387, 1994.

GIBSON, G. R. et al. Selective stimulation of bifidobactéria in the human colon by oligofructose and inulin. **Gastroenterology**, v. 108, p. 975-982, 1995.

GILLILAND, S. E. Probiotics and prebiotics. In: MARTH, E. H.; STEELE, J.L. **Applied Dairy Microbiology**, 2 ed. New York: Marcel Dekker, p. 327-343, 2001.

GOLDIN, B. R. Health benefits of probiotics. **British Journal of Nutrition**. Oxon, v. 80, p. S203-S207, 1998.

GOTO, k. et al. Isolation and structural analysis of oligosaccharides from yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 59, n. 12, p. 2346-2347, 1995.

GRAEFE, S. et al. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. **Field Crops Research**. Lima, v. 86, p. 157-165, 2004.

GRÅSTEN, S. M. et al. Fibers with different solubility characteristics alter similarly the metabolic activity of intestinal microbiota in rats fed cereal brans and inulin. **Nutrition Research**, v. 22, p. 1435-1444, 2002.

GRAU, A.; REA, J. Yacon. *Smallanthus sonchifolia* (Poepp. & Endl.) H. Robinson. In: Hermann, M. e Heller, J. (eds). **Andean roots and tubers: ahipa, 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 fev. 2004.

GRASTEN, S. M. et al. Fibers with different solubility characteristics alter similarly the metabolic activity of intestinal microbiota in rats fed cereal brans and inulin. **Nutrition Research**, n. 22, p. 1435-1444, 2002.

HARD, G. C. et al. Non-proliferative lesions of the kidney and lower urinary tracts in rats. 1999. In: **Guides for Toxicology Pathology**, STP/ARP/AFIP, Washington, p. 1-32.

HARDISTY, J. F.; BRIX, A. E. Comparative hepatic toxicity: prechronic/chronic liver toxicity in rodents. **Toxicology Pathology**, v. 33, p. 35-40, 2005.

HERNÁNDEZ, A. Q. et al. Programa piloto municipal “mejorar la calidad de la vida del diabético”. Resultados sobre mortalidad, complicaciones y costos en la diabetes mellitus. **Revista Cubana de Medicina General Integral**. La Habana. v. 16, n. 3, p. 227-232, mai/jun., 2000.

HIDAKA, H.; HIRAYAMA, M. Useful characteristics and commercial applications of fructo-oligosaccharides. **Biochemical Society Transactions**, v. 19, n. 3, p. 561-565, 2001.

HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre-and probiotics. **Food Research International**, Amsterdam, v. 35, n. 2-3, p. 109-116, 2002.

HOLZ-AHRENZ, K. E. et al. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73, Suppl. 2, p. 459S-464S, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 3.ed. São Paulo, 1985. v. 1

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1-18, 1999.

KAKIHARA, T. S.; CÂMARA, F. L. A.; VILHENA, S. M. C. et al. Cultivo e industrialização de yacon (*Polymnia sonchifolia*): uma experiência brasileira. In: **I Congresso Latino Americano de Raízes Tropicais e IX Congresso Brasileiro de Mandioca**, São Pedro, SP, resumo n. 148, 1996.

KANEKOT, T.; KUDO, T.; HORIKOSHI, K. Comparacion of CD composicion produced by chemeric.Cgtases. **Agric. Biol. Chem**, v. 54, n. 1, p. 197-201, 1990.

KANNEL, W.B. et al. Risk stratification of obesity as a coronary risk factor. **American Journal of Cardiology**, v. 90, p. 697-701, 2002.

KAPULER, A. M.; GURUSIDDIAH, S. The twenty protein aminoacids free in the juices of out common vegetables and herbs. **Journal of Home & Consumer Horticulture**, v. 1, n. 1, p. 3-18, 1994.

KAUR, I. P.; CHOPRA, K.; SAINI, A. Probiotics: potential pharmaceutical applications. **European Journal Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 15, p. 1-9, 2002.

KAUR, N.; GUPTA, A. K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **Journal of Bioscience**, Bangalore, v. 27, p. 703-714, 2002.

KLAENHAMMER, T. R. Probiotics and prebiotics. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. **Food Microbiology**: fundamentals and frontiers. 2 ed. Washington: ASM, p. 797-811, 2001.

KOLIDA, S.; TUOHY, K.; GIBSON, G.R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, Suppl. 2, p. S193-S197, 2002.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 329- 347, jul./set., 2008.

KRAUSE, M.V.; MAHAN, L.K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10^a ed. São Paulo: Roca, 2002.

LACHMAN, L. et al. Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tuber and rhizomes and factors affecting their content. **Plant Soil Environment**, v. 56, n. 9, p. 383-390, 2004.

LAILOLO, F. M. Functional foods: Latin American perspectives. **British Journal of Nutrition**. v. 88, Suppl. 2, p. S145-S150, 2002.

LEE, Y. K et al. **Handbook of probiotics**. New York: Wiley, 1999, 211p.

LEITÃO, R. F. F. et al. Estudos de duas cultivares de tritcale e sua aplicação em produtos de massas alimentícias (macarrão, biscoito e bolos). **Boletim ITAL**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 325-334, 1984.

LESSA, I. Doenças crônicas não-transmissíveis no Brasil: um desafio para a complexa tarefa da vigilância. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 9, n. 4, p. 931-943, 2004.

LOBO, A. R. **Efeito dos frutanos (frutooligossacarídeos) na biodisponibilidade de cálcio e magnésio em ratos**. 2004. 138 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2004.

LOUIE, D. Intestinal bioavailability and absorption of calcium. In: ANDERSON, J. J. B; GARNER, S. C. Calcium and phosphorus in health and disease. Florida: **CRC Press**, p. 45-62, 1996.

LYRA R., et al. Prevenção do Diabetes Mellitus Tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 50, n. 2, 2006.

MACHADO, F. M. S.; SANTIAGO, V. R. Os benefícios do consumo de alimentos funcionais. In: TORRES, E. A. F da S.; MACHADO, F.M.S. Alimentos em questões: uma abordagem técnica para as dúvidas mais comuns. **Ponto Crítico**, São Paulo, p.35-43, 2001.

MANZANARES, W.; ALONSO, M.; BIESTRO, A. Probióticos, prebióticos y simbióticos en pacientes críticos. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 21, n. 2, p. 155-162, 2006.

MARANGONI, A. L. **Potencialidade de aplicação de farinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos à base de cereais**. 2007. 105 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2007.

MARLETT, J. A.; McBURNEY, M. I.; SLAVIAN, J. L. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. **Journal American Dietetic Association**, v. 102, p. 993-1000, 2002.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 1979, 687p.

MELBY, E. C.; ALTMAN, N. H. **Handbook of laboratory animal sciences**. Boca Raton, C.R.C. Press Inc., v. 3, 1977.

MITRUKA, B. M.; RAWNSLEY, H. M. **Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals**. New York: Masson Publishing, 1977.

MITSUOKA, T. Intestinal flora and aging. **Nutrition Reviews** , v. 50, p. 438-446, 1992.

MOSCATTO, J. A.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; HAULY, M. C. O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 634-640, out./dez., 2004.

MOSCATTO, J. A. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 181-188, 2006.

MOURA, C. P. de **Aplicação de redes neuronais para a predição e otimização do processo de secagem de yacon (*Polymnia sonchifolia*) com pré-tratamento osmótico**. 2004. 100 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, 2004.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. **Final Report Circulation**, v. 106, p. 3143-421, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Lost crops of the Incas**: little –known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. Washington: Academy Press, 1989, 415p.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, abr./jun., 2005.

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

NINESS, K. R. Inulin and oligofructose: what are they? **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 129, Suppl. 7, p. 1402S-1406S, 1999.

NUTRITIONAL BIOCHEMICALS CORPORATION. **Diet Catalog**. Cleveland, Ohio, 1977/78. p. 18-24.

OHYAMA, T. et al. Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). **Soil Science and Plant Nutrition**. Japão, v. 36, n. 1, p. 167-171, 1990.

OLIVEIRA, M. N. de et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p. 1-21, jan./mar, 2002.

OLIVEIRA, M. A.; NISHIMOTO, E. K. Avaliação do desenvolvimento de plantas de yacon (*Polymnia sonchifolia*) e Caracterização dos carboidratos de reserve em HPLC. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p. 215-220, jul./dez., 2004.

OLIVEIRA, G. O. et al. Efeito do Extrato aquoso de raízes de yacon em ratos diabéticos. In: VIII WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS, 2008, Botucatu. **Anais...** Faculdade de Medicina de Botucatu: UNESP, 2008. p. 13.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p.

PACE A. E.; NUNES P. D.; OCHOA-VIGO K. O conhecimento dos familiares acerca da problemática do portador do diabetes mellitus. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 3, p. 312-319, 2003.

PALFRAMAN, R. J.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. A. Effect of pH and dose on the growth of gut bacteria on prebiotic carbohydrates in vitro. **Anaerobe**, n. 8, p. 287-292, 2002.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, 2003.

PELLET, P. L.; YOUNG, V. R. **Nutritional evaluation of protein foods**: report of a working group sponsored by The International Union of Nutritional Sciences and the United Nations University World Hunger Programme. Tokyo: The United Nations University, 1980. P.153.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Science Technology**, Amsterdam, v. 13, p. 3-11, 2002.

QUINTEROS, E. T. T. **Produção com tratamento enzimático e avaliação do suco de yacon**. 2000. 96 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

RAO, V. A. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels, **Nutrition Research**, v. 21, p. 843-848, 2001.

RENHE, I. R. T. et al. Prebióticos e os benefícios de seu consumo na saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 119-128, 2008.

RIBEIRO, R. de C. L. F. Distribuição, aspectos estruturais e funcionais dos frutanos, com ênfase em plantas herbáceas do cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 5, n. 2, p. 203-208, 1993.

RIBEIRO, J. de A. **Estudos químico e bioquímico do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in natura e processado e influência de seu consumo sobre níveis glicêmicos e lipídeos fecais de ratos**. 2008. 166 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2008.

RITSEMA, T.; SMEEKENS, S. Fructans: beneficial for plants and humans. **Current Opinion in Plant Biology**, n. 6, p. 223-230, 2003.

RIVERA, D.; MANRIQUE, I. **Zumo de Yacón** - Ficha Técnica. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Peru, 2005. Disponível em:
www.cipotato.org/artc/cipcrops/fichazumoyacon.pdf. Acesso em: 09 jan. 2006.

ROBERFROID, M. B. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 103-148, 1993.

ROBERFROID, M. B. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 129, p. 1398S-1401S, 1999a.

ROBERFROID, M. B. Caloric value of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 129, p. 1436S-1437S, 1999b.

ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 71, Suppl., p. 1660S – 1664S, 2000.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 73, Suppl., p. 406-409, 2001.

ROBERFROID, M. B. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, n. 87, Suppl. 2, p. S139-S143, 2002a.

ROBERFROID, M. B. Functional foods concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. Rome, v. 34, Suppl. 2, p. S105-S110, 2002b

ROBERFROID, M. B. Introducing inulin-type fructans. **British Journal of Nutrition**, n. 93, Suppl. 1, p. S13-S25, 2005.

ROWLAND, I. R. et al. Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. In: POOL-ZOBEL et al. **British Journal of Nutrition**, v. 87, Suppl. 2, p. S273-S281, 2002.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, jan./mar., 2006.

SAAVENDRA, J. M. Clinical application of probiotic agents. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 1147S-1151S, 2001.

SALGADO, J. Divulgando os alimentos funcionais para todo o Brasil. **Nutrinews**, n. 210, 2005.

SANDERS, M. E.; KLAENHAMMER, T.R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 84, p. 319-331, 2001.

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, New York, v. 61, p. 91-99, 2003.

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

SANTOS, R.D. et al. Programa de avaliação nacional do conhecimento sobre prevenção da aterosclerose (PANDORA): como tem sido feito o tratamento das dislipidemias pelos médicos brasileiros. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.75, p. 289-95, 2000.

SARTORELLI, D. S.; FRANCO, L. J. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: o papel da transição nutricional. **Caderno de Saúde Pública**. Rio de Janeiro. v. 19, Suppl. 1, p. S29-S36, 2003.

SHOLZ-AHRENZ, K. E. et al. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73, Suppl. 2, p. 459S-464S, 2001.

SCOTT, F.W. HPLC determination of carbohydrates in foods. In: NOLLET, L.M.L. **Foods Analysis by HPLC**. New York: Marcel Dekker, 1992. P. 259-74.

SILVA, R. F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 41, n. 10, p. 792-795, 1996.

SILVA, J. A. **Tópicos da Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 227p.

SILVA, L. L.; STAMFORD, T. L. M. Alimentos probióticos: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 68/69, p. 41-50, 2000.

SILVA, E. B. da **Processamento de bebida funcional à base de yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepping & Endlicher)**. 2004. 96 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

SILVA, G. B. et al. Composição química da raiz e das folhas desidratadas do yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepp.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 48-52, 2004.

SILVA, A. S. S. **A raiz da yacon (*Smallanthus sonchifollius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós-prandial**. 2007. [s.n.]. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

SILVA, A. S. S. da et al. Frutooligossacarídeos: fibras alimentares ativas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 295-304, jul/dez., 2007.

SILVA, S. M. C.; MURA, J. P., **Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia**, São Paulo: Rocca, 2007.

SILVEIRA, N. D. P. **O emprego da metodologia de superfície de resposta no desenvolvimento de um novo produto simbiótico, fermentado com *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus helveticus* SSP jugurti 416, à base de extratos aquosos de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*).** 2009. 122 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

SKLIUTAS, A. R. **Estudo do desenvolvimento de barra dietética de cereais e goiaba desidratada pelo processo de osmose à vácuo com utilização de frutooligossacarídeos.** 2002. 116 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2002.

STEVENS, C. V.; MERIGGI, A.; BOOTEN, K. Chemical modification of inulin, a valuable renewable resource, and its industrial applications. **Biomacromolecules**, v. 2, n. 1, p. 1-16, 2001.

STIKAROVSKA, M.; CHMELIK, J. Determination of neutral oligosaccharides in vegetables by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, n. 520, p. 47-55, 2004.

TAIPINA, M. S.; FONTES, M. A.de S.; COHEN, V. H. Alimentos funcionais – nutracêuticos. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 100, set., 2002.

TAIPINA, M. S. et al. Novas tecnologias: alimentos funcionais e a irradiação de alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 112, set., 2003.

TALMUD, P.J. WATERWORTH, D.M. In-vivo and in-vitro nutrient-gene interactions. **Current Opinion Lipidol.**, v.11, p. 31-6, 2000.

TANAKA, S. S.; ROSALINO, J. I.; COLLARES, F. P. Desenvolvimento de farinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) – composição química e teor de frutooligossacarídeos. In: XIII Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP, 2005, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2005. Disponível no site: <http://www.prp.unicamp.br/pibic/congressos/xiiicongresso/cdrom/pdfN/846.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2009.

TAKENAKA, M. et al. Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 793-796, 2003.

TEEUWEN, H.; THOMÉ, M.; VANDORPE, J. Inulin: a versatile fibre ingredient. **International Food Ingredient**, v. 4, n.5, p. 10-14, 1992.

THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in adults. *Circulation*, v.25, n.106, p. 3143-421, 2002.

TOOPING, D. L. Short-chain fatty acids produced by intestinal bacteria. Asia Pacific. **Journal Clinical Nutrition**, v. 5, p. 15-19, 1996.

TORRES, E. A. F. da S; MACHADO, F. M. S **Alimentos em questão: uma abordagem técnica para as dúvidas mais comuns**. São Paulo: Ponto Crítico, 2001. 160p.

TOKUNAGA, T.; OKU, T. HOSOYA, N. Influence of chronic intake of new sweetener fructooligosaccharides (neosugar) on growth and gastrointestinal function of rat. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, v. 32, p. 111-121, 1986.

TUOHY, K. M. et al. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Drug Discovery Today**, Haywards Heath, v. 8, n. 15, p. 692-700, 2003.

VENTURA, F. C. **Desenvolvimento de doce de fruta em massa funcional de valor calórico reduzido, pela combinação de goiaba vermelha e yacon desidratados osmoticamente e acerola.** 2004. 217 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

VIGGIANO, C. E. A segunda era de ouro da nutrição: alimentos funcionais. **Revista Nutrição Profissional**, São Paulo, n. 1, p. 12-20, mai/jun. 2005.

VILHENA, S. M. C. **Efeito da exposição ao sol e do armazenamento sobre o conteúdo e a composição dos carboidratos de reserva em raízes tuberosas de yacon (*Polymnia sonchifolia* Poep Endl.).** 1997. 63p. Dissertação (Mestrado FCA) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 1997.

VILHENA, S. M. C.; CÂMARA, F. L. A.; KAKIHARA, S. T. O cultivo do yacon no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 18, n. 1, p. 5-8, mar., 2000.

VOLPATO, G. T. et al. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do *Diabetes mellitus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 4, n. 2, p. 35-45, 2002.

WIEDMANN, M.; JADER, M. Synergistic sweeteners. **Food Ingredients Anal.**, p. 51-56, nov-dez. 1997.

WILLIAMS, C. M.; JACKSON, K. G. Inulin and oligofructose: effects on lipid metabolism from human studies. **British Journal of Nutrition**, v. 87, Suppl. 2, p. S261-S264, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. Geneva, **WHO**, 1998, 68p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Preventing chronic diseases, a vital investment. Geneva, **WHO**, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cardiovascular diseases. **WHO**, 2006. Disponível em < http://www.who.int/topics/cardiovascular_diseases/es/index.html > Acesso em: 7 mar. 2009.

Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). In: UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA. **Programa de Investigacion y Proyeccion Social en Raíces y Tuberosas**. Disponível em: < [http:// www.lamolina.edu.pe/Investigacion/programa/yacon/Yacon.htm](http://www.lamolina.edu.pe/Investigacion/programa/yacon/Yacon.htm) >. Acesso em: 14 jul. 2005.

YAMAMOTO, Y. et al. *In vitro* digestibility and fermentability of levan and it hypocholesterolemic effects in rats. **Journal Nutrition Biochemistry**, Osaka, v. 10, p. 13-18, 1999.

YAN, X. et al. Extraction and identification of antioxidantes in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolia*). **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4711-4713, 1999.

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

ZEISEL, S. Regulation of “nutraceuticals”. **Science**, n. 285, p. 1853-1855, 1999.

ZIEMER, C. J.; GIBSON, G. R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Journal of Dairy**, Amsterdam, v. 8, p. 473-479, 1998.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

 UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO		 PRPPG Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA 		
Título do projeto: "Extração e utilização de frutanos de Yacon (<i>Polymia sonchifolia</i>) para funcionalização de alimentos consorciados com probióticos do gênero <i>Bifidobacterium</i> sp."		
Protocolo nº: 76/08		
Pesquisador responsável: Profa. Ms. Roseli Aparecida Claus Bastos Pereira		
 Parecer:		
 Após análise de versão revisada do projeto, este Comitê considera aprovada a presente proposta.		
  		
Prof. Dr. Marcos da Cunha Lopes Virmond Presidente		
 Bauru, 11 de julho de 2008		

ANEXO B – Determinação da dosagem de cálcio

FCA – unesp  **FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS**
 DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURAIS / CIÊNCIA DO SOLO
 CÂMPUS DE BOTUCATU

LABORATÓRIO DE FERTILIZANTES E CORRETIVOS
RESULTADOS DE ANÁLISES DE MATERIAL ORGÂNICO

INTERESSADO: Prof^o Cláudio Cabello
 ENDEREÇO: Cerat
 FONE: 7158
 MATERIAL: Cerat / Unesp

AMOSTRA(S)		Ca
Labor.	Amostra	%
580	1	0,04



Obs.: Amostras coletadas pelo interessado, e serão armazenadas por 30 dias.

Botucatu, 01 de outubro de 2009.


 Aulinara Papa
 Auxiliar de Laboratório


 Prof. Dr. Roberto Lyra V. Boas
 Responsável pelo Laboratório

DEPT. VISE. RACIÓCIA DE RADOOS. 1780 - FONE / FAX: 715811. 7344 - CEP: 13.615-907 - BOTUCATU - SP - E-mail: raciocia@fca.unesp.br

APÊNDICE A – Análise histológica

• **Fixação**

A fixação é um processo que tem por finalidade conservar as células ou os tecidos no estado em que eles se encontram “in vivo”. A fixação deve assegurar a conservação morfológica dos elementos anatômicos e torná-los aptos à coloração. A finalidade dos fixadores é: evitar ao máximo possível alterações da constituição química celular, fixar proteínas e inativar enzimas proteolíticas, o mais rapidamente possível, pois são responsáveis pelos fenômenos de autólise. O fixador mais usado é o aldeído fórmico (formol ou formalina). O tecido pode permanecer por mais de 10 anos sem alterar nada. Geralmente é usado solução aquosa a 10% (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

• **Desidratação**

É o processo através do qual se retira a água do tecido. Deve-se utilizar nesse processo substâncias que tenham apetência para realizar misturas em todas as proporções com a água. A desidratação baseia-se, portanto, no tratamento das peças passando-as por uma série de álcoois de concentração crescente 70 (1 hora), 80 (1 hora), 95(2 horas) e 100% (2 horas). Este processo fundamenta-se no fato de que quando entram em contato, soluções de álcool e água ocorre uma série de correnteza de conflitos interfásicos, podendo causar modificações de posição e relações de elementos integrantes das células ou dos órgãos entre si. Para evitar isso, utiliza-se álcoois de concentração crescente diminuindo a violência destas correntezas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

• **Diafanização ou clareamento**

Como o álcool não é miscível com a parafina, deve-se usar outro produto com a função de ponte entre o álcool e a parafina. Este produto deverá ser miscível com ambos em todas as proporções. Usa-se geralmente o xilol (2 horas) ou benzol. Quando a substituição do álcool pelo intermédio estiver completo, as substâncias empregadas

comunicam à peça o seu alto índice de refração, tornando-a translúcida (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

- **Parafinização**

É a infiltração com a parafina. Este processo impregna os tecidos completamente com o produto fundido. Consiste em passar a peça em 2 banhos de parafina em tempos de 1 hora cada que variam com a peça em questão a fim de retirar todos os vestígios do diafanizador.

- **Inclusão em parafina**

Depois do último banho de parafina, a peça pode ser incluída definitivamente em moldes apropriados no qual se despeja a parafina fundida e onde, com o auxílio de uma pinça, é colocada a peça orientando-a no sentido desejado, deixando posteriormente, solidificado. Retira o molde (Figura 39) e identifica-se com etiqueta com todos os dados. Coloca-se na geladeira e corta-se no micrótomo (6 microns). (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). Ao ser cortado no micrótomo coloca-se o material em banho-maria (40 a 45°C) a ser pescado com o auxílio de um pincel, colocando na lâmina previamente albuminada e levado a estufa a 55°C.



Figura 39. Molde com fígado

- **Coloração**

A maioria dos tecidos é incolor, o que torna difícil sua observação ao microscópio. Devido a isso, foram introduzidos métodos para a coloração dos tecidos, de modo a tornar seus componentes visíveis e destacados uns dos outros. A coloração é feita usando geralmente misturas de substâncias químicas denominadas corantes. A maioria dos corantes usados em histologia comporta-se como ácidos ou bases e tendem a formar ligações salinas com radicais ionizáveis presentes nos tecidos. Os componentes dos tecidos que se coram facilmente com corantes básicos são chamados basófilos, sendo chamados de acidófilos os que se ligam a corantes ácidos. Os corantes básicos principais são: azul de toluidina, azul de metileno, hematoxilina; os corantes ácidos são: orange G, eosina e a fucsina ácida. A coloração dupla pela hematoxilina e eosina (HE) é a mais utilizada na rotina histológica, porém muitos outros são usados (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

- **Coloração de hematoxilina – eosina (HE)**

A coloração em HE foi feita da seguinte maneira:

- Desparafinizar em xilol I por 10 minutos;
- Desparafinizar em xilol II por 10 minutos;
- Álcool 100% por 1 minuto;
- Álcool 100% por 1 minuto;
- Álcool 95% por 1 minuto;
- Álcool 95% por 1 minuto;
- Álcool 70% por 1 minuto;
- Lavar bem em água corrente;
- Corar em hematoxilina por 5 minutos;
- Lavar bem em água corrente para tirar o excesso do corante;
- Passar rápido pelo diferenciador;
- Lavar em água corrente;

- Passar pelo álcool 80% (mordente - se torna miscível ao corante eosina);
- Corar em eosina por 1 minuto;
- Lavar em álcool 95%;
- Lavar novamente em álcool 95%;
- Lavar em álcool 100%;
- Lavar novamente em álcool 100 %;
- Passar pelo xilol I;
- Passar pelo xilol II;
- Passar pelo xilol III;
- Montar com lamínula e meio Permount;
- Deixar secar;
- Limpar com xilol.