

FABIANA CARVALHO RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA FARINHA DE YACON (*Smallanthus
sonchifolius*) NA MODULAÇÃO DAS PROPRIEDADES
BIOMECÂNICAS E NA RETENÇÃO DE MINERAIS NOS OSSOS
DE RATOS *WISTAR***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

R696a
2011

Rodrigues, Fabiana Carvalho, 1977-

Avaliação da farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)
na modulação das propriedades biomecânicas e na retenção
de minerais nos ossos de ratos Wistar / Fabiana Carvalho
Rodrigues. – Viçosa, MG, 2011.
xiv, 165f. : il. ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Célia Lúcia de Luces Fontes Ferreira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 68-88.

1. Farinha de yacon. 2. Prebióticos. 3. Probióticos.
4. Minerais - Bioviabilidade. 5. Alimentos funcionais.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 664.024

FABIANA CARVALHO RODRIGUES

AVALIAÇÃO DA FARINHA DE YACON (*Smallanthus sonchifolius*) NA MODULAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS E NA RETENÇÃO DE MINERAIS NOS OSSOS DE RATOS *WISTAR*

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 13 de dezembro de 2011.

Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa

Prof. Rogério Graça Pedrosa

Prof^a. Edimar Aparecida Fontes Fontes

Prof^a. Luíza Carla Vidigal Castro

Prof^a. Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira
(Orientadora)

*Dedico este trabalho em especial às pessoas mais importantes da minha vida,
que me incentivaram e apoiaram em todos os momentos, me ensinando sempre
a lutar por meus sonhos.*

*Ao meu esposo Adriano, Elenice minha querida mãe, José meu pai
(in memoriam), Fernanda e André, Luzia, e a todos familiares.*

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por estar sempre presente em minha vida e me ajudar a vencer todas as dificuldades.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Tecnologia de Alimentos e todos os outros departamentos, em especial ao Departamento de Nutrição e Saúde pelo suporte para o bom desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo suporte financeiro.

À professora Célia Lúcia L. F. Ferreira pela orientação e ensinamentos.

Às professoras Hércia Stampini, Neuza Brunoro, Tânia Toledo, Edimar Aparecida e Luíza Carla pelo apoio, ensinamentos e valiosa amizade.

Aos servidores técnicos administrativos de todos os departamentos envolvidos neste trabalho, pelo apoio e auxílio na execução das atividades.

Aos inúmeros amigos que estiveram presentes em cada momento, e a todos que contribuíram de alguma forma para a realização desta pesquisa.

BIOGRAFIA

FABIANA CARVALHO RODRIGUES, filha de José Rodrigues Gomes e Elenice Garcia de Carvalho Rodrigues, nasceu em São Paulo/SP, em oito de abril de 1977.

Ingressou no curso de Bacharel em Tecnologia de Laticínios em 1997 na Universidade Federal de Viçosa/UFV, onde se graduou em março de 2001.

Em 2001, iniciou o curso de Mestrado em Agroquímica/UFV, defendendo a dissertação em 2003.

Ingressou em 2007 no Programa de Pós-Graduação do Departamento de Tecnologia de Alimentos/UFV em nível de Doutorado, submetendo-se à defesa de tese em dezembro de 2011.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Alimento funcional: importância e benefícios do consumo.....	3
2.2. Alimentos funcionais no Brasil.....	5
2.3. Prebióticos e probióticos como alimentos funcionais.....	8
2.4. Efeitos benéficos dos prebióticos, probióticos e simbióticos.....	9
2.5. Influência de prebiótico e probiótico na função hepática e no perfil de lipídios.....	13
2.6. Prebióticos e probióticos na modulação de minerais.....	17
2.7. Yacon: características, propriedades funcionais e utilização na produção de alimentos processados.....	20
2.8. Importância do cálcio, fósforo e magnésio na manutenção da saúde óssea.....	23
2.9. Influência do cálcio no perfil de lipídios.....	25
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS DO ESTUDO.....	28
3.1. Hipóteses.....	28
3.2. Objetivo geral.....	28
3.3. Objetivos específicos.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1. Delineamento experimental	29
4.2. Protocolo de elaboração e análise química da farinha de yacon (estudo I).....	31
4.2.1. Análises físico-químicas da farinha de yacon.....	31
4.3. Animais utilizados nos ensaios biológicos dos estudos II e III.....	33
4.4. Descrição do estudo II.....	34
4.5. Descrição do estudo III.....	36

4.6. Descrição das variáveis avaliadas nos estudos II e III.....	39
4.6.1. Determinação do coeficiente de eficiência alimentar, ganho de peso e consumo de dieta.....	39
4.6.2. Avaliação da microbiota, pH e concentração de AGCC no ceco.....	39
4.6.3. Determinação do conteúdo mineral ósseo.....	41
4.6.4. Avaliação das propriedades ósseas.....	42
4.6.5. Determinação bioquímicas do soro.....	42
4.7. Análise estatística.	46
5. RESULTADOS.....	47
5.1. Composição química da farinha de yacon (estudo I).....	47
5.2. Efeito da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio em modelo murino (estudo II).....	49
5.2.1. Ganho de peso, consumo alimentar, coeficiente de eficiência alimentar e avaliação da função hepática.....	49
5.2.2. Propriedades biomecânicas e conteúdo mineral ósseo.....	52
5.3. Efeito da farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico (<i>B. longum</i>) e simbiótico em modelo murino (estudo III).....	54
5.3.1. Ganho de peso, consumo alimentar, coeficiente de eficiência alimentar e avaliação da função hepática.....	54
5.3.2. Propriedades biomecânicas e conteúdo mineral ósseo.....	56
5.3.3. Microbiota, pH e concentração de AGCC no ceco.....	57
6. DISCUSSÃO.....	60
6.1. Composição química da farinha de yacon (estudo I).....	60
6.2. Efeito da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio em modelo murino (estudo II).....	62
6.3. Efeito da farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico (<i>B. longum</i>) e simbiótico em modelo murino (estudo III).....	64
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
9. ANEXOS.....	89
9.1 Publicações originais.....	89

9.1.1. Yacon como alimento funcional: fonte de prebiótico.....	89
9.1.2. Farinha de yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>): produção e caracterização química.....	114
9.1.3. Yacon flour and <i>Bifidobacterium longum</i> modulate bone health in rats.....	130
9.2. Dados brutos dos experimentos.....	149
9.2.1. Efeito da farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico (<i>B.</i> <i>longum</i>) e simbiótico em modelo murino (estudo III).....	149
9.2.2. Efeito da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio em modelo murino (estudo II).....	154
9.3. Tabelas de análise de variância.....	160
9.4. Termo de aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética – UFV..	165

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina difosfato
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ALT	Alanina amino-transferase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AST	Aspartato amino-transferase
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosina trifosfato
CEA	Coeficiente de eficiência alimentar
CERAT	Centro de Raízes e Amidos Tropicais
CG	Cromatografia gasosa
DCV	Doença cardiovascular
DHA	Ácido docosahexaenóico
DMO	Densidade mineral óssea
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTA	Departamento de Tecnologia de Alimentos
EPA	Ácido eicosapentaenóico;
FAO	Food and Agriculture Organization
FOS	Fruto-oligossacarídeos
FY	Farinha de yacon
GOS	Galacto-oligossacarídeos
GP	Grau de polimerização
HDL-c	Colesterol-HDL (lipoproteína de alta densidade)
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IDR	Ingestão diária recomendada
IOM	Institute of Medicine
LDL-c	Colesterol-LDL (lipoproteína de baixa densidade)
MDH	Malato desidrogenase
MRS	De Mann, Rogosa e Sharpe
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NAD ⁺	Dinucleotídeo de adenina nicotinamida
NADH	Dinucleotídeo de adenina nicotinamida desidrogenase
NSP	Polissacarídeos não amiláceos
PCA	Plate count agar
SAS	Statistical Analysis System
UFV	Universidade Federal de Viçosa
UFVCC	Coleção de culturas da Universidade Federal de Viçosa
WHO	World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Possíveis mecanismos de ação de probióticos e prebióticos sobre o metabolismo de lipídios.....	16
Figura 2: Delineamento experimental dos ensaios biológicos com ratos Wistar.....	30
Figura 3: Concentração de triacilgliceróis (a) e HDL-c (b) de ratos Wistar que consumiram farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.....	51
Figura 4: Teor de fósforo (a) e cálcio (b) na tíbia e força de fratura do fêmur (c) de ratos Wistar que consumiram farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.....	53
Figura 5: Variação da contagem de micro-organismos no conteúdo cecal de animais tratados com C (dieta AIN-93G); Pre (farinha de yacon com 4% de FOS); Pro (<i>B. longum</i>) e Simb (farinha de yacon com 4% de FOS + <i>B. longum</i>). Valores médios $\pm$ desvio padrão (barra vertical), n=4. Significância (P<0,05). Tratamentos com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis de evidência para o risco do desenvolvimento de obesidade, diabetes tipo 2, doença cardiovascular (DCV), câncer e osteoporose.....	4
Tabela 2 - Exemplos de novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde aprovadas pela ANVISA.....	6
Tabela 3 - Benefícios do consumo de prebiótico, probiótico e simbiótico: resumo de estudos clínicos.....	10
Tabela 4 - Benefícios do consumo de prebiótico, probiótico e simbiótico: resumo de estudos com modelo animal.....	11
Tabela 5 - Produtos alimentícios à base de yacon.....	22
Tabela 6 - Composição das dietas experimentais (g 100g ⁻¹) do estudo II.....	35
Tabela 7 - Composição das dietas experimentais (g 100g ⁻¹) do estudo III.....	37
Tabela 8 - Processamento do yacon para obtenção da farinha.....	47
Tabela 9 - Composição química da farinha de yacon (g 100g ⁻¹).....	48
Tabela 10 - Variáveis da função hepática no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.....	49
Tabela 11 - Perfil de lipídios (mg/dL) no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.....	50
Tabela 12 - Propriedades biomecânicas do fêmur, conteúdo mineral e peso da tíbia de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.....	52
Tabela 13 - Variáveis da função hepática no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.....	55
Tabela 14 - Perfil de lipídios (mg/dL) no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.....	55
Tabela 15- Propriedades biomecânicas dos fêmures de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.....	56
Tabela 16 - Conteúdo mineral (%) na tíbia de ratos Wistar que receberam farinha de yacon 4% de FOS, probiótico e simbiótico.....	57
Tabela 17 - Concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (mmol/L), valores de pH e peso do ceco de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.....	59

RESUMO

RODRIGUES, Fabiana Carvalho, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2011. **Avaliação da farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) na modulação das propriedades biomecânicas e na retenção de minerais nos ossos de ratos Wistar.** Orientadora: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira. Coorientadoras: Hércia Stampini Duarte Martino e Tânia Toledo de Oliveira.

O yacon é um alimento ainda pouco explorado, característico pela vida de prateleira curta, decorrente da grande porcentagem de água que possui. Neste sentido, a farinha de yacon torna-se promissora, pois além de aumentar a vida útil do yacon, facilita sua incorporação na produção de diversos alimentos. Os objetivos deste estudo foram: elaborar a farinha a partir da raiz do yacon, determinar seu rendimento e caracterizar a composição química (estudo I); avaliar o efeito da farinha de yacon na saúde óssea dos animais (estudo II e III); verificar os possíveis efeitos hepatotóxicos da farinha de yacon em ratos (estudo II e III) e avaliar o efeito da farinha de yacon na modulação da microbiota cecal dos animais (estudo III). Para elaboração da farinha de yacon foi realizada secagem a 55°C/48 horas. A farinha obtida foi utilizada no preparo das dietas experimentais para realização dos ensaios biológicos com ratos Wistar. No estudo II, os animais (n=8) foram distribuídos em 6 grupos experimentais, com dois níveis de cálcio (100% e 75% das recomendações) e três níveis de FOS da farinha de yacon (0%, 4% e 8%) da seguinte maneira: 1) 100% Ca; 2) 100% Ca + farinha de yacon (FY) com 4% FOS; 3) 100% Ca + FY com 8% FOS; 4) 75% Ca; 5) 75% Ca + FY com 4% FOS e 6) 75% Ca + FY com 8% FOS. Para realização do estudo III, os animais (n=8) foram distribuídos em 4 grupos: 1) Controle (dieta padrão AIN-93G); 2) Prebiótico (FY com 4% de FOS); 3) Probiótico (0,1 mL do concentrado celular de *B. longum*); 4) Simbiótico (FY com 4% de FOS + probiótico). Ao final dos 28 dias de experimentação os animais (estudo II e III) foram avaliados quanto à função hepática (proteína, albumina, AST, ALT, fosfatase alcalina, triacilgliceróis, colesterol total e frações); propriedades biomecânicas (comprimento, espessura e força de fratura) do fêmur e conteúdo de minerais (cálcio, fósforo e magnésio) na tíbia. No estudo III, avaliou-se também a concentração de AGCC e a microbiota do conteúdo cecal. No estudo I foram obtidos os seguintes resultados para a composição química da FY: 0,05 g de cálcio; 0,15 g de lipídios; 0,18 g de magnésio; 0,21 g

de fósforo; 2,7 g de proteínas; 5,4 g de resíduo mineral fixo; 6,9 g de umidade; 25,7 g de FOS e 38,95 g de carboidratos não digeríveis. O consumo da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio não afetou as variáveis hepáticas. A força de fratura do fêmur e os teores de cálcio e fósforo na tíbia aumentaram ($P<0,05$) com a adição de níveis crescentes da farinha de yacon (estudo II). Houve aumento ($P<0,05$) do conteúdo de cálcio, fósforo e magnésio na tíbia dos animais dos grupos probiótico e simbiótico (estudo III). A incorporação da farinha com 4% de FOS elevou a contagem de anaeróbios estritos e facultativos, aumentou a concentração de ácido propiônico e butírico, exercendo efeito positivo na modulação desses ácidos graxos de cadeia curta no ceco dos animais (estudo III). Os experimentos realizados nesta pesquisa constituem um indicativo de que a farinha de yacon pode melhorar a saúde óssea, por aumentar a resistência a fratura e a retenção de minerais (cálcio, fósforo e magnésio) nos ossos. Devido à versatilidade que a farinha possui de ser incorporada a vários tipos de produtos, o yacon nesta forma pode contribuir para o desenvolvimento de vários alimentos com alegação de propriedades funcionais, por apresentar 25,7% de FOS.

ABSTRACT

RODRIGUES, Fabiana Carvalho, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2011. **Evaluation of yacon flour (*Smallanthus sonchifolius*) in the modulation of the biomechanical properties and retention of minerals in the bones of Wistar rats.** Adviser: Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira. Co-Advisers: Hércia Stampini Duarte Martino and Tânia Toledo de Oliveira.

Yacon is a food product that has been little explored and is characterized by its high water content resulting in short shelf life. Thus, yacon flour is a promising alternative since it extends the shelf life of yacon and facilitates its incorporation to various foods. The objectives of this study were: to develop flour from the yacon root, determine yield and characterize the chemical composition (study I), evaluate the effect of yacon flour on bone health of animals (study II and III), verify the possible effects of hepatotoxic yacon flour in rats (study II and III) and evaluate the effect of yacon flour on the modulation of caecal flora in animal (study III). For preparation of yacon flour it was first dried at 55°C for 48 hours. The flour obtained was used to prepare the experimental diets to carrying out the biological tests with rats. In study II, the animals (n = 8) were divided into six experimental groups for two levels of calcium (100% and 75% of the recommended) and three levels of yacon flour FOS (0%, 4% and 8%) as follows: 1) 100% Ca; 2) 100% Ca + yacon flour (FY) with 4% FOS; 3) 100% Ca + FY with 8% FOS; 4) 75% Ca; 5) 75% Ca + FY with 4% FOS and 6) 75% Ca + FY with 8% FOS. In study III, the animals (n = 8) were divided into 4 groups: 1) control (standard AIN-93G diet), 2) prebiotic (FY with 4% FOS), 3) Probiotic (0.1 mL of concentrated *B. longum* cells), and 4) Symbiotic (FY with 4% FOS + probiotic). After 28 days, of experimental the animals (study II and III) were evaluated for liver function (protein, albumin, AST, ALT, alkaline phosphatase, triglycerides, total cholesterol, HDL-c and LDL-c), biomechanical properties (length, thickness and fracture strength) and femur mineral content (calcium, phosphorus and magnesium) in the tibia. In study III the concentration of SCFA and microbiota in the cecal content was also evaluated. Study I provided were obtained the following results for the chemical composition of FY: 0.05 g of calcium, 0.15 g of lipids, 0.18 g of magnesium, 0.21 g of phosphorus, 2.7 g of protein, 5.4 g ash, 6.9 g moisture, 25.7 g of FOS and 38.95 g of non-digestible carbohydrates. The consumption of yacon flour with 4% and 8% FOS in the diet with 100% or 75% of the recommended calcium did not affect the liver variables. Fracture strength of

the femur and the calcium and phosphorus in the tibia increased ($P<0.05$) with the addition of increasing levels of yacon flour (study II). Increased ($P<0.05$) contents of calcium, phosphorus and magnesium were observed in the tibia of animals of the probiotic and synbiotic groups (study III). Incorporation of flour with 4% FOS increased the count of strict and facultative anaerobes and also increased concentrations of propionate and butyrate, exerting a positive effect on the modulation of short-chain fatty acids in the cecum of the animals (study III). The experiments conducted in this study are indicative that yacon flour can improve bone health by increasing resistance to fracture and retention of minerals (calcium, phosphorus and magnesium). Because of the versatility of the flour to be incorporated into various products, yacon may contribute to the development of various foods with functional property claims due to their high FOS content.

1. INTRODUÇÃO

A utilização dos alimentos como veículo de promoção do bem-estar e saúde tem incentivado a realização de pesquisas para descobrir novos componentes naturais que possam atuar como alimentos funcionais. Dentre esses alimentos tem-se o yacon, que apesar de ser cultivado no Brasil desde 1989 (VILHENA, CAMARA e KAKAHIRA, 2000), somente na última década é que se observa um aumento de pesquisas científicas visando estudar suas propriedades funcionais e medicinais (AYBAR et al., 2001; VALENTOVA et al., 2004; MOSCATTO et al., 2006; VOLPATO et al., 2007; ROLIM, 2008).

O yacon faz parte da família *Asteraceae* e possui, em base seca, de 40 a 70% de fruto-oligossacarídeos (FOS) (MANRIQUE, PÁRRAGA e HERMANN, 2005). Este componente bioativo pertence à classe dos frutanos e são formados por polímeros de frutose com ligações β (2 $\rightarrow$ 1) (CARABIN e FLAMM, 1999). Os FOS são classificados como fibras solúveis e tem despertado o interesse de muitos pesquisadores por atuarem como prebiótico (GIBSON et al., 2004; SALES et al., 2010).

Prebióticos são definidos pela Food and Agriculture Organization (FAO) como “ingredientes não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pelo estímulo seletivo do crescimento e, ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon” (FAO, 2007). Alguns estudos têm detectado a ação prebiótica na modulação da microbiota intestinal (BARTRAM et al., 1994; CAMPBELL, FAHEY e WOLF, 1997; BOUHNICK et al., 2004; FERREIRA, TESHIMA e COSTA, 2008); modulação do sistema imune (ARSLANOGLU et al., 2008); melhora do metabolismo ósseo em animais (LOBO, COLLI e FILISETTI, 2006) e diminuição na concentração de triacilgliceróis, insulina e glicose (DELZENNE e KOK, 1999).

Além dos prebióticos, pesquisas têm avaliado o efeito dos probióticos e simbióticos na modulação da microbiota intestinal (FERREIRA, TESHIMA e COSTA, 2008) e da biodisponibilidade de minerais (PEREZ-CONESA, LOPEZ e ROS, 2007). Probióticos são “micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro”

(FAO, 2002). Quando um alimento contém ambos (probiótico e prebiótico) tem-se um simbiótico (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

Oliveira e Nishimoto (2004) relataram que ao comparar o yacon com outras plantas freqüentemente utilizadas no processo de extração de frutanos, como *Helianthus tuberosus*, *Chichorium inthybus* e *Dália* sp.; o yacon possui a vantagem de fornecer maior produção de frutanos (5,7 toneladas/hectare contra 4,5, 0,9 e 2,5 toneladas/hectare das espécies citadas, respectivamente). Além disso, as fontes tradicionais de FOS apresentam frutanos com grau de polimerização (GP) maior que 35, sendo necessário realizar processos de hidrólise para obtenção dos FOS. Isso contribui para aumentar o custo do produto final e inviabiliza a utilização pela população em geral. O yacon, por sua vez, possui frutanos com GP máximo de 12 moléculas (VILHENA, CAMARA e KAKIHARA, 2000), e na forma de farinha a concentração de FOS pode atingir 19,43% (VASCONCELOS et al., 2010), o que possibilita sua utilização como uma fonte alternativa de FOS.

Além de estudos com as raízes tuberosas, a farinha de yacon tem chamado à atenção dos pesquisadores por proporcionar uma vida de prateleira maior do que o yacon *in natura*, maior praticidade de uso e incorporação na elaboração de diversos alimentos (MOSCATTO et al., 2006; MARANGONI, 2007; ROLIM, 2008). Portanto, faz-se necessário investigar as propriedades funcionais da farinha de yacon, uma vez que na literatura científica há poucos estudos publicados sobre os possíveis efeitos benéficos do consumo desse alimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Alimento funcional: importância e benefícios do consumo

As doenças crônicas não transmissíveis acometem milhões de pessoas e de acordo com a World Health Organization (WHO), em 2001, elas foram responsáveis por cerca de 60% do total de 56.500 mil mortes no mundo. Um dos fatores que auxilia na redução do risco dessas patologias é a adoção de uma alimentação saudável (WHO, 2003), e isto, tem levado pesquisadores do mundo inteiro a desenvolver estudos bioquímicos, nutricionais e toxicológicos com modelos animais, além de ensaios clínicos, na tentativa de descobrir alimentos com componentes bioativos capazes de reduzir o risco das doenças crônicas não transmissíveis.

Neste contexto, em 1980 originou-se no Japão o termo alimentos funcionais para designar os alimentos que contém compostos bioativos que afetam a estrutura e/ou função do organismo de forma benéfica, auxiliando na manutenção ou regulação da saúde. Contudo, ainda não há uma definição universalmente aceita para essa categoria de alimentos, mas tanto os EUA quanto a União Européia consideram que um alimento funcional é aquele que além do papel de nutrição básica, também contribui para melhorar a saúde do hospedeiro (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009).

A FAO publicou algumas recomendações quanto ao consumo de alimentos, dieta e estilo de vida, sugerindo níveis de evidência científica (convvincente diminuição de risco, provável diminuição de risco, etc.) para o risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, de acordo com a qualidade, quantidade e os resultados dos estudos disponíveis (WHO, 2003). A Tabela 1 apresenta alguns exemplos desses níveis de evidência relacionados com o consumo de alimentos.

Tabela 1 - Níveis de evidência para o risco do desenvolvimento de obesidade, diabetes tipo 2, doença cardiovascular (DCV), câncer e osteoporose.

	Obesidade	Diabetes tipo 2	DCV	Câncer	Osteoporose
Alta ingestão de fibra alimentar (NSP)	C↓	P↓	P↓		
Ácido linoléico			C↓		
Ácido oléico			P↓		
Cereais integrais			P↓		
Cálcio					C↓
Frutas (inclusive frutas vermelhas) e vegetais	C↓ ^k	P↓ ^k	C↓	P↓ ^l	
Peixe e óleo de peixe (EPA e DHA)			C↓		

C↓: convincente diminuição de risco; P↓: provável diminuição de risco; NSP: polissacarídeos não amiláceos; EPA: ácido eicosapentaenóico; DHA: ácido docosahexaenóico; k: baseado nas contribuições de frutas e vegetais com polissacarídeos não amiláceos; l: para câncer da cavidade oral, esôfago e colorretal. Fonte: adaptado de WHO (2003).

Para uma determinada população, a prática dietética recomendada pela WHO (2003), associada ao estilo de vida saudável, deve modificar o risco atribuível de uma doença. Portanto, o consumo desses alimentos como parte habitual da dieta, e a diminuição da ingestão de açúcar, sal e gordura constitui uma maneira de prevenir o surgimento de muitas patologias. A divulgação de estudos como esse, possivelmente, explica o interesse da indústria de alimentos em relação aos alimentos funcionais. O ritmo global de crescimento dessa categoria de produtos é cerca de 10% ao ano, índice três vezes maior que o de produtos alimentícios convencionais (TERRAVIVA, 2007).

Alimentos funcionais são ainda considerados uma área de estudo recente, e portanto, mais pesquisas sobre as substâncias bioativas presentes nesses alimentos são necessárias para que se possa determinar seus efeitos benéficos com maior exatidão, e também as doses máximas e mínimas a serem ingeridas pela população, a fim de se obter os efeitos desejáveis.

2.2. Alimentos funcionais no Brasil

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável por regulamentar os alimentos funcionais no Brasil e somente em 1999, pela Resolução nº. 19/04/1999 é que foram estabelecidos os procedimentos para registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde. A alegação de propriedade funcional refere-se ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano, enquanto que a alegação de propriedade de saúde é aquela que afirma, sugere ou implica a existência da relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde (BRASIL, 1999).

Para que um alimento possa ser comercializado com alegação de funcionalidade, várias informações devem ser fornecidas para obtenção do registro na ANVISA. Dentre estas informações, deve-se apresentar uma descrição científica dos ingredientes do produto, segundo espécie de origem botânica, animal ou mineral; composição química com caracterização molecular, quando for o caso e/ou evidências científicas (ensaios nutricionais, fisiológicos e/ou toxicológicos em animais de experimentação, ensaios bioquímicos e clínicos, estudos epidemiológicos, comprovação de uso tradicional, observado na população, sem danos à saúde); além de outras evidências abrangentes da literatura científica e de organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecida sobre as propriedades e características do produto (BRASIL, 1999).

Esses procedimentos visam proteger o consumidor de “propagandas enganosas”, que poderiam anunciar no rótulo uma alegação funcional e/ou de saúde não encontrada no alimento. Para auxiliar as indústrias na rotulagem e registro de alimentos funcionais, a ANVISA (2008) determinou uma lista com o tipo de alegação que o novo alimento/ingrediente pode apresentar (Tabela 2). Nessa lista, têm-se os FOS, inulina e lactulose que são prebióticos, e os probióticos, ambos utilizados para modular a microbiota intestinal, tanto do intestino delgado (probiótico) como do intestino grosso (prebiótico) (FERREIRA, 2003).

Tabela 2 - Exemplos de novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde, aprovadas pela ANVISA.

COMPONENTE	ALEGAÇÃO
ÔMEGA 3	“O consumo de ácidos graxos ômega 3 auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triacilgliceróis, desde que associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
LICOPENO	“O licopeno tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
FITOESTERÓIS	“Os fitoesteróis auxiliam na redução da absorção de colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
FIBRAS ALIMENTARES	“As fibras alimentares auxiliam o funcionamento do intestino. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
FRUTO-OLIGOSSACARÍDEO (FOS)	“Os fruto-oligossacarídeos contribuem para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
INULINA	“A inulina contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
LACTULOSE	“A lactulose auxilia o funcionamento do intestino. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.
PROBIÓTICOS	“O (indicar a espécie do micro-organismo) (probiótico) contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.

Fonte: adaptado de ANVISA (2008).

O sistema digestório dos mamíferos é formado por uma microbiota complexa que contém entre 500 a 1.000 espécies diferentes de micro-organismos. A microbiota intestinal humana tem sua composição alterada em indivíduos com doenças inflamatórias, sugerindo que determinadas espécies de bactérias são importantes na manutenção do balanço imunológico e da saúde (KELLY, KING e AMINOV, 2007; SHAH, 2007).

A microbiota intestinal está envolvida em várias funções fisiológicas, incluindo o desenvolvimento da barreira intestinal, produção de ácidos graxos de cadeia curta, transformação de ácidos biliares e síntese de vitaminas (BRUZZESE et al., 2006; GEIER, BUTLER e HOWARTH, 2007). O conhecimento da importância da microbiota intestinal na manutenção da saúde é um fator que tem estimulado o desenvolvimento de estudos para avaliar os benefícios do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano.

2.3. Prebióticos e probióticos como alimentos funcionais

Atualmente, encontra-se disponível no mercado prebióticos classificados como dissacarídeos (lactitol, lactulose, xilitol), oligossacarídeos (inulinas, fruto-oligossacarídeos, galacto-oligossacarídeos, oligossacarídeos da soja, xilo-oligossacarídeos) e amido resistente (FAO, 2007).

Gibson (2004) descreveu alguns critérios para que um ingrediente possa ser considerado prebiótico, tais como: i) deve ser resistente aos processos de digestão e absorção do hospedeiro; ii) deve ser fermentado pela microbiota que coloniza o sistema gastrointestinal e iii) deve estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de uma ou de um número limitado de bactérias dentro do sistema gastrointestinal, alterando a microbiota colônica em favor de uma composição mais saudável.

Os probióticos aprovados pela ANVISA (2008) são: *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus casei shirota*; *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*; *Lactobacillus casei variedade defens*; *Lactobacillus paracasei*; *Lactococcus lactis*; *Bifidobacterium bifidum*; *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*); *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium*.

Um probiótico deve possuir algumas características, como: i) não apresentar variação genética; ii) ser estável no alimento durante sua vida de prateleira; iii) apresentar resistência ao ambiente ácido do estômago e a sais biliares; iv) ter capacidade de proliferação, afinidade e sobrevivência nos intestinos; v) produzir metabólitos como ácidos e bacteriocinas, antagonistas a patógenos; vi) modular favoravelmente o sistema imune; vii) ser reconhecido como seguro, pertencendo a lista GRAS (Generally Recognized as Safe/GRAS) com mínima possibilidade de transferir resistência a antibióticos (GIBSON e FULLER, 2000).

Alguns mecanismos para a atuação benéfica dos probióticos foram propostos por Fuller (1989), como a supressão do número de células viáveis de patógenos por meio da produção de compostos com atividade antimicrobiana, a competição por nutrientes e a competição por sítios de adesão. As culturas probióticas podem alterar o metabolismo microbiano pelo aumento ou diminuição da atividade enzimática e estímulo da imunidade do hospedeiro.

Além desses alimentos funcionais, encontram-se também no mercado os simbióticos, que contêm ambos os componentes probiótico e prebiótico com benefício demonstrado à saúde humana. Os simbióticos podem aumentar a sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato digestório superior, pelo fato de seu substrato específico estar disponível para fermentação (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

2.4. Efeitos benéficos dos prebióticos, probióticos e simbióticos

Alguns benefícios à saúde têm sido descritos na literatura científica decorrente da ingestão de prebióticos, tais como: modulação de funções fisiológicas, aumento da absorção de minerais, especialmente o cálcio, modulação do metabolismo de lipídios e da composição da microbiota intestinal (ROBERFROID, 2002). Em relação às culturas probióticas, destacam-se os seguintes benefícios: melhora do metabolismo da lactose, estimulação do sistema imune, alívio da constipação, aumento da absorção de minerais e redução de diarreia (SHAH, 2007). Os efeitos relatados advêm de resultados de pesquisas com humanos e animais, e são sumarizados nas Tabelas 3 e 4. Observa-se que dentre os micro-organismos probióticos avaliados, destacam-se os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, e dentre os prebióticos, tem-se os FOS e inulina.

Tabela 3- Benefícios do consumo de prebiótico, probiótico e simbiótico: resumo de estudos clínicos.

Referência	Casuística	Prebiótico, probiótico e simbiótico avaliado	Resultados obtidos
Coudray et al. (1997)	Jovens saudáveis	Prebiótico (Inulina)	↑ Absorção aparente e balanço de Ca
Davidson et al. (1998)	Adultos hipercolesterolêmicos	Prebiótico (Inulina)	↓ Colesterol e LDL-c
Chen et al. (1999)	Adultos saudáveis	Probiótico (<i>B. bifidum</i>)	Modulação microbiota (↑ bifidobactérias e ↓ de coliformes)
Bouvier et al. (2001)	Adultos saudáveis	Probiótico (<i>B. animalis</i>) Prebiótico	Melhora do trânsito intestinal
Bouhnik et al. (2004)	Adultos saudáveis	Prebióticos (FOS, GOS*, etc.)	Efeito bifidogênico
Abrams et al. (2005)	Adolescentes	Prebiótico (Inulina)	↑ Absorção de Ca e melhora da mineralização óssea
Búrigo et al. (2007)	Adultos sob tratamento quimioterápico	Prebiótico (FOS)	Efeito bifidogênico
Arslanoglu, Moro e Boehm (2007)	Bebês (6 meses de vida)	Prebiótico (GOS e FOS)	↓ Infecções, especialmente a respiratória
Rafter et al. (2007)	Adultos com câncer de cólon	Simbiótico (<i>L. rhamnosus</i> , <i>B. lactis</i> e inulina)	Equilíbrio da microbiota e alteração favorável dos biomarcadores de câncer cólon
Chouraqui et al. (2008)	Recém-nascido	Probiótico e simbiótico	↓ Diarréia
Arslanoglu et al. (2008)	Bebês (2 anos)	Prebiótico (GOS e FOS)	↓ Manifestações alérgicas e infecções
Andrade e Borges (2009)	Adultos saudáveis e hiperlipidêmicos	Probiótico (<i>B. longum</i>)	↓ LDL-c plasmático
Wong et al. (2010)	Adultos hiperlipidêmicos	Prebiótico (inulina)	Melhora do perfil lipídico

FOS – fruto-oligossacarídeos; GOS – galacto-oligosacarídeos.

Tabela 4- Benefícios do consumo de prebiótico, probiótico e simbiótico: resumo de estudos com modelo animal.

Referência	Prebiótico, probiótico e simbiótico avaliado	Resultados obtidos
Levrat, Remesy e Demigne (1991)	Prebiótico (Inulina)	Efeito hipocolesterolemizante e ↑ absorção de Ca
Ohta et al. (1995)	Prebiótico (FOS)	↑ Absorção de Fe, Ca e Mg
Ohta et al. (1998)	Prebiótico (FOS)	↑ Absorção de Ca, Mg, Zn e Fe
Singh et al. (1997)	Probiótico (<i>B. longum</i>)	↓ Câncer de cólon
Trautwein, Rieckhoff e Erbersdobler (1998)	Prebiótico (Inulina)	↓ Colesterol e triacilgliceróis
Takahara et al. (2000)	Prebiótico (FOS)	↑ Absorção Ca e Mg e retenção nos ossos
Scholz-Ahrens e Schrezenmeir (2002)	Prebiótico (FOS)	↓ Perda óssea
Kruger et al. (2003)	Prebiótico (FOS + inulina)	↑ Absorção e retenção de Ca
McCarthy et al. (2003)	Probiótico (<i>L. salivarius</i> e <i>B. Infantis</i>)	↓ Citocinas pró-inflamatórias
Raschka e Daniel (2005)	Prebiótico (Inulina)	↑ Absorção e retenção de Ca, Mg e Zn nos ossos
Perez-Conesa et al. (2006)	Probiótico e simbiótico (bifidobactérias e/ou GOS)	↑ Biodisponibilidade de Ca, Mg e P
Peran et al. (2007)	Probiótico (<i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> e <i>B. lactis</i>)	Atividade anti-inflamatória
Lobo et al. (2009)	Prebiótico (FOS + Inulina)	↑ Absorção de Ca, Fe, Cu, Mg e Zn

FOS – fruto-oligosacarídeos; GOS – galacto-oligosacarídeos.

Trautwein, Rieckhoff e Erbersdobler (1998) utilizaram hamsters; McCarthy et al. (2003) camundongos e os demais estudos foram realizados com ratos.

Além das evidências científicas sobre os efeitos de prebióticos, probióticos e simbióticos apresentados nas Tabelas 3 e 4, Reddy (1998) demonstrou que a administração dietética de oligofrutose, inulina e *Bifidobacterium longum* inibiu a formação de lesões pré-neoplásicas no cólon e a

carcinogênese do cólon e/ou mamária em modelos animais. Segundo Gibson e Roberfroid (1995) a inulina e oligofrutosos estimulam seletivamente o crescimento de bifidobactérias, que são bactérias probióticas, e mantêm em baixas contagens Bacteróides, *Clostridium* e/ou coliformes contribuindo na redução do risco de câncer de cólon.

Tem sido reportado que o uso de prebiótico pode melhorar as funções metabólicas da microbiota intestinal pela inibição da colonização por patógenos nos tecidos do epitélio intestinal. Desta forma, esses carboidratos não digeríveis poderiam auxiliar na redução do risco de doenças inflamatórias do intestino, tais como doença de Crohn's e colite ulcerativa (GUARNER, 2005; BOSSCHER, LOO e FRANCK, 2006; GEIER, BUTLER e HOWARTH, 2007).

O consumo de prebiótico favorece o aumento na contagem de bifidobactérias (BOUHNİK et al., 2004; BÚRIGO et al., 2007), e por isso, são chamados de fatores bifidogênicos. A administração de FOS na dose de 8 g dia⁻¹ durante 4 semanas elevou a contagem de bifidobactérias nas fezes dos voluntários e também aumentou a excreção de colesterol no período do estudo (BOUHNİK et al., 2007).

Vários são os estudos que apresentam evidências positivas em relação ao consumo de prebióticos, probióticos e simbióticos (Tabelas 3 e 4). Contudo, alguns aspectos ainda permanecem obscuros e precisam ser esclarecidos, como por exemplo, a dose diária recomendada. Até o momento não há indicação de dose conforme o público alvo (crianças, jovens e idosos), relacionando-se com o efeito desejável. Outro ponto que deve ser melhor estudado é o período de consumo desses alimentos. Geralmente os resultados das pesquisas referem-se a períodos experimentais curtos (15 a 30 dias), sendo necessário então verificar se o benefício observado se mantém em períodos superiores a 30 dias.

2.5. Influência de prebiótico e probiótico na função hepática e no perfil de lipídios

O fígado desempenha um papel importante na homeostasia das proteínas, carboidratos e lipídios. As vias metabólicas da glicólise, ciclo de Krebs, da síntese e degradação dos aminoácidos e dos processos da fosforilação oxidativa, são todos realizados nos hepatócitos (GAW et al., 1999). Isso demonstra a importância da realização dos testes da função hepática, uma vez que esses fornecem indícios sobre a existência de lesão que poderia prejudicar o funcionamento do fígado.

Os indicadores da função hepática mais comumente avaliados são: albumina, proteína total e enzimas hepáticas (fosfatase alcalina, alanina aminotransferase-ALT e aspartato aminotransferase-AST). A albumina é uma proteína sintetizada no fígado, cuja concentração é utilizada como indicador da função hepática e do estado nutricional nos animais, sendo responsável por 35 a 50% do total de proteínas séricas; sua concentração pode ser modificada pela oferta de proteína na ração (KANEKO, HARVEY e BRUSS, 1997). Sua função é transportar ácidos graxos livres, aminoácidos, metais e bilirrubina, sendo que valores baixos sugerem consumo inadequado de proteínas (MEYER et al., 1995). As proteínas desempenham várias funções (transporte, tamponamento do pH, coagulação, etc.) e a maioria é sintetizada no fígado. A hiperproteinemia pode ocorrer em casos de desidratação e enfermidades crônicas como cirrose hepática. Casos de desnutrição, dietas pobres em proteínas ou má absorção pode levar a hipoproteinemia (MOTTA, 2003).

AST e ALT são enzimas intracelulares presentes em grandes quantidades no citoplasma dos hepatócitos e são liberadas quando ocorre lesões ou destruição das células hepáticas. São enzimas importantes que atuam na interconversão dos aminoácidos a piruvato ou a ácidos dicarboxílicos, desempenhando um importante papel no metabolismo dos aminoácidos e carboidratos. A fosfatase alcalina é uma enzima amplamente distribuída nos tecidos humanos, sendo que a forma predominante no soro em adultos normais origina-se principalmente do fígado e esqueleto. Desordens do trato biliar, hepatite viral e cirrose, pacientes com doenças ósseas caracterizadas pela

hiperatividade osteoblástica podem elevar a concentração desta enzima (MOTTA, 2003).

Poucos estudos com prebiótico e/ou probiótico avaliaram o efeito do consumo desses alimentos funcionais na função hepática. Dentre estes, tem-se a pesquisa de Azorín-Ortunõ et al. (2009) que investigaram o efeito da inulina com diferentes GP na concentração de proteínas totais, albumina, AST e ALT e constataram que em relação ao controle, não houve diferença significativa em nenhum dos parâmetros avaliados. Esses pesquisadores relataram que o consumo de inulina em baixa dosagem ($0,82 \text{ g dia}^{-1}$) pode dificultar a absorção de gordura em ratos e consequentemente reduzir a atividade da fosfatase alcalina, uma vez que esta enzima parece estar envolvida no transporte de triacilglicerídeos.

Além desse estudo, tem-se o de Genta et al. (2005) que avaliaram a toxicidade do yacon, alimento com elevado teor de FOS, durante 4 meses de consumo. Foi administrado aos animais farinha de yacon com 0,6% e 13% de FOS/peso corpóreo e verificou-se que não houve diferença significativa nas concentrações de proteínas totais, albumina, AST, ALT e fosfatase alcalina, comparado com o grupo controle.

A influência do prebiótico e/ou probiótico no perfil de lipídios tem sido avaliada em estudos com animais (VANHOOF e SCHRIJVER, 1995; DELZENNE e KOK, 1999;) e com humanos (BOUHNİK et al., 2007; ANDRADE e BORGES, 2009; WONG et al., 2010), uma vez que as doenças cardiovasculares estão relacionadas com desordens no metabolismo de lipídios.

O risco de doença cardiovascular (DCV) aumenta significativa e progressivamente quando as concentrações de colesterol total, triacilglicerídeos e LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) encontram-se elevados. Para o HDL-c (lipoproteína de alta densidade) a relação de risco é inversa, ou seja, quanto mais elevado seu valor, menor o risco de DCV, uma vez que esta lipoproteína está envolvida no transporte de colesterol dos tecidos para o fígado. A determinação do perfil de lipídios possibilita o cálculo das razões colesterol total/HDL-c e LDL-c/HDL-c e há uma forte associação epidemiológica entre esses índices e a prevalência de DCV (SANTOS, GUIMARAES e DIAMENT, 1999).

Até o momento, os estudos sobre o efeito hipocolesterolemizante de probióticos e prebióticos têm apresentado resultados controversos. Teshima (2001) verificou que não houve alteração na concentração de colesterol total ao administrar prebiótico na dose de 5% de FOS (Meiologo® P, Japão); probiótico (*Bifidobacterium breve*) e simbiótico para ratas durante 28 dias. Naruszewicz et al. (2002) constataram em estudo clínico que o consumo de 400 mL dia⁻¹ de um produto contendo *Lactobacillus plantarum* (5×10^7 UCF mL⁻¹) por 6 semanas promoveu redução na pressão sanguínea e na concentração de LDL-c.

Kim e Shim (1998) realizaram uma pesquisa com ratos Sprague-Dawley utilizando 1% e 5% de extrato aquoso de chicória e 5% de inulina (Sigma, extraído da chicória). Foram adicionados 0,2% de colesterol em todas as dietas e observou-se que não houve diferença significativa nas concentrações séricas de colesterol e triacilgliceróis entre os tratamentos e nem em relação ao controle. As concentrações de HDL-c foram significativamente maiores nos grupos tratados com extrato de chicória e inulina, e para LDL-c as concentrações obtidas foram menores que o controle, sendo o melhor resultado obtido com o grupo que recebeu inulina.

Há relatos que a administração da inulina (LEVRAT et al., 1991) e outras fibras solúveis (ANDERSON, JONES e RIDDELL-MASON, 1994) contribuem para reduzir as concentrações de colesterol. Levrat et al. (1991) adicionaram na dieta dos animais inulina nas doses de 5, 10 e 20% por 21 dias e verificaram um efeito hipocolesterolemizante em todos tratamentos, sendo este mais acentuado na dose de 20%. Em estudo de meta análise (1995-2005) com ensaios clínicos foi constatado que dietas com inulina e FOS reduziram as concentrações de triacilgliceróis (BRIGHENTI, 2007).

Embora o mecanismo de ação de probióticos e prebióticos na modulação do metabolismo de lipídios não esteja totalmente elucidado, algumas hipóteses têm sido propostas e são sumarizados na Figura 1.

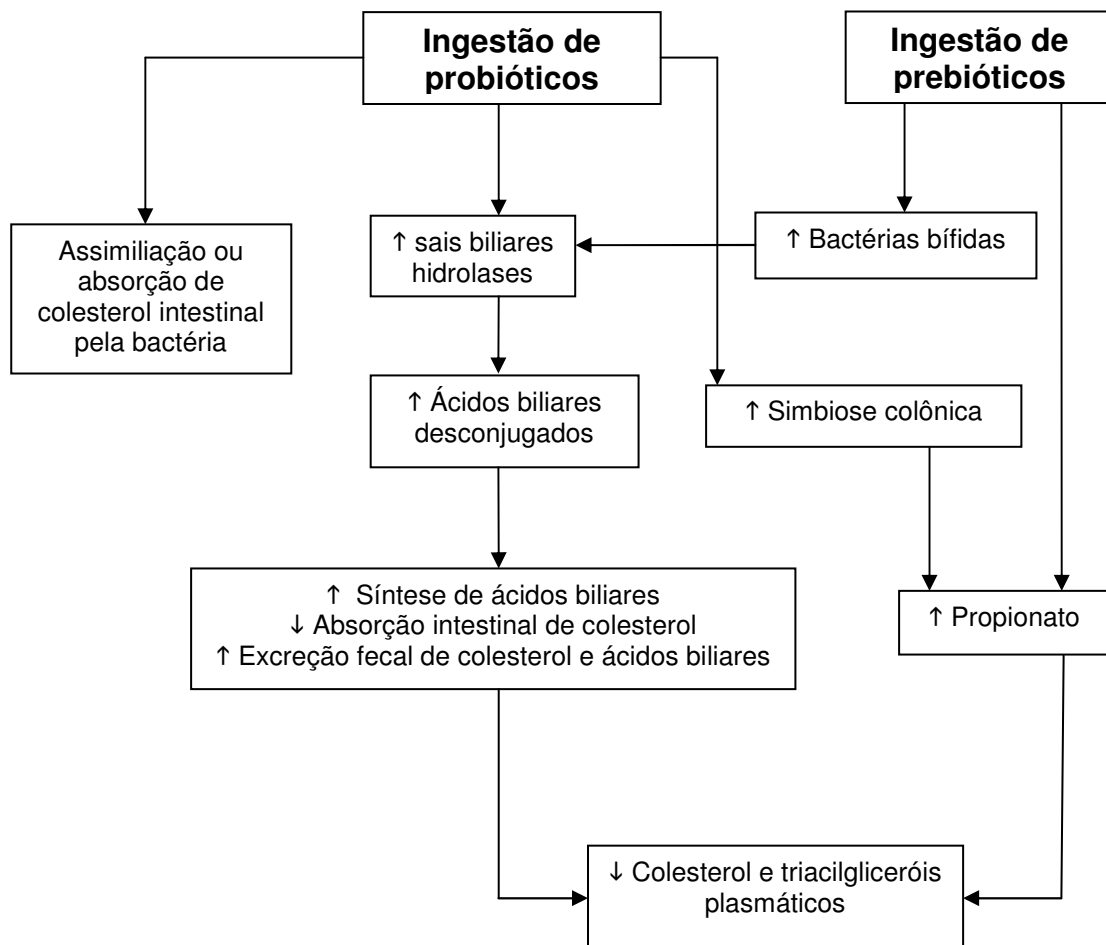


Figura 1 – Possíveis mecanismos de ação de probióticos e prebióticos sobre o metabolismo de lipídios. Fonte: SANTOS, FERREIRA e COSTA, 2003.

Alguns autores relataram que a capacidade da microbiota intestinal em desconjugar ácidos biliares, por meio da ação da enzima sais biliares hidrolases, pode influenciar a concentração do colesterol por dois mecanismos. No primeiro, os ácidos biliares desconjugados absorvem menor quantidade de lipídios do trato gastrointestinal, quando comparados aos ácidos conjugados, e também, poderiam induzir à precipitação do colesterol intestinal. Isso pode influenciar o nível de colesterol sanguíneo, visto que há redução na absorção de colesterol no intestino (KLAVER e VANDER MEER, 1993; TARANTO et al., 1997).

O segundo mecanismo está relacionado com a circulação enterohepática. A maior parte dos ácidos biliares é reabsorvida na porção do íleo terminal. Entretanto, se eles forem desconjugados por bactérias intestinais que convertem os ácidos biliares primários (cólico e quenodesoxicólico) em seus respectivos ácidos biliares secundários (desoxicólico e litocólico), esse reaproveitamento será reduzido, levando ao aumento da excreção desses ácidos. Consequentemente, para ocorrer a reposição dos ácidos biliares eliminados, haverá aumento no catabolismo do colesterol, levando a uma redução do colesterol endógeno (MURRAY et al., 1994).

As diferenças reportadas na literatura científica em relação ao efeito hipolipidemiante dos prebióticos e probióticos pode ser devido a uma série de fatores como: a adição de colesterol na dieta, o tipo de prebiótico e/ou probiótico utilizado, acréscimo ou não de ácido cólico, período experimental, via de administração e dose empregada. Todos esses parâmetros devem ser considerados ao se analisar os resultados encontrados nas diferentes pesquisas.

2.6. Prebióticos e probióticos na modulação de minerais

Alguns estudos apontam uma associação positiva entre o consumo de prebióticos e/ou probióticos e o aumento da absorção de minerais (OHTA et al., 1995; OHTA et al., 1998; SCHOLZ-AHRENS et al., 2001; PEREZ-CONESA et al., 2006). Os minerais desempenham um papel importante no organismo,

atuando na formação da estrutura óssea, como cofatores para enzimas e proteínas extracelulares envolvidas em várias atividades, tais como: contração muscular, transmissão nervosa, secreção glandular e divisão celular, sendo, portanto, fundamentais em todos os processos metabólicos (WEAVER e HEANEY, 2003). A deficiência de alguns minerais pode levar ao desenvolvimento de doenças graves como osteoporose e anemia ferropriva, que são consideradas problemas de saúde pública (RIZER, 2006; JORDÃO, BERNARDI e BARROS FILHO, 2009).

Os mecanismos prováveis que explicam o aumento da absorção de minerais devido ao consumo de prebiótico e/ou probiótico envolvem a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e a diminuição do pH intestinal, que favorece a solubilização de minerais (CAMPBELL; FAHEY e WOLF, 1997).

Segundo Ohta et al. (1998) os FOS estimulam a absorção de minerais não apenas pela via paracelular, mas também pela via transcelular. Uma das hipóteses levantadas sugere que o aumento de butirato de sódio, produzido a partir da fermentação luminal de FOS, poderia aumentar o número de receptores de calbindina. Essa proteína atua ligando-se ao Ca^{2+} na superfície do enterócito, e, portanto, é fundamental no processo de absorção deste mineral (COSTA, 2008). Além disso, a fermentação de carboidratos no ceco de animais é também acompanhada pelo alargamento dessa parte do intestino, o que pode incrementar a absorção intestinal pelo aumento da superfície absorptiva, em resposta a proliferação de células do cólon devido a produção de AGCC (YOUNES et al., 2001; WEAVER et al., 2010).

Assim como os prebióticos, os probióticos também podem melhorar e/ou manter a saúde óssea, devido à capacidade das culturas probióticas em sintetizar vitaminas (C, K e do complexo B) necessárias para o crescimento e formação da matriz óssea (ARUNACHALAM, 1999; CRITTENDEN, MARTINEZ e PLAYNE, 2003). Em sua pesquisa, Kim et al. (2009) demonstraram que a suplementação de *Lactobacillus casei* atenuou a perda óssea em ratos ovariectomizados. Além disso, tem sido relatado que a produção de poliaminas por micro-organismos probióticos favorece a absorção de minerais por estimular a proliferação celular, ampliando assim a superfície absorptiva (BONGERS e HEUVEL, 2003).

Os AGCC são os principais produtos originários da fermentação bacteriana de polissacarídeos, oligossacarídeos, entre outros substratos. São absorvidos rapidamente no ceco e cólon, sendo que somente 5% a 10% são excretados nas fezes. Dentre as diversas funções que eles desempenham tem-se: modulação do pH do colón e intracelular, modulação do volume celular, transporte de íons, regulação da proliferação, diferenciação e expressão gênica, além de ser nutriente para as células epiteliais do cólon e ceco, como ocorre com o butirato que é usado para a produção de energia. O aumento da produção de AGCC resulta na diminuição do pH, que influencia na composição da microbiota intestinal, reduz a solubilidade de ácidos biliares e favorece a absorção de minerais, pois o meio ácido promove o aumento da fração solúvel na forma ionizável de alguns minerais como cálcio, magnésio e fósforo (BONGERS e HEUVEL, 2003; HIJOVA e CHMELAROVA, 2007).

Os prebióticos são fermentados no cólon por bactérias endógenas levando à produção de AGCC como ácido acético, propiônico e butírico, sendo que o aumento destes ácidos graxos é dependente da dose de prebiótico administrado. A literatura reporta que o consumo de 10% de inulina promoveu aumento na concentração de AGCC no intestino grosso (SCHOLZ-AHRENS et al., 2001). Levrat, Remesy e Demigne (1991) administraram 5 a 10% de inulina a ratos e constataram que houve um aumento considerável na fermentação cecal e na concentração intraluminal de propionato ao se comparar com os animais que não receberam inulina na dieta. Campbell; Fahey e Wolf (1997) verificaram que ratos alimentados com dieta contendo 6% de FOS durante 14 dias tiveram maior concentração de butirato que o grupo controle. Há relatos de que o butirato pode estimular o aumento de calbindina no cólon. Além disso, ele é utilizado como fonte de energia pelas células epiteliais, o que contribui para a proliferação celular. Essa por sua vez, está relacionada com o aumento da superfície absorptiva, muitas vezes observada pelo tamanho do ceco que apresenta-se maior quando há fermentação dos carboidratos (BONGERS e HEUVEL, 2003).

A osteoporose é uma doença que tem acometido milhões de pessoas. Estima-se que a incidência anual mundial da fratura de quadril passará de 1,26 milhões em 1990 para 2,6 milhões em 2025 e para 4,5 milhões em 2050 (GULLBERG, JOHNNELL e KANIS, 1997). Isso, possivelmente, explica porque as

pesquisas sobre o efeito de prebiótico e probiótico na biodisponibilidade de minerais tem enfatizado o cálcio. Morohashi et al. (1998) constataram aumento significativo na absorção de cálcio em ratos alimentados com dietas suplementadas com 5% de FOS. Zafar et al. (2004) observaram que houve aumento da absorção intestinal de cálcio em ratos que consumiram frutanos e diminuição do *turnover* ósseo, pela supressão da reabsorção osteoclástica. Contudo, o efeito sobre a biodisponibilidade de outros minerais como o fósforo, magnésio, zinco e ferro também estão sendo avaliados (COUDRAY et al., 1997; WOLF, FIRKINS e ZHANG, 1998; PÉREZ-CONESA; LÓPEZ e ROS, 2007; LOBO et al., 2009). Estudos têm sido realizados visando descobrir novas fontes de alimentos com potencial prebiótico. Dentre esses alimentos, o yacon tem recebido destaque por apresentar um teor elevado de FOS (superior a 70%) em base seca (LACHMAN et al., 2004).

2.7 Yacon: características, propriedades funcionais e utilização na produção de alimentos processados

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é um tubérculo pertencente à família da *Asteraceae* originalmente cultivado nos Andes (Colômbia) e no norte-ocidental da Argentina. O tamanho da planta pode variar de 1,5 a 3,0 m de altura, apresentando um sistema de raiz composto de 4 a 20 tubérculos. (AYBAR et al., 2001; GRAEFE et al., 2004). O consumo desse vegetal está relacionado com benefícios para a população em geral, representando um novo produto a ser explorado e aplicado nos níveis social, agrícola, tecnológico e científico (SANTANA e CARDOSO, 2008).

Segundo Marangoni (2007) o yacon *in natura* possui 87,45% de água, 0,26% de proteínas, 0,10% de lipídios, 2,40% de fibras e 12,04% de carboidratos. Capito (2001) verificou uma elevada variação no teor de carboidratos no yacon *in natura* (1,58% a 4,11% de frutose; 0,31% a 1,24% de sacarose; 0,55% a 1,15% de glicose e 0,85% a 4,11% de frutanos). Os FOS estão presentes em grandes quantidades, constituindo aproximadamente de 70-80%, em base seca (LACHMAN et al., 2004), sendo esses de baixo GP (ASAMI

et al., 1989). A composição química do yacon é bastante variável, dependendo do período em que é colhido, da sazonalidade, clima, altitude, solo e o tratamento pós-colheita (GRAEFE et al., 2004).

Algumas características como facilidade de cultivo, manejo e adaptabilidade a diferentes tipos de condições climáticas tem despertado à atenção dos produtores e proporcionado a expansão do cultivo do yacon em diversas regiões do mundo como no Japão, Nova Zelândia, Filipinas, República Tcheca e inclusive no Brasil, podendo ser consumido cru e em saladas ou na forma industrializada (suco, chips desidratados, farinha, xaropes, etc.) (OJANSIVU, FERREIRA e SALMINEN, 2011).

O interesse mundial na produção do yacon, principalmente pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas, deve-se ao fato da raiz tuberosa ser considerada um alimento funcional por apresentar compostos bioativos (FOS e compostos fenólicos) que oferecem benefícios para o organismo (VANINI et al., 2009). A possibilidade de uso do yacon na redução do risco de doenças envolvidas com estresse oxidativo (VALENTOVA, SERSEN e ULRICHOVA, 2005) tem sido aventado com base no conteúdo expressivo de antioxidantes naturais, tais como o ácido clorogênico, caféico, ferúlico; e flavonóides como a quercetina (VALENTOVA et al., 2003; JAUREGUI et al., 2007).

A escassez de publicações que comprovem as suas propriedades funcionais e medicinais tem motivado a realização de diversos estudos *in vitro*, com modelo animal e com humanos para avaliar o efeito como hipoglicêmico (SILVA et al., 2006), antimicrobiano (JOUNG et al., 2010), anti-inflamatório (ARRUDA et al., 2007), anti-ulcerogênico (MAGON et al., 2007), na modulação do trânsito intestinal (GEYER et al., 2008) e da biodisponibilidade de minerais (LOBO et al., 2007), além do potencial como prebiótico (PEDRESCHI et al., 2003).

O elevado de água faz com que as raízes tuberosas tenham vida útil curta, em torno de 21 dias com armazenamento 4°C, e de 7 dias em temperatura ambiente (OLIVEIRA e NISHIMOTO, 2005). Por isso, pesquisas têm buscado o processamento dessa planta, como por exemplo, sua desidratação, não só aumentar a vida útil, mas também facilitar sua utilização na indústria de alimentos (VENTURA, 2001; MOSCATTO, PRUDÊNCIO-FERREIRA e HAULY, 2004; MOSCATTO et al., 2006; ROLIM, 2008). Neste sentido, a farinha de yacon

torna-se promissora como ingrediente funcional. *In natura*, o yacon apresenta 1,12% de FOS e na farinha a concentração pode atingir 19,43% de FOS (VASCONCELOS et al., 2010).

A Tabela 5 apresenta alguns estudos que desenvolveram produtos processados com yacon. Estas pesquisas verificaram que a incorporação do yacon na elaboração de alimentos melhora o valor nutritivo (aumento do teor de fibras), e também, algumas propriedades tecnológicas.

Tabela 5 – Produtos alimentícios à base de yacon.

Referência	Alimento produzido	Forma de utilização do yacon
Silva (2004)	Bebida funcional	Raiz tuberosa
Marangoni (2007)	Biscoito, bolo e snaks	Farinha
Maldonado e Singh (2008)	Doce tipo pão	Raiz tuberosa
Dzazio et al. (2007)	Pão integral	Raiz tuberosa
Prati et al. (2009)	Geléia	Raiz tuberosa
Granato et al. (2009)	Doce dietético	Raiz tuberosa
Rosa et al. (2009)	Bolo	Farinha
Silveira (2009)	Bebida fermentada	Extrato
Padilha et al. (2010)	Bolo de chocolate	Farinha
Rolim et al. (2010)	Pães	Farinha
Lago (2010)	Suco concentrado	Raiz tuberosa

A adição da farinha de yacon no bolo de chocolate contribuiu para melhorar a maciez, aroma, gosto doce e sabor (PADILHA et al., 2010). Segundo Dzazio et al. (2007) a avaliação sensorial do pão integral à base de yacon apresentou boa aceitação, com índice de até 74%. Portanto, esses resultados indicam que o consumo de yacon deve ser incentivado devido ao seu baixo valor calórico e alto teor de fibras.

2.8. Importância do cálcio, fósforo e magnésio na manutenção da saúde óssea

A osteoporose é uma doença caracterizada pela diminuição da densidade mineral óssea (DMO), com deterioração microestrutural do tecido ósseo, levando a uma maior fragilidade e consequentemente, ao aumento no risco de fraturas (NETO et al., 2002). Outras doenças do tecido ósseo são importantes, mas a osteoporose tem chamado à atenção dos pesquisadores por ser um problema de saúde pública (PINHEIRO et al., 2009). Estima-se que a incidência anual mundial da fratura de quadril passará de 1,26 milhões em 1990 para 2,6 milhões em 2025 (GULLBERG, JOHNELL e KANIS, 1997).

O osso é constituído por uma matriz protéica que apresenta colágeno tipo I e proteínas não colagenosas, e principalmente por material inorgânico (95% a 98%). O mineral ósseo é uma hidroxiapatita composta por 37% a 40% de cálcio, 50% a 58% de fosfato e 2% a 8% de carbonato. Contém também, magnésio e outros íons em menor quantidade (HEANEY, 2003).

O tecido ósseo está em constante remodelamento pelos processos de reabsorção e formação. A massa óssea depende do balanço entre estes dois processos, sendo que as células responsáveis pela reabsorção são os osteoclastos e a formação é mediada pelos osteoblastos. O remodelamento ósseo é fundamental para a manutenção do tamanho normal do esqueleto, da força óssea e da reparação dos ossos danificados (SWAMINATHAN, 2001; VILLIERS, 2009).

O crescimento e manutenção do tecido ósseo dependem de fatores genéticos e ambientais. A hereditariedade contribui com cerca de 60% a 70% da expressão fenotípica da DMO. Por outro lado, fatores ambientais como dieta e estilo de vida contribuem com 30% a 40% da DMO (BUZINARO, ALMEIDA e MAZETO, 2006). A ingestão adequada dos minerais (cálcio, fósforo e magnésio) que constituem a matriz inorgânica do osso é importante para manutenção da saúde óssea. Torna-se então, necessário conhecer as vias metabólicas e a forma como eles são absorvidos pelo organismo.

Além do papel estrutural, esses minerais desempenham uma série de outras funções essenciais para o bom funcionamento do corpo. O cálcio atua

como mensageiro intracelular e cofator para enzimas e proteínas extracelulares envolvidas em diversos processos: movimento celular, contração muscular, transmissão nervosa, secreção glandular e divisão celular (WEAVER e HEANEY, 2003). Já o fósforo é um mineral essencial em todas as células por ser componente dos fosfolipídios, de vários compostos fosforilados como adenosina trifosfato, creatina fosfato, dentre outros. É também responsável pela atividade de diversas enzimas e hormônios que dependem da fosforilação para sua ativação e de vital importância para a regulação ácido-básica.

O conteúdo normal de magnésio no organismo é de aproximadamente 22,6 g, sendo que cerca de 50% a 60% está localizado no osso. Esse mineral é o principal cátion divalente da célula e segundo o Institute of Medicine (IOM) a recomendação da ingestão diária para adultos com idade acima de 31 anos é de 420 mg dia⁻¹ para homens, e de 320 mg dia⁻¹ para mulheres (IOM, 1997). O magnésio atua como cofator de diversas enzimas (especialmente aquelas relacionadas com o metabolismo dos carboidratos) e, portanto, é importante em uma série de processos metabólicos como replicação e transcrição do DNA, tradução do mRNA, no funcionamento de bombas iônicas, etc. (MUSSO, 2009).

O processo de absorção do cálcio ocorre por duas vias: transporte transcelular (via ativa) e transporte paracelular (via passiva). O transporte transcelular ativo ocorre na porção proximal do duodeno e é dependente de vitamina D e da proteína ligante de cálcio, calbindina. O transporte paracelular corresponde à difusão simples ou facilitada e ocorre a favor do gradiente de concentração entre as estreitas junções dos enterócitos. Essa é a principal forma de absorção quando o consumo de cálcio é adequado ou alto, contudo, cerca de 11% da absorção pode ocorrer no colón pela via paracelular ou transporte ativo (COSTA e MARTINO, 2011).

A absorção do fósforo ocorre em toda a extensão do intestino delgado e está sob controle da vitamina D e de transportadores de fosfatos específicos (KNOCHEL, 2003). Seu transporte é realizado através da parede intestinal e se dá por um mecanismo ativo, dependente de sódio. A absorção intestinal de fósforo representa a soma do componente saturável, mediado por carreador e não saturável, que é dependente da concentração. Como o nível de fósforo intracelular é relativamente alto e o interior da célula é eletronegativo, é provável que um transporte ativo seja necessário para levar o fósforo para dentro da

célula, entretanto, a saída de fósforo da célula se dá por difusão (COSTA e MARTINO, 2011).

A maioria dos estudos indica que a absorção do magnésio ocorre no intestino delgado. Há evidências de que o processo se dá por transporte transcelular saturável quando a ingestão é baixa. Em doses habituais, a absorção ocorre principalmente por mecanismo de difusão (COUDRAY, DEMIGNE e RAYSSIGUIER, 2003).

Uma das maneiras de prevenir a osteoporose é pelo aumento da massa óssea na infância e na adolescência. A massa óssea adequada para cada indivíduo está associada a uma boa nutrição, que deve ser constituída de uma dieta balanceada e com ingestão adequada de minerais (NETO et al., 2002). Além do consumo adequado, é importante que os minerais estejam biodisponíveis para serem utilizados pelo organismo. Com isso, novos estudos estão sendo realizados para investigar a biodisponibilidade dos alimentos e também, para verificar quais outros fatores poderiam melhorar a absorção dos minerais.

2.9. Influência do cálcio no perfil de lipídios

O cálcio é um nutriente essencial requerido para o desenvolvimento de diversas funções biológicas como coagulação sanguínea, formação do esqueleto, contração muscular, mitose e condução de impulsos nervosos. A ingestão inadequada desse nutriente tem sido considerada um problema de saúde pública e está associada a várias doenças como osteoporose, hipertensão, câncer de cólon, câncer de mama, dentre outras. Para reduzir o risco do desenvolvimento dessas doenças crônicas não transmissíveis, tem-se recomendado o aumento da ingestão de cálcio para 1000 mg dia⁻¹, para adultos com idade acima de 30 anos (IOM, 1997).

Estudos experimentais e clínicos sobre a influência do cálcio dietético no perfil de lipídios têm apresentado resultados contraditórios. Alguns reportaram que o cálcio promove alterações favoráveis nas concentrações de lipídios e lipoproteínas plasmáticas, e assim contribui para reduzir a incidência de doenças

cardíacas (FLEISCHMAN et al.; 1966; KROMHOUT et al., 1985; MA et al.; 2011), enquanto que outros estudos relataram não encontrar efeito benéfico da ingestão de cálcio na redução de lipídios (BOSTICK et al., 2000; BOLLAND et al., 2010; SMILOWITZ et al., 2011).

Segundo American Institute of Nutrition, em dietas purificadas, a recomendação de cálcio para roedores é de 5 g kg⁻¹ de dieta (REEVES, NIELSEN e FAHEY, 1993). Ma et al. (2011) administraram dietas contendo 0, 2, 6 e 8 g de cálcio kg⁻¹ para verificar o efeito de doses baixas a elevadas em hamsters e constataram que houve redução na concentração de colesterol total e triacilgliceróis em função do aumento da dose de cálcio.

Hsu e Culley (2006) demonstraram que coelhos tratados com dieta depletada em 50% de cálcio tiveram aumento de 57% na concentração de colesterol total, enquanto que a suplementação de cálcio inibiu a calcificação na aorta e aterosclerose.

O efeito da concentração de cálcio dietético foi investigado por Malekzadeh et al. (2007) em modelo animal. Foi constatado que ratos que receberam na dieta baixo teor de cálcio (0,2%), teor moderado (0,5%) e teor alto (1,2%) por 10 semanas não tiveram alterações nas concentrações de triacilgliceróis e HDL-c, no entanto o colesterol total e LDL-c foi significativamente menor no grupo que consumiu a maior dose de cálcio na dieta.

Os mecanismos que explicam como o cálcio dietético modula o metabolismo de lipídios ainda não estão totalmente esclarecidos. Segundo Zemel (2004), o aumento da concentração de cálcio intracelular parece promover acúmulo de triacilgliceróis nos adipócitos, exercendo um controle coordenado sobre a lipogênese e lipólise.

O aumento de cálcio na dieta resulta na diminuição da concentração de cálcio intracelular, que por sua vez aumenta a lipólise. Por outro lado, a baixa ingestão de cálcio estimula o aumento nos níveis de hormônio da paratireóide e de 1,25-dihidroxi vitamina D na corrente sanguínea, que poderia levar ao aumento nos níveis de cálcio intracelular nos adipócitos, estimulando a lipogênese e inibindo a lipólise (ZEMEL 2004; SCHAGER, 2005).

O cálcio atua como cofator enzimático para muitas enzimas, dentre elas tem-se as dessaturases, que catalizam reações envolvidas na síntese de ácidos

graxos. Marra e Alaniz (2000) constataram inibição na atividade dessas enzimas em ratos que consumiram dieta deficiente em cálcio ($0,5 \text{ g kg}^{-1}$ de dieta). Fleischman et al. (1966) relataram que o aumento do consumo de cálcio na dieta pode promover redução de colesterol via excreção de ácidos biliares. O cálcio é capaz de se ligar aos ácidos biliares formando sabões insolúveis, no entanto, o sítio de ligação e a forma como ocorre ainda não são conhecidos. Os resultados controversos obtidos nos estudos descritos na literatura científica apontam a necessidade de novas pesquisas para elucidar o efeito da concentração (seja da restrição ou suplementação) dietética do cálcio no perfil de lipídios.

3. HIPÓTESES E OBJETIVOS DO ESTUDO

3.1. Hipóteses

- i) O consumo da farinha de yacon nas doses indicadas (4% ou 8% de FOS) contribui para aumentar a concentração de minerais nos ossos e melhorar a resistência óssea dos animais;
- ii) O consumo da farinha de yacon nas doses indicadas (4% ou 8% de FOS) não causa efeito hepatotóxico;
- iii) O consumo da farinha de yacon e do probiótico (*Bifidobacterium longum*) modula a microbiota intestinal e contribui para melhorar as propriedades ósseas dos animais.

3.2. Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo foi avaliar o efeito da farinha de yacon na modulação das propriedades biomecânicas e na concentração de minerais nos ossos em modelo animal.

3.3. Objetivos específicos

- ✓ Elaborar a farinha a partir da raiz do yacon, determinar seu rendimento e caracterizar a composição química;
- ✓ Avaliar o efeito da farinha de yacon na saúde óssea dos animais;
- ✓ Verificar os possíveis efeitos hepatotóxicos da farinha de yacon em ratos;
- ✓ Avaliar o efeito da farinha de yacon na modulação da microbiota cecal dos animais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento Experimental

Esta pesquisa foi desenvolvida conforme ilustrado pela Figura 1. A primeira etapa constitui do processamento da farinha (estudo I) e foi realizada na fábrica piloto do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa/UFV, MG. As análises da composição química foram realizadas no Departamento de Nutrição e Saúde da UFV/MG e as análises dos teores de carboidratos solúveis e FOS foram realizadas no CERAT – Centro de Raízes e Amidos Tropicais, Botucatu-SP, Brasil. A segunda etapa constitui da realização dos ensaios biológicos com ratos Wistar (estudos II e III), realizados no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV/MG.

O ensaio biológico do estudo II foi delineado segundo um esquema fatorial (2x3), correspondente à combinação de dois níveis de cálcio (100% ou 75% da recomendação) e três níveis de FOS (0%, 4% e 8%) da farinha de yacon. Os tratamentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizados, em 6 grupos experimentais com 8 repetições, nos quais os animais foram alocados de forma que as médias iniciais de peso entre os grupos fossem as mais próximas possíveis.

Para realização do ensaio biológico do estudo III os tratamentos foram delineados inteiramente ao acaso em 4 grupos experimentais com 8 repetições, nos quais os animais foram alocados de forma que as médias iniciais de peso entre os grupos fossem as mais próximas possíveis.

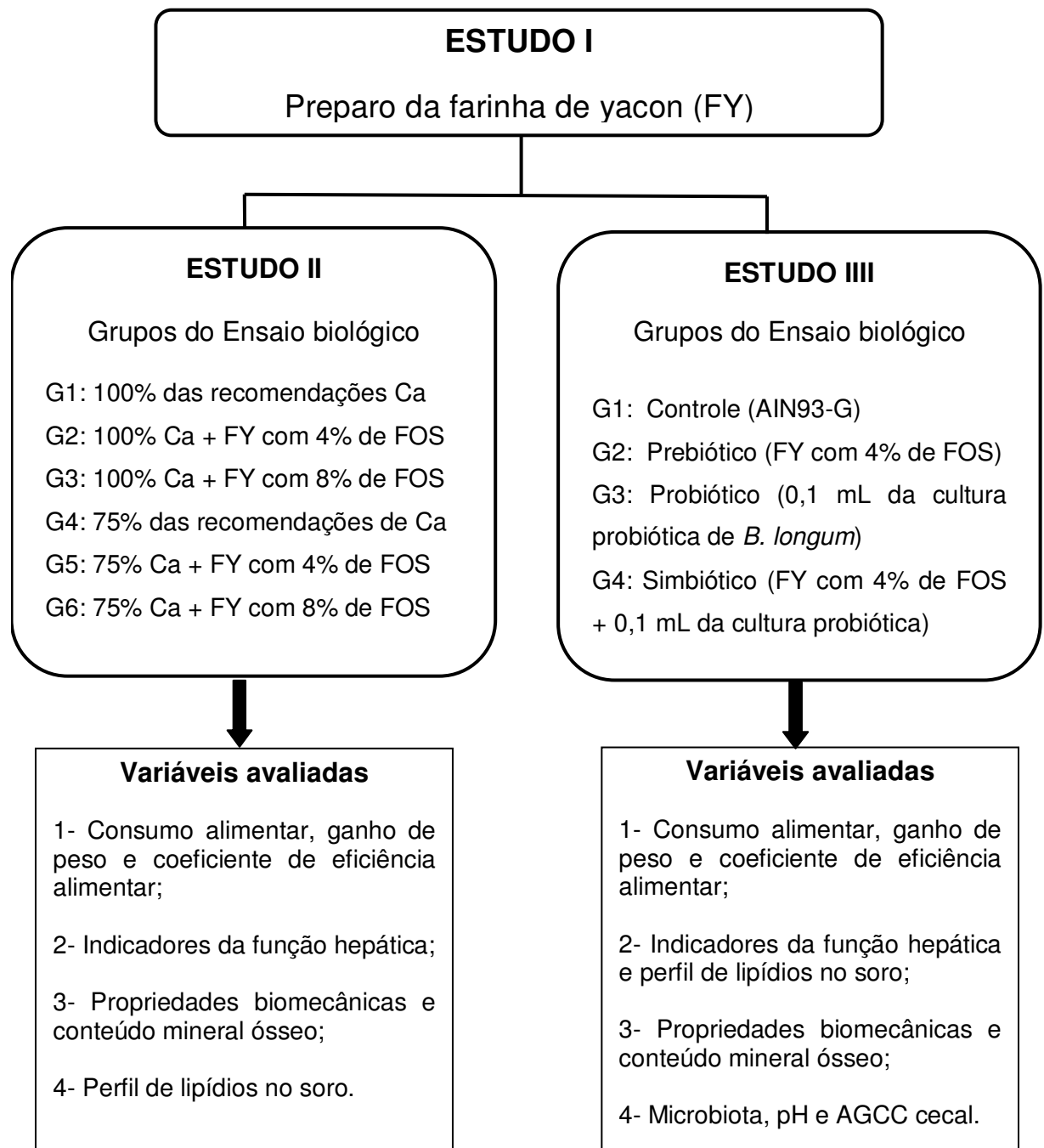


Figura 2 – Delineamento experimental dos ensaios biológicos com ratos Wistar.

4.2. Protocolo de elaboração da farinha de yacon (estudo I)

O yacon foi adquirido no mercado local da cidade de Viçosa-MG, no mês de agosto. As raízes foram selecionadas, pesadas e submetidas ao processo de elaboração da farinha conforme a metodologia de Marangoni (2007), com adaptações. Após lavagem e sanitização em água clorada, o descascamento foi realizado com descascador de vegetais e em seguida, iniciou-se o tratamento com solução de citrato de sódio 0,5% por 15 minutos. Depois de triturar no multiprocessador (Walita-RI7625), o yacon foi imerso em uma solução de bissulfito de sódio 0,5% por 15 minutos. O citrato e bissulfito foram utilizados para inibir a ação de enzimas que causam o escurecimento de vegetais. Após esse procedimento, o líquido foi drenado com auxílio de um escorredor e a secagem foi realizada a 55°C por 48 horas em um secador de circulação de ar (Polidryer-DP, Viçosa, Brasil) com capacidade média para 60 kg de produto.

A produção ocorreu em duas bateladas, sendo utilizado no total 115,5 kg de yacon *in natura*. Ao final do processo de secagem, o material desidratado foi triturado em moedor do tipo cutter e depois em multiprocessador (Arno-PRC, São Paulo, Brasil). A farinha foi peneirada obtendo-se a granulometria máxima de 425 µm em peneira de 40 mesh (Abronzinox-PGB 97891, São Paulo, Brasil). Pesou-se a quantidade de farinha obtida para cálculo do percentual de rendimento, sendo $\% \text{ Rendimento} = (\text{massa da farinha} \times 100) / \text{peso líquido}$. A farinha foi embalada em sacos plásticos de 2 a 5 kg que foram vedados e armazenados sob refrigeração a temperatura de 10°C até o momento do preparo das dietas experimentais.

4.2.1. Análises físico-químicas da farinha de yacon

As farinhas obtidas foram homogeneizadas e retirou-se uma amostra para realização das análises físico-químicas, conforme metodologias indicadas pela AOAC (2002). A umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa a

105°C até peso constante, a proteína pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25; os lipídios totais foram analisados pelo método de extração com éter etílico em equipamento Soxhlet e o teor de cinzas (resíduo mineral fixo) pelo método de incineração em mufla a 550°C. As fibras solúveis e insolúveis foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico da AOAC (2002), utilizando-se kit dietary fiber total (Sigma). Os carboidratos não digeríveis foram calculados pelo somatório da fração de fibra solúvel, insolúvel e FOS. O valor calórico foi calculado pela soma das calorias fornecidas pelas proteínas, lipídios e carboidratos totais, descontando os carboidratos não digeríveis, utilizando-se os fatores de conversão 4 kcal g⁻¹, 9 kcal g⁻¹ e 4 kcal g⁻¹, respectivamente (BRASIL, 2003).

Os teores dos minerais (cálcio, fósforo e magnésio) foram determinados por espectrofotometria de emissão de plasma (Perkin Elmer-Optima 3300 DV, Norwalk, USA), com limite de detecção de 0,02 ppb para cálcio; 0,1 ppb para magnésio e 30 ppb para fósforo. O preparo da amostra foi realizado conforme metodologia da AOAC (2002). Após pesagem de 1 g da amostra em tubo de ensaio, iniciou-se o processo de digestão em ácido nítrico concentrado por 16 horas. O conteúdo do tubo, uma vez resfriado a temperatura ambiente, foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água deionizada e procedeu-se a determinação dos minerais no espectrofotômetro.

Oligofrutanos (FOS) e os açúcares (glicose, frutose e sacarose) foram determinados por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) em cromatógrafo (Varian, Pro-Star 410), com duas bombas binárias, e injetor automático (auto sampler 410), detector IR (índice de refração) e água deionizada ultrapura (Milli-Q) na fase móvel, seguindo-se metodologia descrita por Kaneko, Kudo e Horikoshi (1990). Utilizou-se coluna HPX 87P (BIO-RAD), fase estacionária de chumbo, com temperatura da coluna a 85°C e fluxo de 0,6 mL min⁻¹. Os padrões utilizados foram frutose (Sigma), glicose e sacarose (Acros Organics); FOS comercial (85% de pureza). Para o preparo da amostra pesou-se 1g e diluiu-se em 100 mL de água destilada. Realizou-se a centrifugação a 12000 rpm por 10 minutos e filtração em membrana de decafluoreto de polivinil (PVDF) da Milli Pore com 0,22 µm de porosidade e 13 mm de diâmetro, e em seguida, a amostra foi injetada no cromatógrafo. A identificação de cada açúcar

foi realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos para os padrões e para a amostra, analisados sob as mesmas condições cromatográficas. Para a quantificação dos compostos utilizou-se curvas analíticas construídas a partir de concentrações crescentes de soluções padrões para cada açúcar e para os FOS. A equação linear obtida para cada padrão foi utilizada para quantificar o conteúdo dos açúcares e FOS na amostra.

Os resultados da composição centesimal e minerais (cálcio, fósforo e magnésio) foram expressos como média de três replicatas, e fibra como média de duas replicatas. De acordo com o conteúdo dos minerais encontrados a farinha foi classificada como fonte de cada um, segundo os critérios da Portaria nº 27/1998 da ANVISA que estabelece que um alimento é fonte de um determinado nutriente se apresentar no mínimo 15% do valor da ingestão diária recomendada (IDR) (BRASIL, 1998).

4.3. Animais utilizados nos ensaios biológicos dos estudos II e III

Para realização dos ensaios biológicos foram utilizados ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*) da linhagem Wistar, com peso corporal inicial entre 108 a 111 g, obtidos do Biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa/UFV, MG. Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da UFV/MG (processo nº 18/211).

No Laboratório de Nutrição Experimental/UFV os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em condições de temperatura controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa cerca de 60% e fotoperíodo controlado em ciclos de 12 horas de claridade e 12 horas de escuridão, recebendo água deionizada *ad libitum* e as dietas experimentais com base na AIN-93G (REEVES, NIELSEN e FAHEY, 1993) suplementadas ou não com farinha de yacon durante o período experimental de 28 dias.

4.4. Descrição do estudo II

Os animais foram distribuídos em 6 grupos experimentais (n=8) e após o período de adaptação de uma semana as dietas testes, com dois níveis de cálcio (100% e 75% das recomendações) e três níveis de FOS farinha de yacon (0%, 4% e 8%), foram fornecidas por um período de 28 dias da seguinte forma:

Grupo 1 - 100% de cálcio

Grupo 2 - 100% de cálcio + farinha de yacon (FY) com 4% de FOS

Grupo 3 - 100% de cálcio + FY com 8% de FOS

Grupo 4 - 75% de cálcio

Grupo 5 - 75% de cálcio + FY com 4% de FOS

Grupo 6 - 75% de cálcio + FY com 8% de FOS

Para o preparo das dietas experimentais o conteúdo de proteína, fibra alimentar, carboidratos e lipídios fornecidos pela farinha de yacon foram calculados para balancear os ingredientes provenientes da dieta AIN-93G (REEVES, NIELSEN e FAHEY, 1993) (Tabela 6). As dietas foram devidamente ajustadas para fornecerem 100% ou 75% da recomendação de cálcio para os animais, procedentes do carbonato de cálcio ($\text{CaCO}_3 = 400 \text{ mg Ca g}^{-1}$; Rhoster, Aroçoiaba da Serra, São Paulo). A farinha de yacon foi incorporada de modo a fornecer 4% (15,6 g) e 8% (31,2 g) de FOS da farinha de yacon em 100 g de dieta (Tabela 6).

Tabela 6 – Composição das dietas experimentais (g 100g⁻¹) do estudo II.

Ingredientes	100 % Ca ¹			75 % Ca ²		
	0 % FOS	4 % FOS	8 % FOS	0 % FOS	4 % FOS	8 % FOS
Albumina ³	20	20	20	20	20	20
Amido dextrinizado ⁴	13,2	13,2	8,86	13,2	13,2	8,86
Sacarose ⁵	10	2,83	---	10	2,83	---
Óleo de soja ⁶	7	7	7	7	7	7
Fibra (celulose microfina) ⁷	8	4	0	8	4	0
Mistura de minerais sem cálcio ⁸	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura de vitaminas ⁹	1	1	1	1	1	1
L-cistina ¹⁰	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Bitartarato de colina ¹¹	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Amido de milho ¹²	35,5	31,09	26,68	35,81	31,4	26,99
Farinha de yacon (FOS) ¹³	---	15,6	31,2	---	15,6	31,2
Cálcio (CaCO ₃) ¹⁴	1,25	1,25	1,25	0,94	0,94	0,94
Densidade calórica (kcal g ⁻¹)	3,5	3,4	3,3	3,5	3,4	3,3

1- Dieta AIN-93G modificada (100% das recomendações de cálcio).

2- Dieta AIN-93G modificada (75% das recomendações de cálcio).

Marca/Fornecedor:

3,4 - Maximum/ARVE – Viçosa/MG - Brasil. 5 - Açúcar União/Comércio de Viçosa. 6 – SOYA/Comércio de Viçosa. 7,8,9,10,11,14 – Rhoster/Rhoster- Indústria e Comércio Ltda. 12 –Anchieta/Comércio de Viçosa. 13 - Fábrica piloto de processamento de alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos - UFV/MG-Brasil.

Os ingredientes foram pesados individualmente em balança semi-analítica (Gehaka-BG2000, São Paulo, Brasil) e misturados manualmente em vasilhames plásticos previamente lavados e enxaguados com água deionizada. Seguiu-se a homogeneização em batedeira semi-industrial, capacidade para 2,5 kg (Lieme, Caxias do Sul, Brasil), por aproximadamente 15 minutos. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno de 2 kg devidamente identificados, datados e armazenados a 10°C.

Ao final do estudo, os animais foram submetidos à eutanásia em câmara com CO₂. Todos os procedimentos foram descritos posteriormente, sendo que neste ensaio biológico foram avaliados os indicadores da função hepática (proteínas totais, albumina, alanina aminotransferase-ALT e aspartato aminotransferase-AST); perfil de lipídios (triacigliceróis, colesterol total e frações); propriedades biomecânicas ósseas (comprimento, espessura e força de fratura); peso do fêmur; conteúdo de minerais ósseos (cálcio, fósforo e magnésio) e peso da tíbia.

4.5. Descrição do estudo III

Neste estudo, optou-se por testar a farinha de yacon com 4% de FOS (15,6 g de farinha) para investigar se em associação com um probiótico poderia ocorrer uma melhora na saúde óssea dos animais, uma vez que o ensaio biológico II demonstrou que não houve diferença significativa entre a administração da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS na retenção de minerais e nas propriedades biomecânicas ósseas (comprimento, espessura e força de fratura). Para tanto, os ratos Wistar foram distribuídos em 4 grupos experimentais (n=8) da seguinte forma:

Grupo 1 - Controle (dieta padrão AIN-93G);

Grupo 2 - Prebiótico (farinha de yacon com 4% de FOS);

Grupo 3 - Probiótico (0,1 mL do concentrado celular de *Bifidobacterium longum* ATCC 15707);

Grupo 4 - Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + 0,1 mL do concentrado celular de *Bifidobacterium longum* ATCC 15707).

Para o preparo das dietas experimentais o conteúdo de proteína, fibra alimentar, carboidratos e lipídios fornecidos pela farinha de yacon foram calculados para balancear os ingredientes provenientes da dieta AIN-93G, (Tabela 7). O carbonato de cálcio ($\text{CaCO}_3 = 400 \text{ mg Ca g}^{-1}$; Rhoster, Aroçoiaba da Serra, São Paulo) foi adicionado de forma a suprir 100% das recomendações de cálcio para animais em fase de crescimento (REEVES, NIELSEN e FAHEY, 1993).

Tabela 7 – Composição das dietas experimentais (g 100g⁻¹) do estudo III.

Ingredientes	Controle¹	Prebiótico²	Probiótico³	Simbiótico⁴
Albumina ⁵	20	20	20	20
Amido dextrinizado ⁶	13,2	13,2	13,2	13,2
Sacarose ⁷	10	2,83	10	2,83
Óleo de soja ⁸	7	7	7	7
Fibra (celulose microfina) ⁹	8	4	8	4
Mistura de minerais sem cálcio ¹⁰	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura de vitaminas ¹¹	1	1	1	1
L-cistina ¹²	0,3	0,3	0,3	0,3
Bitartarato de colina ¹³	0,25	0,25	0,25	0,25
Amido de milho ¹⁴	35,5	31,09	35,5	31,09
Farinha de yacon (FOS) ¹⁵	---	15,6	---	15,6
Cálcio (CaCO ₃) ¹⁶	1,25	1,25	1,25	1,25
Bactérias bifidas ¹⁶	---	----	0,1 mL	0,1 mL
Água deionizada	0,1 mL	0,1 mL	---	----
Densidade calórica (kcal g ⁻¹)	3,5	3,4	3,5	3,4

1- Controle: dieta AIN93-G.

2- Prebiótico (farinha de yacon com 4% de FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707).

4- Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + 0,1 mL do concentrado celular de *B. longum*).

Marca/Fornecedor:

5,6 - Maximum/ARVE - Viçosa/MG - Brasil. 7 - Açúcar União/Comércio de Viçosa. 8 - SOYA/Comércio de Viçosa. 9,10,11,12,13 - Rhoster/Rhoster- Indústria e Comércio Ltda. 14 - Anchieta/Comércio de Viçosa. 15 - Fábrica piloto de processamento de alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos - UFV/MG-Brasil. 16 - Banco de Culturas Láticas do Bioagro/UFV.

Os ingredientes foram pesados individualmente em balança semi-analítica (Gehaka-BG2000, São Paulo, Brasil) e foram misturados manualmente em vasilhames plásticos previamente lavados e enxaguados com água deionizada. Seguiu-se a homogeneização em batedeira semi-industrial, capacidade para 2,5 kg (Lieme, Caxias do Sul, Brasil), por aproximadamente 15 minutos. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno de 2 kg devidamente identificados, datados e armazenados a 10°C.

A cultura de *Bifidobacterium longum* (American Type Culture Collection - ATCC 15707, Rockville, USA) foi obtida de repicagem de cultura depositada na UFVCC (Coleção de Culturas da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil). Após descongelamento a temperatura ambiente, procedeu-se a ativação (1%) por três vezes consecutivas em caldo MRS (De Mann, Rogosa e Sharpe, Difco, Detroit, USA) modificado (ágar 0,075%, carbonato de sódio 0,02% e cloreto de cálcio dihidratado 0,01% e 1% de solução 0,05% de L-cisteína.HCl). A solução de cisteína foi esterilizada separadamente utilizando-se membrana filtrante com poros de 0,45 µm (Millipore, Billerica, USA) e adicionada assepticamente (1%) ao caldo MRS modificado esterilizado a 121°C por 15 minutos. A cultura foi incubada a 37°C por 18-24 horas em jarras de anaerobiose (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA).

Para produção do concentrado celular inoculou-se 2% da cultura ativa em 500 mL do caldo MRS modificado e o período de incubação foi de 18-24 horas a 37°C em jarras de anaerobiose (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA). Após o crescimento celular, o material foi distribuído em tubos esterilizados de centrífuga de prolipropileno, seguindo-se centrifugação a 2750 x *g* por 10 minutos a 4°C. Após o descarte do sobrenadante, seguiram-se 2 lavagens em tampão fosfato estéril e o *pellet* foi ressuspendido em 100 mL do mesmo tampão, pH 7,2. Procedeu-se uma segunda centrifugação nas mesmas condições já descritas. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* final foi ressuspendido em 10 mL do tampão fosfato estéril. A cultura de *Bifidobacterium longum* foi administrada diariamente, via oral, na forma de concentrado celular de 10⁹ UFC mL⁻¹, em quantidade de 0,1 mL/rato/dia, para os grupos probiótico e simbiótico.

Ao final do estudo os animais foram submetidos à eutanásia em câmara com CO₂. Todos os procedimentos foram descritos posteriormente,

sendo que neste ensaio biológico foram avaliados os indicadores da função hepática (proteínas totais, albumina, alanina aminotransferase-ALT, aspartato aminotransferase-AST e fosfatase alcalina); perfil de lipídios (triacilgliceróis, colesterol total e frações); propriedades biomecânicas ósseas (comprimento, espessura e força de fratura); peso do fêmur; conteúdo de minerais ósseos (cálcio, fósforo e magnésio); peso da tíbia; avaliação da microbiota, pH e da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ceco.

4.6. Descrição das variáveis avaliadas nos estudos II e III

4.6.1. Determinação do coeficiente de eficiência alimentar, ganho de peso e consumo de dieta

O monitoramento do peso dos animais foi realizado semanalmente e do consumo de dieta diariamente variando de 15 a 18 g, utilizando-se balança eletrônica digital (Marte-AS2000C, São Paulo, Brasil). O ganho de peso dos animais foi determinado pela diferença entre peso final e inicial e o coeficiente de eficiência alimentar segundo a fórmula: $CEA = \text{ganho de peso(g)}/\text{consumo de dieta total (g)}$.

4.6.2. Avaliação da microbiota, pH e concentração de AGCC no ceco

O ceco de 4 animais por grupo foi retirado e acondicionado em saco estéril Whirl-Pak, (Millipore, Billerica, USA), previamente pesado e identificado. A avaliação do pH e da microbiota cecal foi realizada no Laboratório de Culturas Láticas do Bioagro/UFV. As amostras foram submetidas a diluições decimais, utilizando como diluente água peptonada reduzida estéril. A primeira diluição foi utilizada para determinação do pH utilizando pHmetro (Bel Engineering-W3B,

Monza, Itália). As contagens microbiológicas foram realizadas em meios seletivos da seguinte forma: bifidobactérias em ágar MRS modificado, acrescido de 5% de solução de antibióticos (sulfato de neomicina, sulfato de paromicina, ácido nalidixico e cloreto de lítio); incubadas a 37°C por 72 horas em jarras de anaerobiose (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA); lactobacilos em ágar Rogosa (Difco, Detroit, USA); anaeróbios estritos e facultativos em ágar Wilkins-Chalgren (Difco, Detroit, USA); ambos incubados a 37°C por 48 horas em jarras de anaerobiose (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA); aeróbios mesófilos em PCA (Plate Count Agar, Difco, Detroit, USA) incubados a 37°C por 24 horas e enterococos em ágar *Enterococcus* (Difco, Detroit, USA), incubados a 37°C por 48 horas. A contagem microbiológica foi expressa em base logarítmica da UFC g⁻¹.

As análises de AGCC (ácido acético, propiônico e butírico) foram realizadas no Departamento de Química/UFV segundo a metodologia descrita por Smiricky-Tjardes et al. (2003). Pesou-se 500 mg de cada amostra em balança analítica (Shimadzu-AY220, São Paulo, Brasil) e realizou-se a acidificação com 500 µL de ácido meta-fosfórico a 25%. Após repouso por 30 minutos a temperatura ambiente, procedeu-se a centrifugação em micro centrífuga refrigerada (Hitachi-CT15RE, Tóquio, Japão) a 16.100 x *g* durante 30 minutos, na temperatura de 4°C. Depois, o sobrenadante obtido foi novamente centrifugado e utilizado para determinação da concentração dos AGCC por cromatografia gasosa (ERWIN, MARCO e EMERY, 1961), com cromatógrafo (Shimadzu-17A, Tóquio, Japão) equipado com detector de ionização de chama, coluna Nukol capilar, de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm Film Thickenss, Supelco, Bellefonte, USA) e nitrogênio como carreador com velocidade linear programada para 43,2 cm s⁻¹. As condições cromatográficas foram às seguintes: temperatura da coluna 100°C por 5 minutos e 185°C por 10 minutos; temperatura do injetor e do detector de 220°C e 250°C, respectivamente; fluxo da coluna 1,0 mL minuto⁻¹.

A partir de soluções estoque de ácido acético, propiônico e butírico foram feitas diluições para obtenção das soluções padrões. Cada solução foi injetada no cromatógrafo para obtenção das curvas analíticas, correlacionando a área do pico com a concentração de ácido graxo na solução. O volume de 1 µL de cada amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL em sistema Splitless, e

cada ácido graxo presente foi identificado e quantificado por comparação com as curvas analíticas das soluções padrões dos AGCC. Os cálculos foram feitos pelo microcomputador acoplado ao sistema de CG (cromatografia gasosa) equipado com o programa GC Solution.

4.6.3. Determinação do conteúdo mineral ósseo

Após a eutanásia em câmara de CO₂, a tíbia direita de cada animal foi retirada com auxílio de tesoura cirúrgica, sendo dissecada para remoção dos tecidos moles, pesada e armazenada em ultra freezer (-80°C) para futuras análises. As amostras foram preparadas segundo metodologia preconizada pela AOAC (2002), sendo que a tíbia foi colocada em tubos de ensaio individuais, específicos para a digestão de minerais. Em seguida, adicionou-se 10 mL de ácido nítrico concentrado e os tubos foram mantidos em capela de exaustão de gases por aproximadamente 6 horas até que a tíbia estivesse totalmente dissolvida (sem identificar fragmentos ósseos).

Os tubos de ensaios foram aquecidos por 16 horas no bloco digestor a uma temperatura inicial de 80°C, elevando-se a temperatura progressivamente até 160°C. Após as primeiras 8 horas de digestão, foram adicionados 5 mL de ácido nítrico para evitar que a solução secasse. Ao final da digestão, os tubos permaneceram na capela de exaustão, resfriando a temperatura ambiente. Depois, o conteúdo do tubo foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água deionizada. Deste balão volumétrico retirou-se uma alíquota para a leitura dos minerais (AOAC, 2002).

Os minerais (cálcio, magnésio e fósforo) foram determinados por espectrofotometria de emissão de plasma (Perkin Elmer-Optima 3300 DV, Norwalk, USA), com limite de detecção de 0,02 ppb para cálcio; 0,1 ppb para magnésio e 30 ppb para fósforo.

Para realização da análise, as vidrarias utilizadas foram desmineralizadas da seguinte forma: lavagem em água corrente e detergente neutro; imersão por 24 horas em água com detergente seguida de enxágue com água deionizada; imersão em solução de ácido nítrico 10% por 24 horas, seguido de enxágue com

água deionizada; e secagem das vidrarias em estufa. Todas as etapas de enxágues foram realizadas em série de 3 repetições.

4.6.4. Avaliação das propriedades ósseas

O fêmur direito de cada animal foi retirado com tesoura cirúrgica logo após a eutanásia e imediatamente dissecado removendo-se os tecidos moles, sendo em seguida seco com papel toalha. Os fêmures foram armazenados em ultra freezer (-80°C) para análises futuras. As propriedades ósseas analisadas foram: comprimento, espessura, peso e resistência à fratura óssea (força de fratura). O comprimento do fêmur, distância da borda superior da cabeça até a borda inferior do côndilo medial, e a espessura, no ponto intermédio da medida do comprimento foi determinado utilizando-se um paquímetro de aço inox. O peso ósseo foi aferido em balança eletrônica digital (Marte-AS 2000C, São Paulo, Brasil). Para a análise da resistência à fratura óssea (força de fratura) foi utilizado o teste de fratura por três-pontos no aparelho texturômetro TA.HDi Texture Analyser (Stable Micro System, Godalming, Reino Unido), conectado a um computador equipado com o programa *Texture Expert*® empregando um “probe” de 3 pontas. Cada extremidade óssea foi apoiada sobre hastes inoxidáveis separadas por 2,5 cm de distância e uma terceira haste, apoiada sobre o ponto intermédio ósseo, onde foi realizada uma força até a fratura. O equipamento registrou a força necessária para fraturar o osso (SHIGA et al., 2002; TSANZI, LIGHT e TOU, 2008).

4.6.5. Determinações bioquímicas do soro

No Laboratório Biofármacos/UFV foram realizadas as seguintes análises bioquímicas: proteínas totais, albumina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase-ALT, aspartato aminotransferase-AST, colesterol total, colesterol-HDL (HDL-c), colesterol-LDL (LDL-c) e triacilgliceróis. A coleta do

sangue foi realizada por punção cardíaca, com auxílio de seringas descartáveis e as amostras foram centrifugadas a $2865 \times g$ por 15 minutos (Fanem-204, São Paulo, Brasil) para obtenção do soro. As análises foram realizadas de acordo com as recomendações do fabricante (Bioclin, Belo Horizonte, Brasil) em equipamento automatizado utilizando-se “Kits” enzimáticos e colorimétricos. Determinou-se também a razão colesterol total/HDL-c e LDL-c/HDL-c.

Dosagem de triacilgliceróis

Para esta dosagem utilizou-se o método enzimático colorimétrico que se baseia na degradação do triacilglicerol em glicerol e ácidos graxos pela ação da lipase. O glicerol obtido reagiu com ATP, em presença da glicerolquinase, gerando o glicerol-3-fosfato e ADP. O glicerol-3-fosfato foi oxidado a diidroxiacetona-fosfato pela glicerol fosfato oxidase, liberando água oxigenada. Esta, juntamente com p-clorofenol e amino-4-antipirina, em presença da peroxidase, transformou-se no cromogênio (que absorve em comprimento de onda de 505 nm) liberando água, cuja intensidade de cor formada é proporcional a concentração de triacilgliceróis na amostra.

Dosagem de colesterol total

O colesterol total foi determinado pelo método enzimático colorimétrico. Esta análise baseou-se na transformação do colesterol esterificado em colesterol e ácido graxo, mediado pela enzima colesterol esterase. O colesterol formado foi oxidado pela enzima colesterol oxidase em 4-colesteno-3-ona e água oxigenada. Esta, juntamente com o fenol e 4-aminoantipirina, pela ação da peroxidase, foi transformada no cromogênio (que absorve em 500 nm) e em água, cuja intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração de colesterol na amostra.

Dosagem de colesterol-HDL

Esta dosagem foi realizada pelo método enzimático colorimétrico, utilizando o kit HDL direto. Neste teste, os reagentes empregados fazem a dosagem seletiva do colesterol ligado ao HDL, que se solubiliza pela ação de um detergente, permitindo a ação enzimática sobre o colesterol ligado a ele. Desta forma, a intensidade da coloração formada é proporcional à concentração de colesterol HDL presente na amostra.

Dosagem de colesterol-LDL

Esta dosagem foi realizada pelo método enzimático colorimétrico, utilizando o kit LDL direto. O detergente presente no reagente 1 solubiliza apenas as lipoproteínas não LDL. O colesterol liberado dessas lipoproteínas é então consumido pelas enzimas colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase, não ocorrendo à formação de cor. Um segundo detergente, presente no reagente 2, solubiliza a lipoproteína LDL, permitindo o seu consumo pelas enzimas anteriores, levando à formação de peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio formado reage com um cromógeno ocorrendo à formação de cor. A intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração de colesterol LDL na amostra.

Dosagem de proteína total

A proteína total do soro foi dosada, colorimetricamente, pelo método do tipo Biureto, que consiste em complexar as ligações peptídicas das proteínas com sais de cobre em meio alcalino, formando um complexo de coordenação entre o íon cúprico e quatro grupos NH das cadeias peptídicas. Esse complexo absorve em um comprimento de onda de aproximadamente 545 nm.

Dosagem de albumina

O princípio do método baseia-se na colorimetria, sendo que em presença de albumina, o indicador verde-de-bromocresol forma um complexo corado, que exibe um espectro de absorção diferente do indicador na forma livre. A concentração desse complexo (que absorve em 630 nm) é proporcional à concentração da albumina na amostra.

Dosagem da alanina amino-transferase (ALT)

A determinação cinética da atividade da ALT se baseia na conversão da L-alanina e α -cetoglutarato em piruvato e L-glutamato, mediada pela ALT. O piruvato formado reage com NADH e o íon hidrônio, produzindo L-lactato e NAD⁺, numa reação catalisada pela lactato desidrogenase (LDH). A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da ALT na amostra.

Dosagem da aspartato amino-transferase (AST)

A determinação cinética da atividade da AST se baseou na conversão de L-aspartato e α -cetoglutarato em oxaloacetato e L-glutamato, mediada pela enzima AST. O oxalacetato formado reage com NADH e o íon hidrônio, produzindo L-malato e NAD⁺, numa reação catalisada pela enzima malato desidrogenase (MDH). A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da AST na amostra.

Dosagem da fosfatase alcalina

O método utilizado foi o cinético, onde a fosfatase alcalina hidroliza o p-nitrofenilfosfato produzindo fosfato e p-nitrofenol. A velocidade da aparição do ânion p-nitrofenolato a 405 nm é proporcional à atividade enzimática na amostra. A dietanolamina, além de regular o pH da reação, intervém ativamente na mesma, atuando como receptor de fosfato liberado pela enzima.

4.7. Análise estatística

Para análise dos resultados (estudo II e III) utilizou-se o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), versão 9.20, licenciado para UFV. Os dados obtidos pelo estudo II foram interpretados por meio de análise de variância e regressão, utilizando o teste F, ao nível de 5% de probabilidade. No estudo III, os resultados foram interpretados por meio de análise de variância e as médias dos grupos experimentais foram comparadas utilizando o teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS

5.1. Composição química da farinha de yacon (estudo I)

A partir de 115,5 kg de yacon *in natura* obteve-se 9,6 kg de farinha com rendimento de 9% (Tabela 8).

Tabela 8- Processamento do yacon para obtenção da farinha.

	Total (kg)
Yacon <i>in natura</i>	115,5
Perdas durante o descascamento	8,7
Quantidade processada	106,8
Quantidade de farinha obtida	9,6

* Índice de perdas em relação à quantidade total processada foi de 7,5%.

As condições empregadas para a produção da farinha de yacon foram eficientes para inibir o escurecimento enzimático do produto, mesmo após 6 meses de armazenamento sob refrigeração de 8° a 10°C.

Na Tabela 9 tem-se a composição química da farinha de yacon que apresentou 6,9% de umidade e 25,7% de FOS. De acordo com os resultados, a farinha pode ser considerada fonte de fósforo e magnésio, por fornecer 30% e 69,2% da IDR, respectivamente, para adultos.

Tabela 9- Composição química e valor calórico da farinha de yacon (g 100g⁻¹).

Componente	Teor
Umidade	6,9
Cinzas	5,4
Proteínas	2,7
Lipídios	0,15
Fibra alimentar solúvel (FS)*	2,72
Fibra alimentar insolúvel (FI)	10,53
Carboidratos não digeríveis ¹	38,95
Valor calórico (kcal g ⁻¹)	195,75
Glicose	8,6
Frutose	21,1
Sacarose	16,3
Oligofrutanos (FOS)**	25,7
Cálcio	0,05
Magnésio	0,18
Fósforo	0,21

*Fração solúvel de fibra determinada pelo método enzimático-gravimétrico.

**Fração solúvel de fibra determinada pelo método HPLC.

1 - Carboidratos não digeríveis = FS + FI + FOS.

5.2. Efeito da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio em modelo murino (estudo II)

Para realização deste estudo os animais foram distribuídos em 6 grupos experimentais, com dois níveis de cálcio (100% ou 75% das recomendações) e três níveis de FOS (0%, 4% e 8%) da farinha de yacon da seguinte maneira: 1) 100% Ca; 2) 100% Ca + farinha de yacon (FY) com 4% de FOS; 3) 100% Ca + FY com 8% de FOS; 4) 75% Ca; 5) 75% Ca + FY com 4% de FOS e 6) 75% Ca + FY com 8% de FOS.

5.2.1. Ganho de peso, consumo alimentar, coeficiente de eficiência alimentar e avaliação da função hepática

O acréscimo da farinha de yacon (4% e 8% de FOS) em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio não afetou o ganho de peso ($91,9 \pm 18$ g), o consumo alimentar total ($370,3 \pm 31,2$ g) e o CEA ($0,2 \pm 0,04$) ($P > 0,05$). As Tabelas 10 e 11 representam os resultados das variáveis da função hepática.

Tabela 10 – Variáveis da função hepática no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.

Variáveis	Recomendação de cálcio (%)	Teor de FOS (%)			
		4		8	
		Média	DP	Média	DP
Proteína total (g/L)	100	58,8 ^{A,a}	6,5	56,9 ^{A,a}	5,3
	75	57,2 ^{A,a}	1,3	59,8 ^{A,a}	3,5
Albumina (g/L)	100	3,4 ^{A,a}	0,2	3,3 ^{A,a}	0,1
	75	3,5 ^{A,a}	0,9	3,4 ^{A,a}	0,9
AST (UI)	100	193,9 ^{A,a}	51,3	181,0 ^{A,a}	47,1
	75	194,6 ^{A,a}	51,7	189,6 ^{A,a}	40,9
ALT (UI)	100	37,2 ^{A,a}	4,0	29,7 ^{A,b}	5,8
	75	35,7 ^{A,a}	7,7	36,6 ^{A,a}	3,2

Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP), n= 8. Significância ($P < 0,05$): médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste t.

Tabela 11 – Perfil de lipídios (mg/dL) no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.

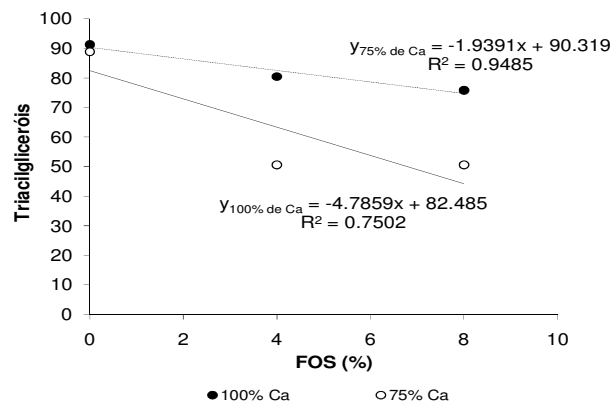
Variáveis	Recomendação de cálcio (%)	Teor de FOS (%)			
		4		8	
		Média	DP	Média	DP
Colesterol	100	80,9 ^{A,a}	9,6	87,0 ^{A,a}	13,7
Total	75	84,0 ^{A,a}	8,8	86,0 ^{A,a}	15,4
LDL-c	100	35,9 ^{A,a}	4,9	36,7 ^{A,a}	8,5
	75	33,1 ^{A,a}	4,8	35,6 ^{A,a}	7,0
HDL-c	100	33,0 ^{A,a}	3,7	35,4 ^{A,a}	4,9
	75	34,0 ^{A,a}	4,1	33,4 ^{A,a}	3,7
Triacilgliceróis	100	80,5 ^{A,a}	17,1	75,8 ^{A,a}	22,1
	75	50,6 ^{B,a}	11,1	50,6 ^{B,a}	13,6

Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP), n= 8. Significância ($P < 0,05$): médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste t.

Não houve diferença ($P > 0,05$) nas concentrações de colesterol total e LDL-c entre os grupos que consumiram farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio. Os animais que receberam 100% das recomendações de cálcio apresentaram maiores concentrações de triacilgliceróis que os animais que receberam 75% das recomendações ($P < 0,05$).

Pode-se observar pela Figura 3 que houve redução nas concentrações de triacilgliceróis e de HDL-c com a adição de níveis crescentes da farinha de yacon nas dietas.

a)



b)

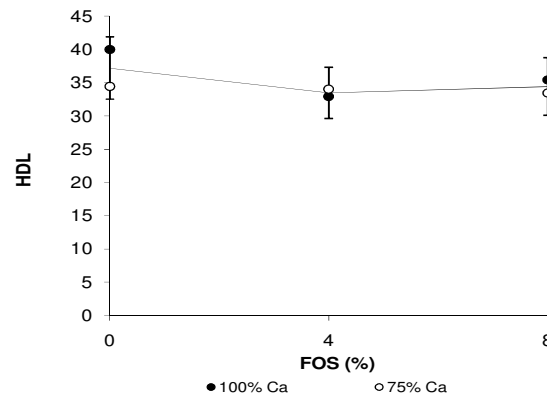


Figura 3 – Concentração de triacilgliceróis (a) e HDL-c (b) de ratos Wistar que consumiram farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.

5.2.2. Propriedades biomecânicas e conteúdo mineral ósseo

Ao se comparar o efeito do consumo da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS observa-se (Tabela 12) que não houve diferença significativa ($P>0,05$) nas propriedades biomecânicas dos fêmures, nos conteúdos de cálcio e fósforo na tíbia dos animais, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio. Em relação ao peso do fêmur houve efeito da interação cálcio*FOS, sendo que o peso foi menor ($P<0,05$) nos animais que receberam 75% das recomendações de cálcio e farinha de yacon com 8% de FOS. O peso da tíbia não foi afetado pelas dietas testes ($P>0,05$).

Tabela 12 – Propriedades biomecânicas do fêmur, conteúdo mineral e peso da tíbia de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.

Variáveis	Recomendação de cálcio (%)	Teor de FOS (%)			
		4		8	
		Média	DP	Média	DP
Peso fêmur (g)	100	0,63 ^{A,a}	0,04	0,64 ^{A,a}	0,03
	75	0,62 ^{A,a}	0,02	0,58 ^{B,b}	0,04
Espessura (mm)	100	4,6 ^{A,a}	0,3	4,5 ^{A,a}	0,3
	75	4,3 ^{A,a}	0,2	4,4 ^{A,a}	0,3
Comprimento (mm)	100	32,0 ^{A,a}	0,9	31,5 ^{A,a}	0,9
	75	32,0 ^{A,a}	0,7	31,8 ^{A,a}	1,0
Força de Fratura (m kg s ²)	100	99,8 ^{A,a}	7,3	109,0 ^{A,a}	14,0
	75	96,9 ^{A,a}	14,3	106,6 ^{A,a}	17,9
Conteúdo de Ca (%)	100	7,8 ^{A,a}	1,1	8,8 ^{A,a}	1,7
	75	8,4 ^{A,a}	1,0	8,5 ^{A,a}	0,8
Conteúdo de P (%)	100	9,2 ^{A,a}	1,1	9,9 ^{A,a}	1,7
	75	9,4 ^{A,a}	1,1	9,5 ^{A,a}	1,0
Conteúdo de Mg (%)	100	0,66 ^{A,a}	0,14	0,67 ^{A,a}	0,19
	75	0,77 ^{A,a}	0,1	0,79 ^{A,a}	0,1
Peso da Tíbia (g)	100	0,47 ^{A,a}	0,04	0,44 ^{A,a}	0,06
	75	0,44 ^{A,a}	0,02	0,47 ^{A,a}	0,04

Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP), n= 8. Significância ($P<0,05$): médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste t.

A força de fratura do fêmur (Figura 4c) e os teores de cálcio e fósforo na tíbia aumentaram significativamente com a adição de níveis crescentes da farinha de yacon (FOS) (Figura 4a e 4b).

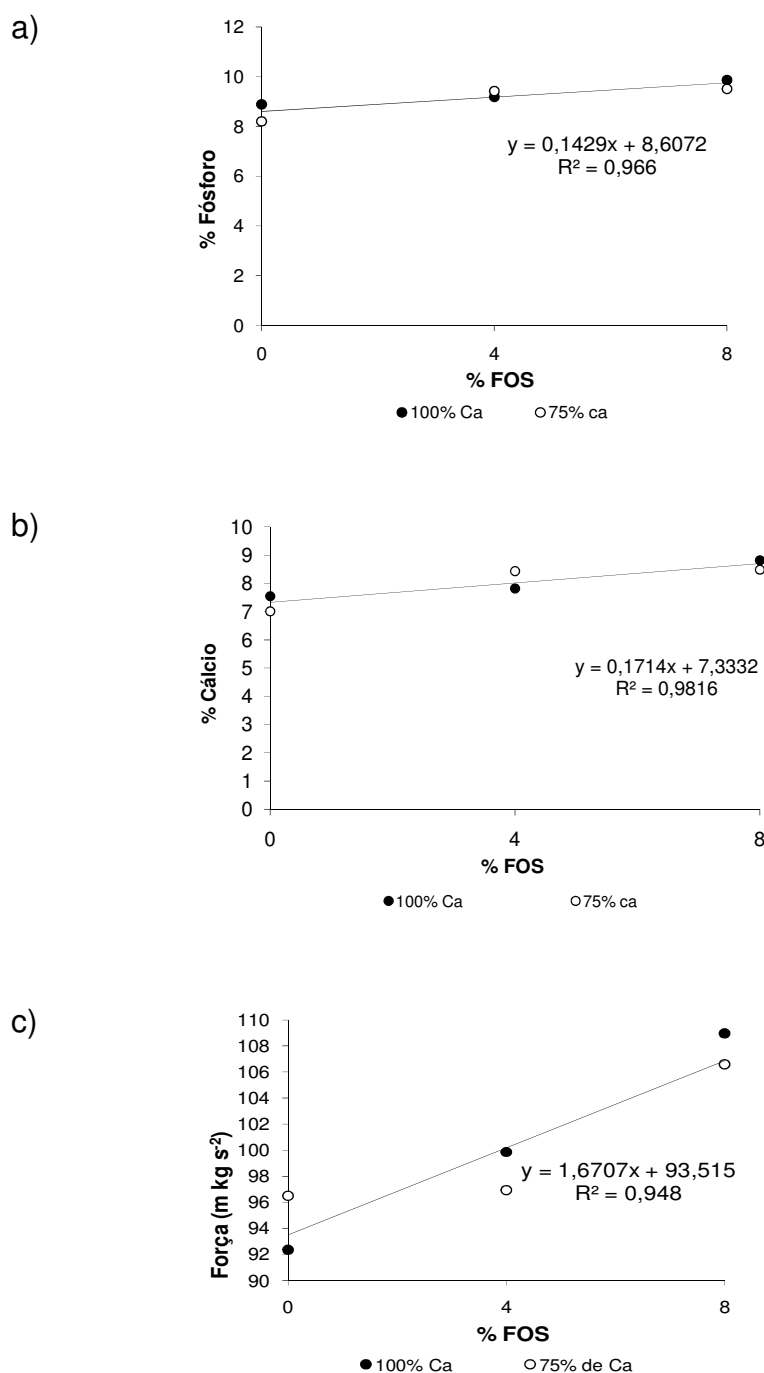


Figura 4 – Teor de fósforo (a) e cálcio (b) na tíbia e força de fratura do fêmur (c) de ratos Wistar que consumiram farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio.

5.3. Efeito de farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico (*B. longum*) e simbiótico em modelo murino (estudo III)

Para realização deste estudo os animais foram distribuídos em 4 grupos experimentais: 1) Controle (dieta padrão AIN-93G); 2) Prebiótico (farinha de yacon com 4% de FOS); 3) Probiótico (0,1 mL do concentrado celular de *Bifidobacterium longum* ATCC 15707); 4) Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + 0,1 mL do concentrado celular probiótico).

5.3.1. Ganho de peso, consumo alimentar, coeficiente de eficiência alimentar e avaliação da função hepática

O consumo da farinha de yacon, associada ou não ao probiótico não afetou o crescimento, uma vez que não houve diferença ($P > 0,05$) no ganho de peso ($96,9 \pm 20,4$ g), consumo de dieta total ($372,9 \pm 29,38$ g) e CEA ($0,2 \pm 0,05$) entre os grupos, após os 28 dias de experimento. Diariamente, observou-se o aspecto das fezes dos animais e durante todo o período experimental não houve sinal de desordem gastrointestinal.

Os resultados da avaliação da função hepática encontram-se na Tabela 13 e 14. No grupo que recebeu probiótico as concentrações de proteínas totais e albumina foram maiores ($P < 0,05$) que nos demais tratamentos. Entretanto, as concentrações de ASL, AST e fosfatase alcalina não diferiram entre os grupos experimentais ($P > 0,05$) (Tabela 13).

Tabela 13 – Variáveis da função hepática no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.

Variáveis	Controle ¹	Prebiótico ²	Probiótico ³	Simbiótico ⁴	P valor
Proteína total (g/L)	60,20 ± 4,34 ^b	58,85 ± 6,54 ^b	70,26 ± 4,49 ^a	63,49 ± 3,42 ^b	0,0003
Albumina (g/dL)	3,42 ± 0,11 ^b	3,43 ± 0,21 ^b	3,69 ± 0,13 ^a	3,56 ± 0,15 ^{ab}	0,0044
AST (UI)	204,29 ± 84,97	193,88 ± 51,36	223,57 ± 54,92	213,57 ± 47,20	0,7952
ALT (UI)	39,12 ± 13,58	37,25 ± 4,03	41,50 ± 15,20	34,62 ± 16,70	0,7672
Fosfatase alcalina (UI)	156,88 ± 46,83	142,75 ± 25,89	148,00 ± 29,71	139,12 ± 32,63	0,7575

Valores médios ± desvio padrão. n=8. Significância (P<0,05): médias seguidas pela mesma letra na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste de Duncan.

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707).

4- Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + probiótico)

O colesterol total foi menor (P<0,05), nos ratos que receberam prebiótico quando comparado aos demais grupos experimentais, entretanto, no grupo do probiótico a concentração de colesterol total foi superior a do controle (P<0,05). Os animais que receberam o simbiótico não diferiram do controle em relação a essa variável (Tabela 14).

Tabela 14 – Perfil de lipídios (mg/dL) no soro de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.

Variáveis	Controle ¹	Prebiótico ²	Probiótico ³	Simbiótico ⁴	P valor
Colesterol total	97,26 ± 12,58 ^b	80,89 ± 9,62 ^c	117,46 ± 8,53 ^a	103,15 ± 22,58 ^{ab}	0,0030
HDL-c	39,97 ± 3,10 ^a	32,94 ± 3,79 ^b	44,86 ± 5,36 ^a	42,37 ± 7,55 ^a	0,0003
Colesterol total/HDL	2,45 ± 0,39	2,46 ± 0,26	2,63 ± 0,21	2,33 ± 0,32	0,2772
LDL-c	33,97 ± 7,00 ^b	35,87 ± 4,89 ^b	44,36 ± 7,03 ^a	34,20 ± 3,47 ^b	0,0034
LDL-c/HDL-c	0,85 ± 0,18 ^{bc}	1,10 ± 0,19 ^a	1,00 ± 0,22 ^{ab}	0,79 ± 0,17 ^c	0,0112
Triacilgliceróis	91,36 ± 21,23	80,48 ± 17,07	101,30 ± 13,98	85,35 ± 30,52	0,2701

Valores em média ± desvio padrão. n=8. Significância (P<0,05): médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste de Duncan.

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707).

4- Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + probiótico)

O grupo do prebiótico diferiu dos demais em relação ao HDL-c, apresentando o menor valor ($P<0,05$). Entre o probiótico, simbiótico e controle não houve diferença significativa. As diferentes dietas não afetaram a razão de colesterol total/HDL e as concentrações de triacilgliceróis ($P>0,05$). Os animais que receberam prebiótico e simbiótico não diferiram do controle em relação ao LDL-c, no entanto, houve aumento de LDL-c no grupo probiótico, comparando-se aos demais grupos ($P<0,05$). Nos tratamentos com prebiótico e probiótico a razão LDL-c/HDL-c foi significativamente maior que o simbiótico, porém o probiótico não diferiu do controle ($P>0,05$). O simbiótico apresentou a menor razão LDL-c/HDL-c, não diferindo do controle.

5.3.2. Propriedades biomecânicas e conteúdo mineral ósseo

O peso absoluto, a espessura, comprimento e a força de fratura dos fêmures não diferiram entre os grupos experimentais ($P>0,05$) (Tabela 15).

Tabela 15 – Propriedades biomecânicas dos fêmures de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.

Variáveis	Controle ¹	Prebiótico ²	Probiótico ³	Simbiótico ⁴	P valor
Peso absoluto (g)	0,60 ± 0,04	0,63 ± 0,04	0,64 ± 0,04	0,64 ± 0,04	0,2035
Espessura (mm)	4,60 ± 0,22	4,58 ± 0,32	4,42 ± 0,25	4,50 ± 0,32	0,5643
Comprimento (mm)	32,30 ± 0,47	32,04 ± 0,87	32,27 ± 0,59	31,40 ± 0,95	0,0804
Força de fratura (m kg s ⁻²)	92,35 ± 11,19	99,86 ± 7,30	100,33 ± 9,60	105,81 ± 21,70	0,2876

Valores médios ± desvio padrão, n=8. Significância ($P<0,05$).

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707).

4- Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + probiótico)

Os resultados do conteúdo mineral ósseo encontram-se na Tabela 16. O peso da tíbia não diferiu em nenhum dos tratamentos ($P>0,05$).

Tabela 16 – Conteúdo mineral (%) na tíbia de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.

Variáveis	Controle ¹	Prebiótico ²	Probiótico ³	Simbiótico ⁴	P valor
Peso ósseo (g)	0,45 ± 0,03	0,47 ± 0,04	0,45 ± 0,06	0,46 ± 0,02	0,6962
Cálcio ósseo	7,55 ± 1,20 ^b	7,82 ± 1,07 ^b	9,50 ± 0,5 ^a	8,91 ± 0,77 ^a	0,0007
Fósforo ósseo	8,88 ± 1,21 ^c	9,18 ± 1,09 ^{bc}	10,75 ± 1,42 ^a	10,27 ± 0,57 ^{ab}	0,0067
Magnésio ósseo	0,62 ± 0,13 ^b	0,66 ± 0,1 ^b	0,80 ± 0,08 ^a	0,82 ± 0,07 ^a	0,0022

Valores médios ± desvio padrão. n=8. Significância ($P<0,05$): médias seguidas pela mesma letra na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste de Duncan.

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707).

4- Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + probiótico)

No grupo prebiótico os conteúdos de cálcio, fósforo e magnésio não diferiram do controle, no entanto, houve aumento significativo desses minerais nos animais que consumiram probiótico e simbiótico ($P<0,05$). O grupo simbiótico apresentou maior concentração de cálcio e magnésio do que o grupo prebiótico ($P<0,05$). O mesmo não ocorreu em relação ao fósforo.

5.3.3. Microbiota, pH e concentração de AGCC no ceco

A contagem padrão de aeróbios mesófilos e enterococos no conteúdo cecal dos animais não diferiram entre os grupos ($P>0,05$). Na contagem de anaeróbios estritos e facultativos o grupo prebiótico diferiu dos demais ($P<0,05$), apresentando a maior contagem (Figura 5-a). A concentração de bifidobactérias foi maior em todos os tratamentos (log 5,07 UFC/g para simbiótico; log 4,95 UFC/g para probiótico e log 4,79 UFC/g para prebiótico) em comparação com o controle (log 4,58 UFC/g), entretanto, não houve diferença significativa ($P>0,05$).

Os animais tratados com simbiótico tiveram a menor concentração de lactobacilos (log 4,94 UFC/g), comparando com os outros grupos ($P<0,05$) (Figura 5-b).

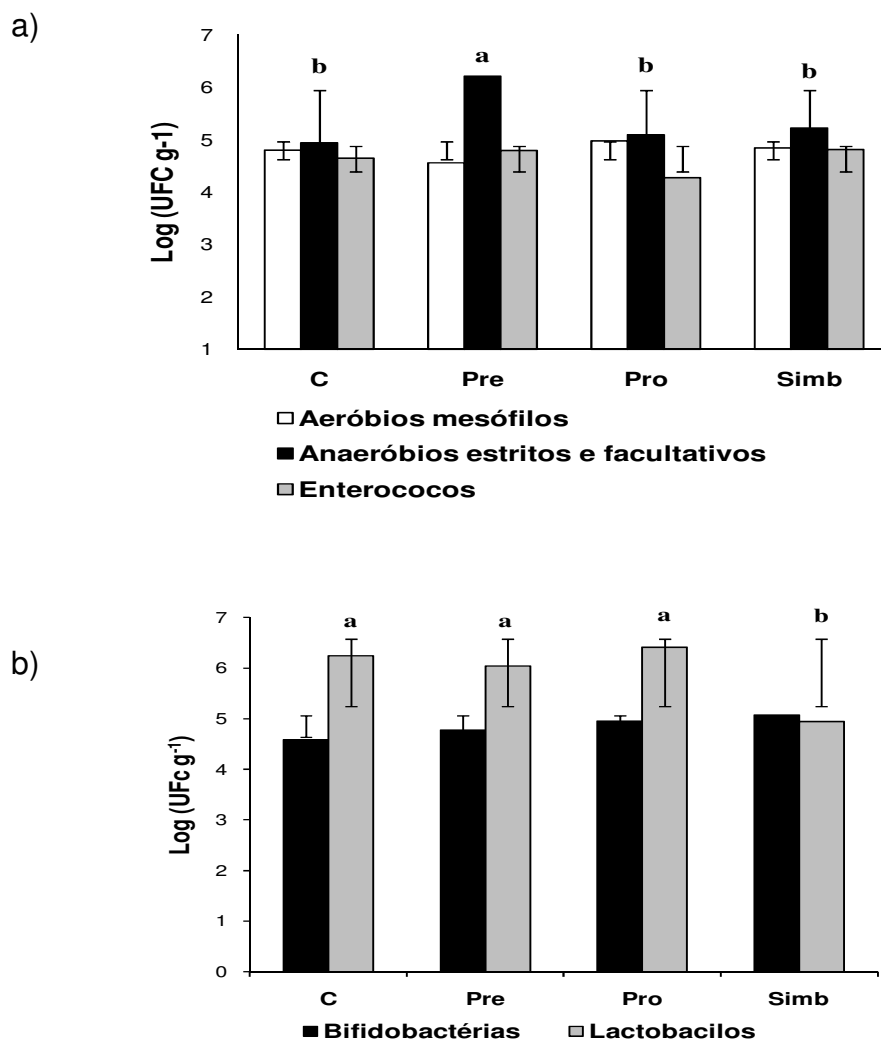


Figura 5 - Variação da contagem de micro-organismos no conteúdo cecal de animais tratados com C (dieta AIN-93G); Pre (farinha de yacon com 4% de FOS); Pro (*B. longum*) e Simb (farinha de yacon com 4% de FOS + *B. longum*). Valores médios $\pm$ desvio padrão (barra vertical), $n=4$. Significância ($P<0,05$). Tratamentos com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan.

Na Tabela 17 tem-se os resultados do peso do ceco, pH e a concentração de ácidos graxos de cadeia curta.

Tabela 17 – Concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (mmol L⁻¹), valores de pH e peso do ceco de ratos Wistar que receberam farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico e simbiótico.

Variáveis	Controle ¹	Prebiótico ²	Probiótico ³	Simbiótico ⁴	P valor
pH	7,62 ± 0,34	7,41 ± 0,32	7,48 ± 0,14	7,47 ± 0,17	0,6031
Peso do ceco (g)	1,62 ± 0,05 ^c	4,70 ± 0,54 ^a	1,96 ± 0,17 ^c	2,72 ± 0,24 ^b	0,0001
Acetato	33,95 ± 9,55	43,62 ± 16,19	41,82 ± 8,06	39,93 ± 8,66	0,3492
Propionato	15,38 ± 6,96 ^b	31,30 ± 10,98 ^a	25,83 ± 9,05 ^a	25,20 ± 7,31 ^a	0,0095
Butirato	7,37 ± 1,86 ^b	15,67 ± 4,51 ^a	12,31 ± 4,42 ^a	8,29 ± 1,41 ^b	0,0001

Valores em média ± desvio padrão. Significância (P<0,05): médias seguidas pela mesma letra na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste de Duncan.

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707).

4- Simbiótico (farinha de yacon com 4% de FOS + probiótico)

O peso do ceco foi maior (P<0,05) nos ratos que consumiram prebiótico, comparando-se com os demais grupos. Os animais que receberam o simbiótico também apresentaram maior peso do ceco (P<0,05) que os ratos do grupo controle e probiótico, no entanto, não houve diferença (P>0,05) entre os grupos probiótico e controle. O pH do conteúdo cecal não foi afetado pelas diferentes dietas experimentais (P>0,05). A concentração de acetato no ceco não diferiu entre os grupos, porém, a concentração de propionato foi maior em todos os tratamentos, comparando-se com o controle (P<0,05). Os animais dos grupos prebiótico e probiótico apresentaram maior concentração de butirato que os animais dos grupos controle e simbiótico (P<0,05). O tratamento com simbiótico não diferiu do controle em relação a concentração de butirato (P>0,05).

6. DISCUSSÃO

6.1. Composição química da farinha de yacon (estudo I)

As perdas durante o descascamento variam em função do tamanho e morfologia das raízes tuberosas, uma vez que no mercado essas são comercializadas sem nenhuma padronização.

O teor de umidade de 6,9% obtido após a secagem (55°C/48 horas) está de acordo com a Portaria nº 354/96 do Ministério da Saúde que estabelece no máximo 15% de umidade para farinhas (BRASIL, 1996). Valores mais elevados foram encontrados por Marangoni (2007), que obteve 15,4% de umidade ao realizar a secagem 60°C/72 horas. Rolim (2008) obteve 13,2% de umidade e a secagem foi feita a 55°C/24 horas. A variação do binômio tempo/temperatura usada na desidratação do yacon influencia no teor de umidade da farinha.

As condições de processamento empregadas neste estudo proporcionaram um percentual de rendimento de 9,0%, sendo esse maior do que o encontrado por Ribeiro (2008) e Moscatto et al. (2006), que obtiveram 7,9% e 7,5%, respectivamente. Apesar de ser maior que de outros estudos, o rendimento obtido ainda é baixo, provavelmente em função do elevado conteúdo de água e baixo teor de sólidos totais do yacon.

Para viabilizar o processo de produção da farinha de yacon e inseri-lo na agroindústria tornam-se necessários mais estudos para melhorar o sistema de fabricação. Isto se justifica pelo fato do yacon atualmente ter um valor agregado no mercado maior que outros tipos de plantas como milho e mandioca, devido ao apelo de funcionalidade (prebiótico). Além disso, a farinha apresenta como vantagem a praticidade, facilidade para consumo e uso na elaboração de diversos alimentos tais como produtos de panificação, barra de cereal, entre outros, uma vez que esta poderá ser, encontrada em qualquer época do ano, independente do período de safra.

Em relação à composição química, os teores de proteínas e umidade obtidos foram próximos aos de Vasconcelos et al. (2010), cuja matéria-prima usada na produção da farinha foi adquirida no mesmo mercado do presente

estudo. Rolim (2008) encontrou valores diferentes na composição química da farinha de yacon: 4,2 g 100g⁻¹ de cinzas; 3,4 g 100g⁻¹ de proteínas; 0,19 g 100g⁻¹ de lipídios e 13,2% de umidade.

Segundo a ANVISA um alimento é fonte de um determinado nutriente quando contribui no mínimo com 15% da IDR por 100 g (BRASIL, 1998). De acordo com os resultados a farinha pode ser considerada fonte de fósforo e magnésio, por fornecer 30% e 69,2% da IDR, respectivamente, para adultos. Ribeiro (2008) obteve menor concentração desses nutrientes. As diferenças nas concentrações da composição centesimal e de minerais entre os estudos podem ocorrer em função das condições de cultivo como clima, altitude, região e tipo de solo.

No presente estudo, o valor de fibra alimentar insolúvel foi próximo ao encontrado por Ribeiro (2008). Segundo Vasconcelos et al. (2010) a fração solúvel é a soma do valor obtido pelo método enzimático-gravimétrico mais os oligofrutos (FOS) detectados por HPLC. O método enzimático-gravimétrico determina apenas a fração solúvel da fibra com GP maior ou igual a 12, visto que tais fibras se solubilizam em álcool 78% e possuem baixo peso molecular, sendo perdidas na etapa de filtração. Como o yacon apresenta teor elevado de oligossacarídeos de baixo GP (3-10 monômeros), faz-se necessário empregar o método HPLC para detectar esses compostos.

A farinha de yacon desenvolvida fornece um elevado teor de fibra alimentar, especialmente a fração solúvel, podendo sugerir alegação de funcionalidade, conforme Resolução nº 359/2003 da ANVISA (BRASIL, 2003). Os teores de oligofrutos encontrados no presente estudo (25,7 g 100g⁻¹) foram superiores aos de Vasconcelos et al. (2010) que obteve 19,4 g 100g⁻¹, e inferiores aos de Genta et al. (2005) que encontrou 44,2 g 100g⁻¹. Estas variações podem ocorrer devido ao período de cultivo e da colheita, tempo de armazenamento e das condições de estocagem. Lobo et al. (2007) ao produzir uma farinha por meio do processo de liofilização, obtiveram um maior teor de oligofrutos (55,3 g 100g⁻¹). Embora a liofilização seja um método de secagem mais eficiente do que a secagem em estufa, sua utilização no processamento da farinha de yacon torna-se inviável na agroindústria por apresentar custo elevado.

A farinha de yacon apresentou-se como uma fonte promissora de oligofrutos, podendo ser utilizada como ingrediente para produzir alimentos

com efeito prebiótico e, ou simbiótico, ou seja, alimento formulado com um prebiótico e um probiótico.

6.2. Efeito da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio em modelo murino (estudo II)

O acréscimo da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, numa dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio não afetou o crescimento ($P>0,05$) dos animais, refletindo numa ingestão alimentar, CEA e ganho de peso similar entre os grupos experimentais. As dietas não afetaram o desempenho da função hepática. A literatura reporta um estudo em que foi avaliado o efeito do consumo prolongado da farinha de yacon (4 meses) nas doses de 0,6% e 13% de FOS e nenhum efeito tóxico foi observado, após avaliação das concentrações de proteínas totais, albumina, AST e ALT.

Nesta pesquisa, a deficiência de cálcio dietético (ingestão de 75% das recomendações) não afetou as propriedades biomecânicas ósseas dos animais. No entanto, o peso femural foi menor nos ratos que consumiram dieta com deficiência de cálcio ($P<0,05$), indicando que a ingestão inadequada deste mineral afeta o crescimento ósseo. O cálcio é um nutriente essencial para desenvolvimento e manutenção da massa óssea. Estudos experimentais e clínicos demonstraram que a deficiência de cálcio leva ao aumento da reabsorção e turnover ósseo, diminuição da massa óssea e aumento do risco de osteoporose (EGGER et al., 1994; SHAPSES et al., 1995; ABRAMS et al., 1997; TALBOTT, ROTHKOPF e SHAPSES, 1998).

Segundo Krall e Dawson-Hughes (2003) o peso corporal está diretamente relacionado com a densidade óssea, e o maior peso oferece proteção contra fraturas. O aumento da massa óssea na infância e adolescência pode ser obtido por meio da ingestão adequada de cálcio, o que auxilia na prevenção da osteoporose. Além disso, a inserção de FOS na dieta parece auxiliar na redução destas perdas (LOBO et al., 2007).

No presente estudo, constatou-se que a força de fratura e na retenção de cálcio e fósforo nos ossos aumentou com a adição de níveis crescentes da farinha de yacon nas dietas. Isso demonstra que o consumo de yacon na forma de farinha contribui para fortalecer a estrutura óssea e apresenta-se como um alimento funcional potencial, podendo ser utilizado para reduzir o risco do desenvolvimento de fraturas e doenças do tecido ósseo.

Tem sido relatado que o consumo de FOS pode aumentar a absorção de minerais devido ao seu caráter prebiótico. Quando esses carboidratos não digeríveis são fermentados pelas bactérias residentes no cólon há acidificação do meio, devido à formação de ácidos graxos de cadeia curta, que contribui para uma melhor solubilização e absorção dos minerais (SCHOLZ-AHRENS e SCHREZENMEIR, 2002; BONGERS e VAN DEN HEUVEL, 2003).

Neste estudo, verificou-se que houve redução nas concentrações séricas de triacilgliceróis nos grupos que receberam 75% da recomendação de cálcio. Hsu e Culley (2006) observaram que coelhos tratados com dieta depletada em 50% de cálcio durante 75 dias não tiveram alterações nos níveis de triacilgliceróis. Observou-se que as concentrações de triacilgliceróis reduziram também nos grupos que consumiram farinha de yacon, sendo que essa redução foi dose dependente, ou seja, de acordo com o aumento da farinha de yacon (FOS) na dieta. Genta et al. (2005) verificaram que a suplementação durante 4 meses da farinha de yacon (0,6% e 13% de FOS) reduziu significativamente as concentrações de triacilgliceróis em ratos.

6.3. Efeito de farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico (*B. longum*) e simbiótico em modelo murino (estudo III)

Durante todo o período experimental os animais mantiveram-se saudáveis, não apresentando nenhuma anormalidade comportamental. Neste estudo, os resultados do perfil de lipídios e dos indicadores da função hepática (AST, ALT e fosfatase alcalina) indicaram que o consumo das dietas experimentais não prejudicou o fígado no desempenho de suas funções. Não houve diferença ($P>0,05$) nas concentrações de AST, ALT e fosfatase alcalina. Embora tenha ocorrido aumento nas concentrações de proteínas totais e albumina nos animais que receberam probiótico, não houve diferença no ganho de peso e CEA entre os outros grupos experimentais ($P>0,05$), indicando ausência de toxicidade hepática durante os 28 dias de experimentação.

Nas propriedades biomecânicas do osso, observou-se uma tendência no aumento da força de fratura nos grupos prebiótico (8,1%), probiótico (8,6%) e simbiótico (14,6%), quando comparados ao controle. Do ponto de vista clínico, esse percentual de aumento na resistência óssea tem importante papel na redução do risco de doenças como osteoporose, uma vez que esta é caracterizada pela baixa massa óssea e deterioração da estrutura do tecido ósseo, o que leva a sua fragilidade tornando o osso mais susceptível a fraturas (RIZER, 2006). Os resultados obtidos por Lobo et al. (2007) corroboram com o presente estudo, pois ao avaliar o yacon somente na sua característica de prebiótico nas concentrações de 5% e 7,5% de FOS por 27 dias, foi constatado que o pico de carga e a rigidez foram maiores nos animais que receberam farinha de yacon, o que contribuiu para fortalecer a estrutura óssea do fêmur. Estudos clínicos são necessários para investigar se o consumo prolongado de prebiótico, probiótico e simbiótico contribuem para diminuir o risco de fratura óssea em função do aumento da resistência.

Nesta pesquisa, houve aumento das concentrações de cálcio, fósforo e magnésio na tíbia dos animais que consumiram probiótico e simbiótico. Esse resultado foi melhor que o encontrado no prebiótico, uma vez que esse grupo não diferiu estatisticamente do controle na retenção mineral. Estes dados, e também os obtidos na avaliação da força de fratura sugerem que o micro-

organismo probiótico consumido neste período de tempo, provavelmente, foi o responsável pelas diferenças observadas. Estudos têm indicado que, mesmo na ausência de prebiótico, o probiótico pode influenciar positivamente no crescimento ósseo, devido à capacidade destas bactérias em sintetizar diversas vitaminas necessárias para o crescimento e formação da matriz óssea tais como, vitaminas D, C, K e do complexo B (ARUNACHALAM, 1999; CRITTENDEN, MARTINEZ e PLAYNE, 2003). Além disso, bactérias bífidas são responsáveis pela produção de ácidos graxos de cadeia curta que atuam na redução do pH, favorecendo a solubilização de minerais e sua absorção pela via paracelular (OTHA et al., 1995; CAMPBELL, FAHEY e WOLF, 1997). O efeito prebiótico na modulação da retenção de minerais pode estar relacionado com a dose e o tipo de FOS avaliado. Pesquisas científicas disponíveis utilizam de uma forma geral FOS comercial purificado, e neste estudo, utilizou-se 4% de FOS presente numa matriz alimentar (farinha de yacon). Utilizando doses maiores (7,5%) Lobo et al. (2007) verificaram que o consumo de FOS da farinha de yacon aumentou a concentração de cálcio no fêmur e na tíbia de ratos. Portanto, para obtenção de resultados semelhantes somente pelo consumo da farinha de yacon seriam necessárias doses próximas de 7,5%. No entanto, doses elevadas de FOS geralmente resultam em flatulência e desconforto para o hospedeiro (BOUHNİK et al., 1999). Os resultados do presente estudo sugerem que o uso do simbiótico parece ser mais interessante que o prebiótico por aumentar significativamente a retenção de minerais nos ossos. Além de contribuir para uma melhor saúde óssea, a associação de uma menor dose de prebiótico ao probiótico poderia também evitar distúrbios gastrointestinais.

Tem sido reportado que a dieta pode modular a composição da microbiota intestinal (GIBSON e ROBERFROID, 1995; MANNING e GIBSON, 2004). Os metabólitos produzidos no processo de fermentação pelas bactérias intestinais, especialmente as do cólon, podem ser reabsorvidos e utilizados pelo hospedeiro, trazendo benefícios à sua saúde (BERNALIER-DONADILE, 2010). Sabe-se que o prebiótico tem função bifidogênica (BOUHNİK et al., 1999; KRUSE, KLEESSEN e BLAUT, 1999). Desta forma, o estímulo das bactérias bífidas no cólon aumenta o seu metabolismo e o acúmulo de AGCC que mantém o ambiente tamponado num meio ácido, facilitando a reabsorção de alguns minerais por se apresentarem na forma mais solubilizada. Neste estudo, o grupo

prebiótico teve uma contagem maior de anaeróbios totais que os demais grupos, sugerindo uma mudança na composição da microbiota intestinal. Todas as dietas testes, quando comparadas ao controle, apresentaram um percentual de redução no valor de pH (2,8% para prebiótico; 1,8% para probiótico e 2,0% para simbiótico) e aumento na concentração de propionato. Observou-se também, aumento na concentração de butirato nos animais dos grupos prebiótico e probiótico. Esses AGCC atuam na manutenção da saúde do colón pelo fornecimento de energia para células, estímulo da diferenciação e proliferação do epitélio, o que pode aumentar a capacidade de absorção (TUOHY et al., 2005; HIJOVA e CHMELAROVA, 2007). O peso do ceco foi maior nos animais que receberam prebiótico e simbiótico, provavelmente devido ao aumento da biomassa como resultado de uma maior fermentação no ceco. Esse efeito trófico, observado em estudos *in vivo* (LEVRAT, REMESY e DEMIGNE, 1991; CAMPBELL, FAHEY e WOLF, 1997), ocorre em função do aumento da produção de AGCC como resultado da atividade metabólica da microbiota intestinal, o que favorece também o aumento da área absorptiva. Os resultados obtidos por Lobo et al. (2007) corroboram com o presente estudo, pois foi constatado aumento no conteúdo cecal dos ratos que consumiram 5% e 7,5% de FOS da farinha de yacon. Recentemente, Weaver et al. (2010) verificaram uma correlação positiva entre o peso cecal e o conteúdo de cálcio no fêmur, sugerindo que o efeito osmótico, o aumento da hipertrofia ou permeabilidade dos enterócitos devido o consumo de prebióticos, podem estar envolvidos no aumento da absorção de minerais. Portanto, o peso do ceco parece ser um parâmetro importante na avaliação da saúde óssea.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio por 28 dias, não afetou as variáveis hepáticas e, portanto, não prejudicou o fígado no desempenho de suas funções.

A incorporação da farinha com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio afetou positivamente as propriedades biomecânicas ósseas, aumentando a força de fratura e a retenção de cálcio e fósforo nos ossos dos animais, com a adição de níveis crescentes da farinha de yacon na dieta. A associação da farinha de yacon com 4% de FOS + probiótico, também melhorou os parâmetros ósseos avaliados, aumentando a retenção de minerais (cálcio, fósforo e magnésio) e a resistência à fratura.

A farinha de yacon com 4% de FOS elevou a contagem de anaeróbios estritos e facultativos, aumentou o peso cecal e as concentrações de ácido propiônico e butírico, exercendo efeito positivo na modulação desses ácidos graxos de cadeia curta no ceco dos animais.

Os experimentos realizados nesta pesquisa constituem um indicativo de que o consumo da farinha de yacon, por 28 dias, pode melhorar a saúde óssea dos animais por aumentar a resistência a fratura e a retenção de minerais (cálcio, fósforo e magnésio) nos ossos.

Este estudo demonstrou que a farinha de yacon é um alimento com potencial prebiótico por apresentar 25,7% de FOS. Devido à versatilidade que a farinha possui de ser incorporada a vários tipos de produtos, o yacon nesta forma pode contribuir para o desenvolvimento de vários alimentos com alegação de propriedades funcionais, como por exemplo, alimentos simbióticos (prebiótico + probiótico).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS S. A.; GRUSAK M. A.; STUFF J.; BRIEN, K.O.O. Calcium and magnesium balance in 9-14 y-old children. **American Journal Clinical of Nutrition**, v. 66, p. 1172-1177, 1997.

ABRAMS, S. A.; I. GRIFFIN, J.; HAWTHORNE, K. M.; LIANG, L.; GUNN, S. K.; DARLINGTON, G.; ELLIS, K. J. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 2, p. 471-476. 2005.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 109, n. 4, p. 735-746, 2009.

ANDERSON, J.W.; JONES, A. E.; RIDDELL-MASON, S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. **Journal of Nutrition**, v. 124, p. 78-83, 1994.

ANDRADE, S.; BORGES, N. Effect of fermented Milk containing Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium logum on plasma lipid of women with normal or moderately elevated cholesterol. **Journal of Dairy Research**, v. 76, p. 469-474, 2009.

ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária. 2008. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos VIII - Lista dos Novos Alimentos aprovados.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_alimentos.htm>. Acesso em: 20 de maio de 2010.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the association.** 16ª ed. Washington. 2002.

ARRUDA, L. L. M.; MAGON, T. F. S.; BARONI, S.; AMADO, C. A. B.; ASSEF, S. M. C. Estudo da atividade antiinflamatória do extrato bruto das folhas de *Smallanthus sonchifolius* (yacon). XVI ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2007. Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2007.

ARSLANOGLU, S.; MORO, G. E.; SCHMITT, J.; TANDOI, L.; RIZZARDI, S.; BOEHM, G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. **Journal of Nutrition**, v. 138, p. 1091-1095, 2008.

ARSLANOGLU, S.; MORO, G.; BOEHM G. Early supplementation of prebiotic oligosaccharides protects formula-fed infants against infections during the first. **Journal of Nutrition**, v.137, p. 2420-2024, 2007.

ARUNACHALAM, K. D. Role of Bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, v.19, n. 10, p.1559-97, 1999.

ASAMI, T.; KUBOTA, M.; MINAMISAWA, K.; TSUKIHASHI, T. Chemical composition of yacon, a new root crops from the Andean Highland. **Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.60, p.122-126. 1989.

AYBAR, M. J. ; RIERA, A. N. S. ; GRAU, A. ; SANCHEZ, S. S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, n.2, p.125-132. 2001.

AZORÍN-ORTUÑO, M.; URBÁN, C.; CERÓN, J. J.; TECLES, F.; ALLENDE, A.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPIN, J. C. Effect of low inulin doses with different polymerisation degree on lipid metabolism, mineral absorption, and intestinal microbiota in rats with fat-supplemented diet. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1058-65, 2009.

BARTRAM, H. P.; SCHEPPACH, W.; GERLACH, S.; RUCKDESCHEL, G.; KEKBER, E.; KASPER, H. Does yogurt enriched with *Bifidobacterium longum* affect colonic microbiology and fecal metabolites in healthy subjects? . **American Journal Clinical Nutrition**, v. 59, p. 428-432, 1994.

BERNALIER-DONADILLE, A. Fermentative metabolism by the human gut microbiota. **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, v. 34, n. 1, p. 16-22, 2010.

BOLLAND, M. J.; AVENELL, A.; BARON, J. A.; GREY, A.; MACLENNAN, G. S.; GAMBLE, G. D.; REID, I. R. Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 341, p. 1-9, 2010.

BONGERS, A.; VAN DEN HEUVEL, E. G. H. M. Prebiotics and the Bioavailability of Minerals and Trace Elements. **Food Reviews International**, v. 19, n. 4, p. 397–422, 2003.

BOSSCHER, D.; LOO, J. V.; FRANCK, A. Inulin and oligofructose as prebiotics in the prevention of intestinal infections and diseases. **Nutrition Research Reviews**, v.19, n. 2, p. 216-226, 2006.

BOSTICK, R. M.; FOSDICK, L.; GRANDITS, G. A.; GRAMBSCH, P.; GROSS, M.; LOUIS, T. A. Effect of calcium supplementation on serum cholesterol and blood pressure. **Archives Family Medicine**, v. 9, p. 31-39, 2009.

BOUHNİK, Y.; ACHOUR, L.; PAINEAU, D.; RIOTTOT, M.; ATTAR, A.; BORNET, F. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. **Journal Nutrition**, v. 6, n. 42, p. 1-7, 2007.

BOUHNİK, Y.; RASKINE, L.; SIMONEAU, G.; VICAUT, E.; NEUT, C.; FLOURIÉ, B.; BROUNS, F. BORNET F. R. The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 1658-1664, 2004.

BOUHNİK, Y.; VAHEDI, K.; ACHOUR, L.; ATTAR, A.; SALFATI, J.; POCHART, P.; MARTEAU, P.; FLOURIE, B.; RAMBAUD, F. B. Short-Chain Fructo-Oligosaccharide Administration Dose-Dependently Increases Fecal Bifidobacteria in Healthy Humans. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 1, p. 113-116, 1999.

BOUVIER, M.; MEANCE, S.; BOULEY, C.; BERTA, J.; GRIMANUD, J. Effects of consumption of a milk fermented by the probiotic. **Bioscience Microflora**, v. 20, n. 2, p. 43-48, 2001.

BRASIL - Ministério da Saúde. Portaria nº 354, de 18 de julho de 1996. **Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 12 de junho de 2010.

BRASIL - Ministério da Saúde. Portaria nº. 27, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 de junho de 2010.

BRASIL - Ministério da Saúde. Resolução nº 19, 10 de dezembro de 1999. **Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 16 de junho de 2010.

BRASIL - Resolução RDC nº 360, de 23 de dez. de 2003. **Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 24 de agosto de 2010.

BRIGHENTI, F. Dietary fructans and serum triacylglycerols: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2552-2556, 2007.

BRUZZESE, E.; VOLPICELLI, M.; SQUAGLIA, M.; TARTAGLIONE, A.; GUARINO, A. Impact of prebiotics on human health. **Digestive and Liver Disease**, v. 38, n. 2, p. 283-287, 2006.

BÚRIGO, T.; FAGUNDES, R. L. M.; TRINDADE, E. B. S. M.; VASCONCELOS, H. C. F. F. Efeito bifidogênico do fruto-oligossacarídeo na microbiota intestinal de pacientes com neoplasia hematológica. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 5, p. 491-497, 2007.

BUZINARO, E. F.; ALMEIDA, R. N. A.; MAZETO, G. M. F. S. Biodisponibilidade do cálcio dietético. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, n. 5, p. 852-861, 2006

CAMPBELL, J. M.; FAHEY, G. C.; WOLF, B. W. selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. **Journal of Nutrition**, v. 127, n. 1, p.130-136, 1997.

CAPITO, S. M. P. **Raiz tuberosa de yacon (*Polymnia sonchifolia*): Caracterização química e métodos de determinação de frutanos (CG e CLAE-DPA)**. 2001. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, 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.

CHEN, R. M.; WU, J. J.; LEE, S. C.; HUANG, A. H.; WU, H. M. Increase of intestinal *Bifidobacterium* and suppression of coliform bacteria with short-term yogurt ingestion. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 2308–2314, 1999.

CHOURAQUI, J.P.; GRATHWOHL, D.; LABAUNE, J. M.; HASCOET, J. M.; MONTGOLFIER, I.; LECLAIRE, M.; GIARRE, M.; STEENHOUT P. Assessment of the safety, tolerance, and protective effect against diarrhea of infant formulas containing mixtures of probiotics or probiotics and prebiotics in a randomized controlled Trial. **Journal of Nutrition**, v. 87, n. 1, p.1365-1373, 2008.

COSTA, N. M. B. C. Minerais. In: COSTA N.M.B.C.; PELÚZIO M. C. G. **Nutrição Básica e Metabolismo**. 1ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. p. 263-359.

COSTA, N. M. B.; MARTINO, H. S. D. Biodisponibilidade de minerais. In: Silva, S. M. C.; Mura, J. D. P. (Org.). **Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2011, cap. 8, p. 107-134.

COUDRAY, C.; BELLANGER, J.; CASTIGLIA-DELAVALD, C.; RÉMÉSY, C.; VERMOREL, M.; RAYSSIGNUIER, Y. Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. **European Journal Clinical Nutrition**, v. 51, n. 6, p. 375-80, 1997.

COUDRAY, C.; DEMIGNE, C.; RAYSSIGUIER Y. Effects of Dietary Fibers on Magnesium Absorption in Animals and Humans. **Journal of Nutrition**, n. 133, p. 1–4, 2003.

CRITTENDEN, R. G.; MARTINEZ, N. R.; PLAYNE, M. J. Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 80, n. 3, p. 217-22, 2003.

DAVIDSON, M. H.; DUGAN, L. D.; STOCKI, J.; DICKLIN, M. R.; MAKI, K. C.; COLETTA, F.; COTTER, R.; MCLEOD, M.; HOERSTEN, K. A Low-viscosity soluble-fiber fruit juice supplement fails to lower cholesterol in hypercholesterolemic men and women. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 11, p. 1927-1932, 1998.

DELZENNE, N., KOK, N. Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1467-1470, 1999.

DZAZIO, C. H.; MACEDO, D. C.; COSTA; J. A.; ANJOS, M. M.; FRANCISCO, A. C. Análise de aceitação e elaboração do pão integral com batata yacon (*Polymnia sonchifolia*) *in natura*. V SEMANA DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS. 2007, Ponta Grossa. **Resumo...** Ponta Grossa: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2007.

EGGER, C. D.; MUHLBAUER, R. C.; FELIX, R.; DELMAS, P. D.; MARKS, S. C.; FLEISCH, H. Evaluation of urinary pyridinium crosslink excretion as a marker of bone resorption in the rat. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 9, p. 1211–1219, 1994.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. J. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid gas chromatography. **Dairy Science**, v. 44, p. 1768-1771, 1961.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2002. **Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelinespdf . Acesso em: 30 de junho 2010.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS)**. 2007. Disponível em: http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf. Acesso: 26 jun. 2010.

FERREIRA, C. L. L. F. Grupo de bactérias lácticas – caracterização e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. In: FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa: UFV, 2003. cap. 1, p. 7-34.

FERREIRA, C. L. L.; TESHIMA, E.; COSTA, N. M. B. Effect of probiotic, prebiotic synbiotic on colon and cecum microbiota of rats. . **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 3, n. 2, p. 71-76, 2008.

FLEISCHMAN, A. I.; YACOWITZ, H.; HAYTON, T.; BIERENBAUM, M.L. Effects of dietary calcium upon lipid metabolism in mature male rats fed beef tallow. **Journal of Nutritional**, v. 88, n. 3, p.255-60, 1966.

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

GAURNER, F. Inulin and oligofructose: impact on intestinal diseases and disorders. **Bristish Journal of Nutrition**, v. 93, n. 1, p. 61-65, 2005.

GAW, A.; COWAN, R. A. O'. REILLY, D. St. J.; STEWART, M. J.; SHEPHERD, J. **Bioquímica clínica**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1999. p. 50-51.

GEIER, M. S.; BUTLER, R. N.; HOWARTH, G. S. Inflammatory bowel disease: Current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics,

prebiotics and synbiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v.115, n.1, p.1-11. 2007.

GENTA, S. B.; CABRERA, W. M.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. S. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. **Food Chemical Toxicology**, v. 43, n. 11, p. 1657-1665, 2005.

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

GIBSON, G. R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition**, v. 1, n. 2, p. 25-31, 2004.

GIBSON, G. R.; FULLER, R. Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 2, p. 391-395, 2000.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; PROBERT, H.M.; LOO, J.V.; RASTALL, R. A.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research**, v.17, n. 2, p. 259-275, 2004.

GRAEFE, S.; HERMANN, M.; MANRIQUE, I.; GOLOMBEK, S.; BUERKERT, A. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. **Field Crops Research**, v. 86, p.157-165, 2004.

GRANATO, D.; PIEKARSKI, F. V. B. W.; BENINCÁ, C.; MASSON, M. L. Doce dietético misto de yacon e maracujá: avaliação da aceitabilidade e da estabilidade físico-química sob refrigeração. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 3, p. 200-204, 2009.

GULLBERG, B.; JOHNNELL, O.; KANIS, J. A. World-wide projections for hip fracture. **Osteoporosis International**, v. 7, p. 407-13, 1997.

HEANEY, R. P. Biologia óssea na saúde e na doença: guia didático. In: SHILS, M.E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 1417-1429.

HIJOVA, E.; CHMELAROVA, A. Short chain fatty acids and colonic health. **Bratislava Lek Listy**, v. 108, p. 354-358, 2007.

HSU, H. HT.; CULLEY, N. C. Effects of dietary calcium on atherosclerosis, aortic calcification, and icterus in rabbits fed a supplemental cholesterol diet. **Lipids in Health and Disease**, v. 5, n. 16, p. 1-9, 2006.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorous, Magnesium, Vitamin D, and Fluorid**. Washington, D.C.: National Academy Press, 1997.

JÁUREGUI, A. M. M.; RAMOS-ESCUADERO, D. F.; URETA, C. A-O.; CASTAÑEDA, B. C. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. **Revista de la Sociedade Química del Perú**, v. 73, n. 3, p. 142-149, 2007.

JORDÃO, R. E.; BERNARDI, J. L. D.; BARROS FILHO, A. A. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, n. 1, p. 90-98, 2009.

JOUNG, H.; KWON, D-Y.; CHO, J-G.; SHIN, D-Y.; CHUN, S-S.; YU, Y-B.; SHIN, D-W. Antibacterial and synergistic effects of *Smallanthus sonchifolius* leaf extratcts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* under light intensity. **Journal of Natural Medicines**, v. 64, p. 212-215, 2010.

KANEKO J. J.; HARVEY, D. W.; BRUSS, W. L. **Clinical bioquemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. 932p.

KELLY, D.; KING, T.; AMINOV, R. Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity. **Mutation Research**, v. 622, p. 58-69, 2007.

KIM, J. G.; LEE, E.; KIM, S. H.; WHANG, K. Y.; OH, S.; IMMD, J. Effects of a *Lactobacillus casei* 393 fermented milk product on bone metabolism in ovariectomised rats. **International Dairy Journal**, v. 19, p.690–695, 2009.

KIM, M.; SHIN, H. S. The water-soluble extract of chicory influences serum and liver lipid concentrations, cecal short-chain fatty acid concentrations and fecal lipid excretion in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1731–1736, 1998.

KLAVER, F. A. M.; MEER, R. V. D. The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and bifidobacterium bifidum is due to their salt desconjugation activity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 1120-1124, 1993.

KNOCHEL, P. J. Fósforo In: SHILS, M.E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 169-179.

KRALL, E. A.; DAWSON-HUGHES, B. Osteoporose. In: SHILS, M.E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 1455-1457.

KROMHOUT, D.; BOSSCHIETER, E. B.; COULANDEN, C. L. Potassium, calcium, alcohol intake and blood pressure: The Zutphen study. **American Journal Clinical Nutrition**, n.41, p.1299-304, 1985.

KRUGER, M. C.; BROWN, K. E.; COLLETT, G.; LAYTON, L.; SCHOLLUM, L. M. The effect of fructooligosaccharides with various degrees of polymerization on calcium bioavailability in the growing rat. **Experimental Biology and Medicine**, v. 228, p. 683-688, 2003.

KRUSE, H.; KLEESSEN, B.; BLAUT, B. Effects of inulin on faecal bifidobacteria in human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 82, p. 375-382, 1999.

LACHMAN, J.; HAVRLAND, B.; FERNÁNDEZ, E.C.; DUDJAK, J. Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. **Plant, Soil and Environment**, v. 50, n. 9, p. 383–390, 2004.

LAGO, C. C. **Estudo do suco concentrado e da polpa do yacon. (*Smallanthus sonchifolius*)**. 2010.105f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2010.

LEVRAT, M. A.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. **Journal of Nutrition**, v. 121, n. 11, p. 1730-1737, 1991.

LOBO, A. R.; COCATO, M. L.; JORGETTI, V.; SÁ, L. R. M.; NAKANOD, E. Y.; COLLI, C. Changes in bone mass, biomechanical properties, and microarchitecture of calcium- and iron-deficient rats fed diets supplemented with inulin-type fructans. **Nutrition Research**, v. 29, p. 873–881, 2009.

LOBO, A. R.; COLLI, C.; FILISETTI, T. M. C. C. Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. **Nutrition research**, v. 26, n. 8, p. 413-420, 2006.

LOBO, A. R.; MANCINI FILHO, J.; ALVARES, E. P.; COCATO, M. L.; CÉLIA COLLI, C. Effects of dietary lipid composition and inulin-type fructans on mineral bioavailability in growing rats. **Nutrition**, v. 25, p. 216–225, 2009.

LOBO, A.; COLLI C.; ALVARES, E. P.; FILISETTI, T. M. C. C. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 776-785, 2007.

MA, K. Y.; YANG, N.; JIAO, R.; PENG, C.; GUAN, L.; HUANG, Y.; CHEN, Z. Dietary calcium decreases plasma cholesterol by down-regulation of intestinal Niemann–Pick C1 like 1 and microsomal triacylglycerol transport protein and up-

regulation of CYP7A1 and ABCG 5/8 in hamsters. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 55, p. 247–258, 2011.

MAGON, T. F. S.; ARRUDA, L. L. M.; MELO, J. O.; AMADO, C. A. B.; ASSEF, S. M. C. Estudo da atividade antiulcerogênica do extrato bruto das folhas de *Smallanthus sonchifolius* (yacon). XVI ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2007. Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2007.

MALDONADO, S.; SINGH, J. C. Efeito de gelificante na formulação do doce do yacon. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n. 2, p. 429-434, 2008.

MALEKZADEH, J. M.; KESHAVERZ, A.; SIASSI, F.; KADKHODAEI, M.; ESHRAGHIAN, M. R.; DOROSTI-MOTLAGH, A. R.; ALIEHPOOR, A.; CHAMARI, M. Effects of dietary calcium on concentrations of lipids, glucose and insulin in male Sprague-Dawely rats. **Atherosclerosis Journal**, v. 3, n. 1, p. 14-20, 2007.

MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Prebiotics. **Best practice & research Clinical gastroenterology**, v. 18, n. 2, p. 287-298, 2004.

MANRIQUE, I.; PÁRRAGA A.; HERMANN, M. 2005. In: La matéria prima. **Jarabe de yacón: principios y procesamiento**. Lima: Fundación Erbacher, 2005. p. 3-7.

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

MARRA, C. A.; ALANIZ, M. J. T. Calcium deficiency modifies polyunsaturated fatty acid metabolism in growing rats. **Lipids**, v. 35, n. 9, 2000.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária**. Interpretação e diagnóstico. São Paulo: Roca, 1995. 308p.

MOROHASHI, T.; SANO, T.; OHTA, A.; YAMADA, S. True calcium absorption in the intestine is enhanced by fructooligosaccharide feeding in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1815–1818, 1998.

MOSCATTO, J. A.; BORSATO, D.; BONA, E.; OLIVEIRA, A. S.; HAULY, M. C. O. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 41, n. 2, p. 181-188, 2006.

MOSCATTO, J.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S.; HAULY, M. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 634, 2004.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para laboratório: princípios e interpretações**. 4.ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003. 419 p.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWEL, V. W. **Harper: Biochemistry**. São Paulo: Atheneu, 1994.

MUSSO, C.G. Magnesium metabolism in health and disease. **International Urology and Nephrology**, n.41, p. 357–362, 2009.

NARUSZEWICZ, M.; JOHANSSON, M. L.; ZAPOLSKA-DOWNAR, D.; BUKOWSKA H. Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 76, p. 1249–1255, 2002.

NETO, A. M. P.; SOARES, A.; URBANETZ, A. A. et al. Consenso brasileiro de osteoporose 2002. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 42, n. 6, p. 343-354, 2002.

OHTA, A.; OHTSUKI, M.; BABA, S.; ADACH, T.; SAKATA, T.; SAKAGUCHI, E. Calcium and Magnesium Absorption from the Colon and Rectum Are Increased

in Rats Fed Fructooligosaccharides. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 9, p. 2417-2424, 1995.

OJANSIVU, I.; FERREIRA, C. L.; SALMINEN, S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 1, p. 40-46, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; NISHIMOTO, E. K. Caracterização e quantificação dos carboidratos de reservas das raízes de yacon (*Polymnia sonchifolia*) mantidas sob condições ambientais e refrigeração. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 1, p. 30-39, 2005.

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

OTHA, A.; MOTOHASHI, Y.; OHTSUKI, M.; HIRAYAMA, M. ADACHI, A.; SAKUMA, K. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats. **Journal Nutricional**, v. 128, p. 934-939, 1998.

PADILHA, V. M.; ROLIM, P. M.; SALGADO, S. M.; LIVERA, A. S.; ANDRADE, S. A. C.; GUERRA, N. B. Perfil sensorial de bolos de chocolate formulados com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 735-740, 2010.

PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D.; NORATTO, G.; CHIRINOS, R.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Andean Yacon Root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) Fructooligosaccharides as a Potential Novel Source of Prebiotics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5278-5284, 2003.

PERAN, L.; CAMUESCO, D.; COMALADA, M.; BAILON, E.; HENRIKSSON, A.; XAUS, J.; ZARZUELO, A.; GALVEZ, J. A comparative study of the preventative effects exerted by three probiotics, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*, in the TNBS model of rat colitis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 836-844, 2007.

PÉREZ-CONESA, D.; LÓPEZ, G.; ABELL, P.; ROS, G. Bioavailability of calcium, magnesium and phosphorus in rats fed probiotic, prebiotic and synbiotic powder follow-up infant formulas and their effect on physiological and nutritional parameters. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 2327–2336, 2006.

PEREZ-CONESA, D.; LOPEZ, G.; ROS, G. Effects of probiotic, prebiotic and synbiotic follow-up infant formulas on large intestine morphology and bone mineralisation in rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 1059-68, 2007.

PINHEIRO, M. M.; CICONELLI, R. M.; MARTINI, L. A.; FERRAZ, M. B. Clinical risk factors for osteoporotic fractures in Brazilian women and men: the Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Osteoporosis International**, n. 20, v. 3, p. 399-408, 2009.

PRATI, P.; BERBARI, S. A. G.; PACHECO, M. T. B.; SILVA, M. G.; NACAZUME, N. Estabilidade dos componentes funcionais de geléia de yacon, goiaba e acerola, sem adição de açúcares. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 285-294, 2009.

RAFTER, J.; BENNETT, M.; CADERNI, G.; CLUNE, Y.; HUGHES, R.; KARLSSON, P. C.; KLINDER, A.; O'RIORDAN, M.; O'SULLIVAN, G. C.; POOL-ZOBEL, B.; RECHKEMMER, G.; ROLLER, M.; ROWLAND, I.; SALVADORI, M.; THIJS, H. VAN LOO, J.; WATZL, B.; COLLINS, J. K. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, n. 2, p. 488-496. 2007.

RASCHKA, L.; DANIEL H. Mechanisms underlying the effects of inulin-type fructans on calcium absorption in the large intestine of rats. **Bone**, v. 37, p. 728-735, 2005.

REDDY, B. S. Prevention of colon cancer by pre and probiotics: evidence from laboratory studies. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 2, p. 219-223, 1998.

REEVES, P.; NIELSEN, F.; FAHEY, G. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. . **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

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

RIZER, M. K. Osteoporosis. **Primary Care Clinics in Office Practice**, v. 33, p. 943-951, 2006.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, n. 2, p.105-110, 2002.

ROLIM, P. M. **Aspectos sensoriais e funcionais de pães com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. 2008. 114f. Dissertação (Mestrado em Nutrição). Universidade Federal do Pernambuco, Recife, PE, 2008.

ROLIM, P. M.; SALGADO, S. M.; PADILHA, V. M.; LIVERA, A. V. S.; GUERRA, N.B.; ANDRADE, S. A. C. Análise de componentes principais de pães de forma formulados com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.) **Revista Ceres**, v. 57, n.1, p. 12-17, 2010.

ROSA, C. S.; OLIVEIRA, V. R.; VIERA, V. B.; GRESSLERII, C.; VIEGAI, S. Elaboração de bolo com farinha de yacon. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p.1869-1872, 2009.

SALES, R. L.; RODRIGUES, F. C.; COSTA, N. M. B.; FERREIRA, C. L. L. F. In: Yacon: aspectos nutricionais, tecnológicos e funcionais. **Alimentos Funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2010. 1ª ed., p. 229-242.

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, 2008.

SANTOS, F. L.; FERREIRA, C. L. L. F.; COSTA, N. M. B. Modulação da colesterolemia por meio de prebióticos e probióticos. In: FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa: UFV, 2003. cap. 3, p. 66.

SANTOS, J. E.; GUIMARAES, A. C.; DIAMENT, J. Consenso brasileiro sobre dislipidemias: detecção, avaliação e tratamento. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia & Metabologia**, v. 43, n. 4, p. 287-305, 1999.

SAS - Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.

SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHAAFSMA, G.; VAN DEN HEUVEL, E. G. H. M.; SCHREZENMEIR, J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 459-464, 2001.

SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism - experimental data and mechanism. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 179-186, 2002.

SCHRAGER, S. Dietary Calcium Intake and Obesity. **Journal of the American Board of Family Practice**, v. 18, p. 205–210, 2005.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.

SHAPSES, S. A.; ROBINS, S. P.; SCHWARTZ, E. I.; CHOWDHURY, H. Short-term changes in calcium but not protein intake alter the rate of bone resorption in healthy subjects as assessed by urinary pyridinium cross-link excretion. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 2814–2821, 1995.

SHIGA, K.; HARA, H.; TAKAHASHI, T.; AOYAMA, Y.; FURUTA, H.; MAEDA, H. Ingestion of water-soluble soybean fiber improves gastrectomy-induced calcium malabsorption and osteopenia in rats. **Nutrition**, v. 18, n. 7-8, p. 636-642, 2002.

SILVA, A. S. S.; HAAS, P.; BEBER, R. C.; BATISTA, S. M. M.; ANTON, A. A.; FRANCISCO, A. Avaliação da resposta glicêmica em mulheres saudáveis após a ingestão de yacon (*Smallantus sonchifollius*) *in natura*, cultivadas no estado de Santa Catarina – Brasil. **Alimentos & Nutrição**, v.17, n. 2, p.137-142, 2006.

SILVA, E. B. **Processamento de bebida funcional e do yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepping & Endlicher)**. 2004. 96f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2004.

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. 122f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP, 2009.

SINGH, J.; RIVENSON, A.; TOMITA, M.; SHIMAMURA, S.; ISHIBASHI, N.; REDDY, B. S. *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 4, p. 833-841, 1997.

SMILOWITZ, J. T.; WIEST, M. M.; TEEGARDEN, D.; ZEMEL, M. B.; GERMAN, J. B.; LOAN, M. D. V. Dietary fat and not calcium supplementation or dairy product consumption is associated with changes in anthropometrics during a randomized, placebo controlled energy-restriction trial. **Nutrition & Metabolism**, v. 8, n. 67, p. 1-10, 2011.

SMIRICKY-TJARDES, M. R.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; FAHEY JR., G. C. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. **Journal Animal Science**, v. 81, p. 2535-2545, 2003.

SWAMINATHAN, R. Biochemical markers of bone turnover. **Clinica Chimica Acta**, n. 313, p. 95-105, 2001.

TAKAHARA, S.; MOROHASHI, T.; SANO, T.; OHTA, A.; YAMADA, S.; SASA, R. Fructooligosaccharide consumption enhances femoral bone volume and mineral concentrations in rats. **Journal of Nutrition**, v. 130, p.1792-1795, 2000.

TALBOTT, S. M.; MICHAEL M. ROTHKOPF, M. M.; SHAPSES, S. A. Dietary restriction of energy and calcium alters bone turnover and density in younger and older female rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 640–645, 1998.

TARANTO, M. P.; SESMA, F.; HOLGADO, A. P. R.; VALDEZ, G. F. Bile salts hydrolase plays a key role on cholesterol removal by *Lactobacillus reuti*. **Biothechnoloy Letters**, v. 19, p. 845-847, 1997.

TERRAVIVA 2671, 26/01/2007. **Terra Viva Consultoria Empresarial**. Brasília. Disponível em:<<http://www.terraviva.com.br/terraviva/selectus,,,2671.html>>. Acesso em: 21 set. 2010

TESHIMA, E. **Seleção de bactérias bífidas isoladas de lactentes e modulação da microbiota intestinal por meio de probiótico, prebiótico e simbiótico**. 2001. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2001.

TRAUTWEIN, E. A.; RIECKHOFF , D.; ERBERSDOBLER, H. F. Dietary inulin lowers plasma cholesterol and triacylglycerol and alters biliary bile acid profile in hamsters. **Journal of Nutrition**, v. 128, p.1937-1943, 1998.

TSANZI, E.; LIGHT, H. R.; TOU, J. C. The effect of feeding different sugar-sweetened beverages to growing female Sprague–Dawley rats on bone mass and strength. **Bone**, v. 42, n. 5, p. 960-968, 2008.

TUOHY, K. M.; ROUZAUD, G. C.; BRUCK, W. M.; GIBSON, G. Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics-assessment of efficacy. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, p. 75-90, 2005.

VALENTOVA, K.; CVAK, L.; MUCK, A.; ULRICHOVA, J.;SIMANEK, V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. **European Journal of Nutrition**, v. 42, p. 61–66, 2003.

VALENTOVÁ, K.; MONCION, A.; WAZIERS, I.; ULRICHOVA, J. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts on rat hepatic metabolism. **Cell Biology and Toxicology**, v. 20, p. 109-120, 2004.

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

VANHOOF, K.; SCHRIJVER, R. Effect of unprocessed and baked inulin on lipid metabolism in normo and hypercholesterolemic rats. **Nutrition Research**, v. 15, n.11, p. 1637-1646, 1995.

VANIN, M.; BARBIER, R. L.; CEOLIN, T.; HECK, R. M.; MESQUITA, A. K. A relação do tubérculo andino yacon com a saúde humana. **Ciência, Cuidado & Saúde**, v.8, p. 92-96, 2009.

VASCONCELOS, C. M.; SILVA, C. O.; TEIXEIRA, L. J. Q.; CHAVES, J. B. P.; MARTINO, H. S. D. Determinação da fração da fibra alimentar solúvel em raiz e farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) pelo método enzimático-gravimétrico e cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, p. 188-193, 2010.

VENTURA, F. **Desenvolvimento de doce de fruta em massa funcional de valor calórico reduzido, pela combinação de goiaba vermelha e yacon desidratados osmoticamente e acerola**. 2001. 194f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2001.

VILHENA, S.; CAMARA, F.; KAKIHARA, S. O cultivo do yacon no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 18, n. 1, p. 5-8, 2000.

VILLIERS, T. J. Bone health and osteoporosis in postmenopausal women. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, n. 23, p. 73–85, 2009.

VOLPATO, G. T.; VIEIRA, F. L.; DAMASCENO, D. C.; CÂMARA, F. L. A.; DI STASI, L. C.; LEMONICA, I. P. Efeito do extrato aquoso de folhas de *Polymnia*

sonchifolia (yacon) em ratas diabéticas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 2, p. 88-93, 2007.

WEAVER, C. M.; MARTIN, B. R.; STORY, J. A.; HUTCHINSON, I.; SANDERS, L. Novel Fibers Increase Bone Calcium Content and Strength beyond Efficiency of Large Intestine Fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 16, p. 8952-8957, 2010.

WEAVER, C.; HEANEY, R. P. Cálcio. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 153-168.

WHO - World Health Organization. 2003. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. World Health Organization, Geneva. Disponível em <http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_916.pdf>. Acesso em: 15 de abril de 2011.

WOLF, B. W.; FIRKINS, J. L.; ZHANG, X. Varying dietary concentrations of fructooligosaccharides affect apparent absorption and balance of minerals in growing rats. **Nutrition Research**, v.18, n.10, p.1791-1806, 1998.

WONG, J. M.; KENDALL, C. W.; SOUZA, R.; EMAM, A.; MARCHIE, A.; VIDGENA, E.; HOLMES, C.; JENKINS, D. J. The effect on the blood lipid profile of soy foods combined with a prebiotic: a randomized controlled trial. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 59, p. 1331-1340, 2010.

YOUNES, H.; COUDRAY, C.; BELLANGER, J.; DEMIGNE, C. RAYSSIGUIER, Y.; REMESY, C. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 479-485, 2001.

ZAFAR, T. A.; WEAVER, C. M.; ZHAO, Y.; MARTIN, B. R.; WASTNEY, M. E. Nondigestible oligosaccharides increase calcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats. **Journal Nutrition**, v. 134, p. 399-402, 2004.

ZEMEL, M. B. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 79, p. 907-912, 2004.

9. ANEXOS

9.1. Publicações originais

9.1.1. Yacon como alimento funcional: fonte de prebiótico

Fabiana Carvalho Rodrigues, João Thomas Borges, Mônica Ribeiro Pirozi,

Celia Lucia de Luces Fortes Ferreira

Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção. Rio de Janeiro: Editora Rúbio,
capítulo 8, p. 130-143, 2010.

INTRODUÇÃO

O conceito da função de alimento tem apresentado mudanças consideráveis partindo da ênfase na sobrevivência, satisfação da fome, manutenção da saúde e chegando ao atual conceito que enfatiza o uso de alimentos que promovam saúde, bem-estar e ao mesmo tempo, diminuem o risco de doenças crônicas como, por exemplo, as doenças cardiovasculares, alguns tipos de cânceres e obesidade. Da mesma forma, o conceito saúde como ausência de doença inclui atualmente o bem-estar físico, mental, fisiológico e assim o alimento passa a ter um papel na qualidade de vida das pessoas.¹ Esse novo conceito de alimento, como funcional, responde às necessidades do público em geral, e em especial, às necessidades dos idosos cujo contingente tem crescido em todo o mundo, melhorando sua qualidade de vida. Essa tendência estabelece a relação do alimento com nutrição e saúde, e tem justificado o aumento observado na procura e na disponibilidade de alimentos funcionais nos mercados mundiais.

Este capítulo enfatiza a importância atual dos alimentos funcionais e indica as características do yacon como alimento funcional, fonte de prebiótico.

ALIMENTOS FUNCIONAIS

O conceito de alimentos funcionais surgiu no Japão em 1989, quando o governo preocupado com o aumento nos gastos com saúde pública induzidos pelo aumento de doenças crônicas e do contingente dos cidadãos de terceira idade, propôs à indústria o desenvolvimento de alimentos que além de nutrir apresentassem efeitos fisiológicos, promovendo a manutenção da saúde e o bem-estar da população. Esse desafio culminou com a colocação no mercado dos alimentos *foshu* – “alimentos com uso especial para a saúde”.² Os alimentos *foshu* e os novos conceitos de alimento e saúde deram origem aos alimentos funcionais no mundo ocidental.

Os alimentos funcionais incluem vários componentes, nutricionais ou não, que afetam o bem-estar do homem e sua saúde, podendo diminuir os riscos de determinadas doenças. Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que além de nutrir afeta benéficamente uma ou mais funções no organismo humano, promovendo seu bem-estar e/ou reduzindo risco de uma doença.^{3,4} No Brasil, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) alimento funcional é definido como “alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica”.⁵

Os alimentos/ingredientes funcionais são divididos em diferentes classes: fitoestrógenos, ácidos fenólicos, tióis, carotenóides, proteínas de soja, micro-organismos (dentre os quais probióticos), fibras dietéticas (dentre as quais os ingredientes prebióticos).⁶

Prebiótico

O termo prebiótico foi primeiramente definido por Gibson & Roberfroid (1995)³ como “ingrediente alimentar não digerível que afeta benéficamente o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de um ou de um número limitado de bactérias no cólon”. Posteriormente, o termo foi redefinido como “ingrediente alimentar não digerível pelo hospedeiro, seletivamente fermentado no cólon que permite mudanças específicas, ambas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, conferindo benefícios à saúde e bem-estar do hospedeiro”.⁷ De acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação),⁸ “prebiótico é um componente alimentar não viável que confere à saúde do hospedeiro benefícios associados à “modulação de sua microbiota”. Além disso, esse componente não deve ser totalmente absorvido ou digerido no intestino delgado, o que indica portanto, ser atuante no cólon. Embora os prebióticos atuem mais frequentemente no cólon, podem ter algum impacto sobre micro-organismos do intestino delgado.”⁹

O mercado de prebióticos tem crescido rapidamente. Cerca de 400 prebióticos, têm sido comercializados em escala mundial e aproximadamente 20 empresas estão produzindo esses prebióticos na forma de oligossacarídeos e fibras.⁸ Embora estatísticas não estejam disponíveis sobre a comercialização desses ingredientes no Brasil, na Europa em 2007, o mercado de prebióticos foi de 87 milhões de euros, com previsão de atingir em 2010 179,7 milhões de euros.¹⁰ Os principais prebióticos atualmente disponíveis no mercado pertencem às classes de: amido resistente, dissacarídeo (lactitol, lactulose, xilitol), oligossacarídeo

(fruto-oligossacarídeo [FOS], galacto-oligossacarídeo [GOS], inulina, xilo-oligossacarídeos, oligossacarídeos de soja).⁸

A maioria dos prebióticos pertence à categoria de fibras, cuja definição ainda não se encontra completamente estabelecida. Fibra tem sido considerado um termo genérico para um grupo de compostos com diferentes estruturas químicas, diferentes propriedades físicas e que diferem em seus efeitos fisiológicos.¹¹

Características prebióticas têm sido às vezes atribuídas a componentes alimentares, como por exemplo, a oligossacarídeos e polissacarídeos, sem levar em consideração os critérios necessários que os qualifiquem uma vez que nem todos os carboidratos dietéticos têm efeitos prebióticos. Uma substância para ser considerada prebiótica deverá atender alguns requisitos tais como:⁸

- Ser um componente alimentar ou um ingrediente quimicamente definido e para o qual o efeito benéfico é atribuído.
- Ter um efeito benéfico mensurável no hospedeiro.
- Não ser metabolizado pelo hospedeiro, mas por sua microbiota.

O principal grupo microbiano envolvido nos benefícios observados pela presença de prebióticos é o de bactérias bífidas que modulam benéficamente a microbiota do cólon.¹² Como resultado de seu metabolismo primário bactérias bífidas acumulam principalmente ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) tais como acetato e lactato. Além disso, a presença de propionato, e butirato, presentes em uma microbiota saudável apresentam várias funções importantes na manutenção da saúde do hospedeiro, entre as quais, o antagonismo a patógenos e o estímulo à absorção de minerais, além de manter a renovação

epitelial. Dentre os principais efeitos benéficos atribuídos aos prebióticos destacam-se:

- Efeito positivo no tratamento de encefalopatia hepática.¹³
- Estímulo dos movimentos peristálticos.¹⁴
- Estímulo da absorção de minerais como cálcio (Ca),¹⁵ ferro (Fe)¹⁶ e magnésio (Mg).¹⁷
- Redução de enzimas relacionadas a cânceres no sistema digestório.¹⁸
- Modulação da imunidade inata e adquirida.¹⁹
- Redução de doenças cardiovasculares.²⁰
- Redução de patógenos intestinais.
- Estimulo de uma microbiota intestinal benéfica.²¹

Os principais prebióticos comercializados atualmente estão na Tabela 8.1, sendo que desses, FOS e inulina são os que acumulam maior número de estudos.

Tabela 8.1. Principais prebióticos comercializados.

-
- Amido resistente
 - Ciclodextrina*
 - Fruto-oligossacarídeo (FOS)
 - Galacto-oligossacarídeo (GOS)
 - Genticoligossacarídeo
 - Glucosiloligossacarídeo*
 - Inulina
 - Isomalto-oligossacarídeo
 - Lactulose
 - Lactossacarídeo
 - Oligossacarídeo de malte*
 - Oligossacarídeo de soja
 - Palatino-oligossacarídeo
 - Xilo-oligossacarídeo
-

* Estimulam outros grupos microbianos além de bactérias bifidas.

Fonte: adaptada de Sako et al. (1999).²²

Fruto-oligossacarídeos (FOS) e inulina

Frutano é um polímero linear de sacarose, no qual uma unidade de frutose é adicionada por meio de ligação beta- (2→1) à molécula de frutose da sacarose, contendo uma molécula terminal de glucose. FOS e inulina apresentam a mesma configuração molecular, com GP (*degree of polymerization* – grau de polimerização), que varia de 2-60. Geralmente, FOS apresenta GP de 2 a 10, e acima disso, tem-se a inulina.⁴ São encontrados naturalmente em vegetais e plantas como alcachofra, raiz de chicória, dália, dente de leão, alho, cebola, banana, dentre outros. Como a quantidade nesses alimentos é pequena, o consumo precisa ser elevado para se obter o efeito funcional esperado. No entanto, FOS pode ser extraído desses alimentos e concentrado. Em escala comercial é produzido a partir da sacarose, empregando-se uma frutotransferase fúngica (beta-frutofuranidase), originada de *Aspergillus Níger* (*A. Níger*). Pode também resultar da hidrólise parcial da inulina, por meio de endoglicosidases.²³ Doses diárias de 5g tem sido indicadas como efetivas para efeito prebiótico.²⁴

O emprego e a utilização de FOS e inulina como ingredientes alimentares tem crescido consideravelmente devido também às suas características de fibra, e por não interferirem nas propriedades sensoriais dos produtos. Além disso, tem aumentado também o interesse na fortificação de alimentos com FOS e praticamente todo alimento que contém carboidrato pode ser suplementado com esse ingrediente.²⁵ Um grande número de bebidas lácteas, doces, balas, sobremesas e geléias, principalmente as fabricadas no Japão, apresentam FOS em sua formulação.²⁶ Embora o valor geralmente considerado para FOS seja de

1,5 kcal/g – 6 kJ/g,^{27,28} o Advisory Committee do Reino Unido, recomenda o valor de 2 kcal/g – 8 kJ/g.¹¹

Os principais efeitos de prebióticos estão relacionados ao antagonismo a patógenos, à diminuição de substâncias pré/procarcinogênicas, à absorção de minerais e à modulação benéfica da microbiota colônica, dentre outros.²⁹ Diversos estudos têm comprovado efeito benéfico do consumo de FOS e inulina.^{15-17,30-33}

A incorporação de FOS na dieta intensifica a viabilidade e adesão de bactérias benéficas no trato gastrointestinal, promovendo uma alteração benéfica dessa microbiota, pois bactérias patogênicas como *Escherichia coli* (*E. coli*), *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) e outras consideradas indesejáveis, são inibidas.³ Essa inibição deve-se principalmente à diminuição do pH no lúmen intestinal pelo acúmulo de AGCC pela fermentação do prebiótico.³⁴⁻³⁶ Além disso, a diminuição na concentração de *E. coli*, *Clostridium* sp., *Streptococcus faecalis* (*S. faecalis*) e *S. Proteus*, resulta em decréscimo de metabólitos tóxicos como amônia, indol, fenóis e nitrosaminas.³⁷

Bouhnik (1996)³⁸ demonstrou que a ingestão de FOS, em doses de 12,5g/dia durante três dias (doses clinicamente toleradas), produz decréscimo na contagem de anaeróbios totais nas fezes e diminuição de pH, diminuição da atividade de nitrorredutases, e dos níveis séricos de colesterol e de lipídios totais. Dados experimentais demonstraram que inulina e FOS afetam os processos e variáveis envolvidos no metabolismo lipídico, podendo diminuir riscos de doenças relacionadas ao distúrbio lipídico, como aterosclerose.²⁰

O efeito de FOS sobre a concentração de bifidobactérias em indivíduos com neoplasias hematológicas submetidos a tratamento quimioterápico foi estudado

por Búrigo et al. (2007)³⁹ Esse estudo indicou que a suplementação diária com 12g, durante 15 dias promoveu um aumento significativo na quantidade de bifidobactérias, interferindo na composição da microbiota intestinal, sem alteração do pH fecal.

Células tumorais hepáticas e mamárias foram implantadas em ratos e após administração de FOS observou-se redução no crescimento dos tumores, quando comparado ao grupo-placebo.⁴⁰ Como mecanismos indicados para os efeitos observados têm sido citados a redução de glicose pelo FOS e as células tumorais assim prejudicadas em seu aporte de energia não completam seu desenvolvimento;⁴¹ a formação de AGCC, principalmente de butirato, está relacionada ao metabolismo de FOS.³⁶ O butirato é considerado um potencial agente antineoplásico.⁴²

A inibição da carcinogênese do cólon pela administração de FOS foi demonstrada em modelo murino onde lesões pré-cancerígenas foram induzidas em ratos. Reduções significativas das lesões ocorreram após administração de dieta contendo 10% de FOS.¹⁸ Alguns benefícios advindos do consumo de FOS estão resumidos na Figura 8.1.

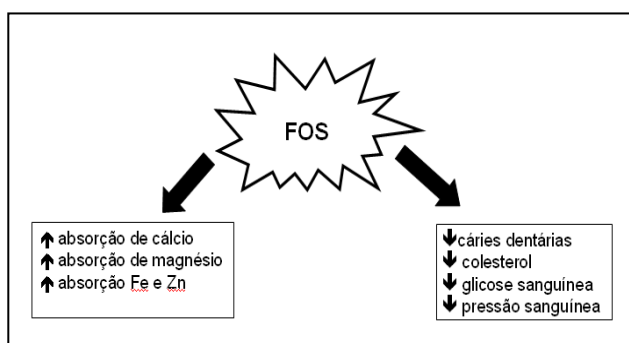


Figura 8.1 Alguns benefícios advindos do consumo de fruto-oligossacarídeos.

YACON: CARACTERÍSTICAS E COMPOSIÇÃO

Yacon (*Smallanthus sonchifollius*) é um tubérculo originado dos Andes, cultivado em vários países como no Peru, Colômbia e Bolívia, em altitudes que variam de mil a 3.200m acima do nível do mar.⁴³ É também conhecido como um dos “alimentos perdidos” dos Andes, que está atualmente sendo recuperado pelo interesse em sua importante característica de acumular grandes quantidades de oligofrutos em suas raízes.⁴³ Essa extensa região abriga muitos outros alimentos, desconhecidos em outros continentes e muitos desses alimentos ainda precisam ser redescobertos à luz da nova tendência mundial dos alimentos funcionais.

De todas as plantas andinas que estão sendo redescobertas, o yacon parece apresentar o maior potencial comercial e tem atraído a atenção mundial devido às suas características, como a grande capacidade de adaptação em diferentes condições climáticas, e até mesmo em solos pobres. É uma planta perene, com raízes tuberosas subterrâneas que variam em média de 100 a 2.000g, chegando a produzir acima de 5kg tubérculo/planta.⁴⁴⁻⁴⁶ Seu rendimento no campo pode variar entre 50 a 70t/ha.^{47,48}

O yacon tem a aparência de batata doce e o seu sabor tem sido descrito como levemente adocicado, lembrando o sabor da melancia tendo a crocância de uma maçã recém colhida.⁴⁹ Nos mercados andinos, o yacon não se encontra junto com batatas e tubérculo e por ser classificado como fruto, encontra-se junto às maçãs, abacaxis e outras frutas.⁵⁰ A casca do yacon apresenta uma cor que varia do marrom a uma tonalidade arroxeada, enquanto a porção comestível pode ser branca, amarela, laranja ou roxa, dependendo da variedade.⁵¹

No Brasil o cultivo comercial do yacon foi introduzido em 1991, em Capão Bonito – São Paulo,⁵² cujo interesse principal deveu-se ao seu potencial forrageiro, principalmente como fonte de fibras solúveis (oligossacarídeos e inulina), e insolúveis, concentradas nos órgãos subterrâneos. A raiz colhida no final do outono contém até 66% de oligofrutos, em base seca, o que tem direcionado a atenção para o potencial de sua exploração comercial como prebiótico.⁴⁹ As raízes contêm de 10% a 14% de matéria seca, sendo cerca de 90% carboidratos. Além da predominância de FOS, outros carboidratos presentes são frutose, glicose, sacarose e traços de inulina.⁵³ A proporção desses açúcares em base seca é de 40% a 70% de FOS, 5% a 15% de sacarose, 5% a 15% de frutose e a média para glicose é inferior a 5%.⁵¹ A variação na quantidade encontrada depende da variedade estudada, do tempo de armazenamento e época de colheita.⁴³ O yacon apresenta maior rendimento e maior concentração de sólidos solúveis totais, oligofrutos, quando colhido no período entre a 31^a e 35^a semanas após o plantio.⁵⁴ Ao atingir a maturidade do tubérculo, a tendência dos FOS é se degradarem em compostos menores até frutose e glicose livres.⁴³

A desidratação para obtenção da farinha de yacon tem se mostrado interessante não só por aumentar a sua vida útil, mas também por facilitar sua incorporação na formulação de bolos, biscoitos, doces, sucos, dentre outros.⁵⁵⁻⁵⁷

A Tabela 8.2. apresenta a composição química da raiz de yacon *in natura*. A elevada umidade faz com que o yacon seja suscetível a alterações, apresentando uma vida de prateleira curta, geralmente de sete dias a temperatura ambiente.⁵⁸⁻⁵⁹

Tabela 8.2. Composição química da raiz de yacon *in natura* (g/100g).

Nutrientes	Grau & Rea (1997) ⁶⁰	Tanaka et al. (1998) ⁶¹	Marangoni (2007) ⁵⁶
Umidade	93 a 70	89,74	87,45
Proteínas	0,40 a 2	6,40	0,26
Lipídios	0,10 a 0,30	0,8	0,10
Cinzas	0,3 a 2	0,9	0,15
Fibras	0,3 a 1,7	nd*	2,40
Carboidratos totais	nd*	2,2	12,04**

* nd: não determinado; ** valor calculado por diferença.

YACON ALIMENTO FUNCIONAL E FONTE DE PREBIÓTICO

O yacon é um vegetal rico em compostos fenólicos como ácido clorogênico, ácido ferúlico e ácido cafêico, nas folhas e nas raízes, além de flavonóides.^{26,62} Esses compostos modulam a atividade de vários sistemas enzimáticos e atuam principalmente protegendo a saúde humana de estresses oxidativos. Ao contrário da maioria de tubérculos e raízes, o yacon armazena essencialmente FOS, principal componente bioativo, fonte de prebiótico.

Fruto-oligossacarídeos estão presentes no yacon em grandes quantidades, constituindo aproximadamente de 60% a 70%, em base seca,⁶³ sendo esses de baixo grau de polimerização. Dados sobre a composição de carboidratos do yacon estão indicados na Tabela 8.3.

O yacon apresenta maior rentabilidade (5,7t/ha) quando comparado com *Helianthus tuberosus* (4,5t/ha), *Chichorium inthybus* (0,9t/ha) e *Dália sp* (2,5t/ha) plantas que frequentemente são utilizadas no processo de extração de frutanos.⁶⁴ Esse fato tem incentivado estudos para conhecer melhor os compostos bioativos dessa planta.

Tabela 8.3. Carboidratos nas raízes do yacon.

Componente	mg/g (peso seco)
Frutose	350,1 ± 42
Glucose	158,3 ± 28,6
Sacarose	74,5 ± 19
Inulina	13,5 ± 0,4

Fonte: adaptada de Valentová et al. (2001).⁶⁴

A atividade prebiótica dos FOS contidos no yacon tem sido associada a efeitos favoráveis à saúde como:

- Alívio da constipação.
- Aumento na absorção de minerais.
- Fortalecimento do sistema imunológico.
- Diminuição do desenvolvimento de câncer de cólon.

Além disso, o yacon contribui para a alimentação com compostos fenólicos e doses razoáveis de minerais, como por exemplo, de potássio.⁶⁵ A Tabela 8.4 indica alguns efeitos fisiológicos relacionados ao consumo do yacon.

O efeito prebiótico do yacon foi constatado por Pedreschini et al. (2003),⁶⁶ que verificaram a utilização de FOS por estirpes probióticas geralmente presentes no cólon.

Tabela 8.4. Alguns efeitos fisiológicos relacionados ao consumo do yacon.

Forma de administração	Tipo de estudo	Efeito observado	Referências
Farinha	Modelo animal (ratos Wistar)	↑ resistência óssea	Lobo et al. (2009) ⁶⁷
Farinha	Modelo animal (ratos Wistar)	↑ absorção intestinal e balanço de cálcio	Lobo et al. (2007) ²⁴
Extrato aquoso das folhas	Modelo animal (ratos Sprague- Dawley)	↑ concentração de insulina no plasma	Aybar et al. (2001) ⁶⁸
Extratos a partir da folhas	Modelo animal (ratos Wistar)	↑ proteção contra estresse oxidativo e ↓ de glicose hepática	Valentová et al. (2003) ⁵⁰
Xarope	Estudo clínico	↑ do efeito laxativo intestinal	Geyer et al. (2008) ⁶⁹
Yacon <i>in natura</i>	Estudo clínico	↓ do índice glicêmico	Silva (2007) ⁵⁵
Xarope	Estudo clínico	↓ resistência insulínica em mulheres obesas	Genta et al. (2009) ⁷⁰

↑: aumento ↓:diminuição

Estudos em modelo murino que avaliaram toxidez relacionada ao consumo de yacon demonstraram que nenhuma alteração patológica foi observada pelo consumo de 340mg e 6.800 mg de FOS/kg de peso por dia oriundos do yacon, por um período de quatro meses.⁷¹

Embora grande parte de estudos com Yacon tenha demonstrado seu efeito hipoglicêmico e antioxidativo, estudos mais recentes tem explorado a sua contribuição para controle da constipação, osteoporose, resistencia óssea e efeito prebiótico,⁶⁶ constatando o seu potencial para o controle de diversas doenças crônicas. Indiretamente, o efeito do yacon na resistência óssea resulta da modulação da microbiota que mantém um pH mais ácido no cólon e com isso, diminui perdas minerais. No entanto, mais estudos são necessários para a definição dos mecanismos de ação e de doses adequadas de ingestão de yacon para que a funcionalidade esperada possa ser inferida.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O yacon está listado entre os alimentos “esquecidos/perdidos” dos Andes mas que, devido à demonstração de vários efeitos funcionais, interesse no seu consumo tem ressurgido em várias partes do mundo. Há pouco mais de duas décadas passou a ser cultivado no Brasil e desde então tem sido comercializado tanto em feiras locais como em alguns supermercados de grande porte. O seu consumo está relacionado à grande quantidade dos açúcares solúveis, FOS e inulina, armazenados nas raízes e ao efeito hipoglicêmico e prebiótico desses carboidratos.

Atualmente os ingredientes prebióticos comercializados resultam de extração e/ou concentração do componente prebiótico de vegetais como alcachofra e

chicória, dentre outros. No entanto, o yacon independe dessa extração e as concentrações presentes no vegetal *in natura* são suficientes para que possa ser considerado um alimento funcional com atividade prebiótica. O yacon é também encontrado na forma de xaropes e desidratado na forma de farinha, o que favorece o seu consumo durante todo o ano.

Embora muitos sejam os benéficos inferidos ao yacon, vários desses benéficos não têm seus mecanismos conhecidos. Estudos clínicos bem delineados estatisticamente, duplo cego com placebo e randomizados são necessários para avaliação e entendimento dos efeitos benéficos. O entendimento desses mecanismos é de suma importância para viabilizar a sua indicação pelos profissionais de saúde e para o processo de educação do consumidor.

Por ser um produto economicamente viável a popularização do yacon poderia contribuir para a saúde pública por ser funcional e pelo potencial que apresenta para prevenção e controle de algumas doenças crônico degenerativas.

REFERÊNCIAS

1. Ashwell M. Concepts of Functional Foods. ILSI Europe Concise Monographs Series. Concepts of Functional Foods. Belgium, 2002. p. 39.
2. Arai S. Global view on functional foods: asian perspectives. *British J Nutr* 2002; 88(Suppl 2):S139-S43.
3. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. ***J Nutr* 1995;** 125(6):1401-12.
4. Roberfroid M. Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease* 2002; 34(Suppl 2):105-10.

5. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº18 de 30/04/1999. Diário Oficial da União. Brasília, 1999. Disponível em: <[http\\:www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acessado em: 28 de dezembro de 2009.
6. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com alegação de Propriedade Funcional e ou de Saúde. Diário Oficial da União. Brasília, 2002. <[http\\:www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acessado em: 28 de dezembro de 2009.
7. Gibson GR, Probert HM, Van Loo J, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr Res Rev 2004; 17(2):259-75.
8. FAO. FAO Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS) – FAO.Roma. Setembro 15-16, 2007. http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf Acessado em 5 de julho, 2009.
9. Capriles VD, Silva KEA, Fisberg M. Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. Nutrição Brasil, Brasil 2005; 4(6):327-35.
10. The World Prebiotic Ingredient Market. 2010. Ubic Consulting. (<http://www.ubic-consulting.com/template/fs/The-World-Prebiotic-Ingredient-Market.pdf>). Acessado em 7 de novembro de 2010.
11. SACN (Scientific Advisory Committee on Nutrition). Summary of Narrative synthesis of the health effects of potential dietary fibre components (www.sacn.gov.uk).

12. Cummings JH, Macfarlane GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J Appl Bacteriol* 1991; 70(6):443-59.
13. Strauss E. Encefalopatia hepática – atualização terapêutica. *Gaz Méd Bahia* 2006; 76(Suppl 1):S43-S5.
14. Denhond E, Geypens B, Ghooys Y. Effect of high performance chicory inulin in constipation. *Nutr Res* 2000; 20(5):731-6.
15. Yeung CK, Glahn RP, Welch RM, Miller DD. Prebiotics and iron bioavailability-Is there a connection? *J Food Science* 2005; 70(5):R88-R92.
16. Azorín-Ortuño M, Urbán C, Cerón JJ, Tecles F, Allende A, Tomás-Barberán FA et al. Effect of low inulin doses with different polymerisation degree on lipid metabolism, mineral absorption, and intestinal microbiota in rats with fat-supplemented diet. *Food Chemistry* 2009; 113:1058-65.
17. Yap KW, Mohamed S, Yazid AM, Maznah I, Meyer DM. Doses–response effects of inulin on the faecal short-chain fatty acids content and mineral absorption of formula-fed infants. *Nutrition and Food Sciences* 2005; 35(4):208-19.
18. Reddy BS, Hamid R, Rao CV. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. *Carcinogenesis* 1997; 18(7):1371-4.
19. Watzl B, Girrbacch S, Roller M. Inulin, oligofructose and immunomodulation. ***British J Nutri* 2005; 93 (Suppl. 1):49-55.**
20. Kaur J, Gupta AK. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *J Bios* 2002; 27(7):703-14.

21. Ferreira CLLF, Teshima E, Costa NMB. Effect of probiotic, prebiotic and synbiotic on colon and cecum microbiota of rats. In J Prob Preb 2008; 3:71-6.
22. Sako T, Matsumoto K, Tanaka R. Recent progress on research and application of non-digestible galactooligosaccharides. Int Dairy J 1999; 9(1):69-80.
23. Roberfroid MB. Introducing inulin-type fructans. Brit J Nutr 2005; 93(suppl 1):S13-S25.
24. Lobo AR, Colli C, Alvares EP, Filisetti TM. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats British. J Nutr 2007; 97(4):776-85.
25. Manning TS, Gibson GR. Prebiotics: Best Practice and Research Clinical. Gastroenterol 2004; 18(2):287-98.
26. Takenaka M, Yan X, Ono H et al. Caffeic acid derivatives in roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **J Agricult Food Chemistry** 2003; 51(3):793-6.
27. Buriti FCA. Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
28. Renhe IRT, Volp ACP, Barbosa KBF et al. Prebióticos e os benefícios de seu consumo na saúde. Revista Brasileira de Nutrição Clínica 2008; 23(2):119-26.
29. Magalhães MS, Salminen S, Tommola J et al. Prebiotics. In: Magalhães MS, Salminen S, Ferreira CL, Tommola J. Terminology: Functional foods, probiotics, prebiotics, synbiotics, health claims, sensory evaluation of foods, molecular gastronomy. English-portuguese ed. 1. Turku, Finland. p. 114.

30. Modler HW, Mckellar RC, Yaguchi M. Bifidobactéria and bifidogenic factors, **Canadian Institute of Food Science and Technology** Journal 1990; 23(1):29-41.
31. Coundray C, Bellanger J, Castiglia-Delavaud C, Remesy C, Vermorel M, Rayssiguier Y. Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur J Clin Nutr* 2003; 51:375-80.
32. Abrams SA, Griffin IJ, Hawthorne KM. Young adolescents who respond to an inulin-type fructan substantially increase total absorbed calcium and daily calcium accretion to the skeleton. *J Nutr* 2007 (11 Supl); 137:2524S-6S.
33. Pitarresi G, Tripodo G, Cavallaro G et al. Inulin–iron complexes: A potential treatment of iron deficiency anaemia. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2008; 68:267-76.
34. Wang X, Gibson GR. Effects of the *in vitro* fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. ***J Applied Bacteriology*** 1993; 74(4):373-80.
35. Roberfroid M. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. ***Critical Reviews in Food Science and Nutrition*** 1993; 33(6):103-48.
36. Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. Dietary fibre and the gut microbiota. *Nutr Bull* 2008; 33(3):201-11.
37. Cummings JH, Macfarlane GR, Englyst HN. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition* 1993; 73(Supl):415S-420S, 1993.

38. Bouhnik Y. Effects of fructo-oligosaccharides ingestion on fecal bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans. *Nutri. Cancer* 1996; 26(1):21-9.
39. Búrigo T, Fagundes RLM, Trindade EBSM, Vasconcelos HCFF. Efeito bifidogenico do frutooligossacarídeo na microbiota intestinal de pacientes com neoplasia hematológica. 2007; *Ver. Nutr. Campinas* 20(5):491-7.
40. Taper HS, Roberfroid MB. Influence of inulin and oligofructose on breast cancer and tumor growth. *J Nutr* 1999; 129:1488s-9s.
41. Taper HS, Delzenne N, Tshilombo A. et al Protective effect of fructo-oligosaccharide in young rats against exocrine pancreas atrophy induced by high fructose and partial copper deficiency. *Food Chemical Toxicology* 1995; 33(8):631-9.
42. Gamet L, Davaind D, Denis-Poouxviel C et al. Effects of short-chain fatty acids on growth and differentiation of the human colon cancer cell line HT 29. ***In J Cancer* 1992; 52:286-9.**
43. Graefe S, Hermann M, Manrique I et al. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research* 2004; 86(2-3):157-65.
44. National Research Council. Lost crops of the incas: little-known of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press, Washington, 1989.
45. Asami T, Minamisawa K, Tsuchuja K et al. Fluctuations of oligofructan contents in tuber of yacon (*Polymnia sonchifolia*) during growth and storage. *Japanese Society of soil Science Plant Nutrition* 1991; 62:621-7.

46. Silva EB et al. Correlação entre peso, área e diâmetro de raízes do yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepping & Endlicher). In: Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 8., 2003. Anais. Curitiba. CD-ROM.
47. Capito SMP. Raiz tuberosa de yacon (*Polymnia sonchifolia*): caracterização química e métodos de determinação de frutanos (CG e CLAE-DPA). São Paulo, 2001. p. 101. Dissertação (Mestrado em ciência dos alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
48. Espirito Santo FRC, Floss PA, Becker J. Tecnologias para o cultivo de yacon (*Polymnia sonchifolia*) POEPP e ENDL. na região de Chapecó – SC. In: IV Jornada Catarinense de Plantas Medicinais, Anais. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí – Univali e Associação Catarinense de Plantas Medicinais – ACPM, set., 2003.
49. Fukai K, Miyazaki S, Nanjo F, Hara, Y. Distribution of carbohydrates and related enzymes activities in yacon (*Polymnia sonchifolia*). Soil Science and Plant Nutrition 1993; 39(3):564-71.
50. Valentová K, Ulrichová J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. Biomedical Papers, Czech Republic 2003; 147(2):119-30.
51. Manrique I, Párraga A, Hermann M. Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Yacon syrup: Principles and Processing 2005.
52. Zardini E. Ethnobotanical notes of yacon, *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). Economic Botany 1991; 45(1):72-85.

53. Seminario J, Valderrama M, Manrique I. El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de um recurso promisorio. CIP, Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el desarrollo y la Cooperación (COSUDE), Lima, Peru, 2003. p. 60. Disponível em: http://www.cipotato.org/market/PDFdocs/yacon_Fundamentos_password.pdf.
54. Oliveira MA, Nishimoto EK. Avaliação do desenvolvimento de plantas de Yacon (*Polymnia sonchifolia*) e caracterização dos carboidratos de reservas em HPLC. B J Food Technology 2004; 7(2):215-20.
55. Silva ASS. A raíz 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. 156f Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
56. Marangoni AL. Potencialidade de aplicação de f arinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos à base de cereais. Tese de mestrado. UNICAMP, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2007. [HTTP://cutter.unicamp.br/document/?code=vtls000411730](http://cutter.unicamp.br/document/?code=vtls000411730)
57. Rolin PM. Aspectos sensoriais e funcionais de pães com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Dissertação [Mestrado]. UFPE, 2008.
58. Yan X, Suzuki M, Ohnishi-Kameyama M, Sada Y, Nakanishi T, Nagata T. Extraction and identification of antioxidantes in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Journal Agricultural Food Chemistry 1999; 47(11):4711-3.

59. Lupetti KO, Carvalho LC, Moura AF et al. Análise de imagem em química analítica: empregando metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. *Química Nova* 2005; 28(3):548-54.
60. Grau A, Rea J. Yacon *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson. In: Hermann M, Heller J (eds.): Andean roots and tubers: Ahipá, arracacha, maca, yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 21. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy, 1997; 199-242. <http://www.cipotato.org/market/ARTChermann/yacon.pdf>.
61. Tanaka R, Matsumoto K. Recent progress on prebiotics in Japan, including galacto-oligosaccharides as food ingredients. *Food Technology* 1998; 336:1488s-91s.
62. Simonovska **B**, Vovk **I**, Andresek **S**, Valentová K, Ulrichová **J**. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *Journal of Chromatography A* 2003; 1016(1):89-98.
63. Goto K, Katsuhito F, Hikida J, Nanjo F, Hara Y. Isolation and structural Analysis of Oligosaccharides from yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Gastroenterology* 1995; 108(4):975-82.
64. Valentová K, Frček J, Ulrichová J. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and Maca (*Lepidium meyenii*), traditional Andean crops as new functional foods on the European market. *Chem Listy* 2001; 95:594-601.
65. Santana I, Cardoso ML. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. *Ciência Rural* 2008; 38(3):898-905.

66. Pedreschi R, Campos D, Noratto G et al. Andean yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*, Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potencial novel source of prebiotics. *Journal of Agricultural of Food Chemistry* 2003; 51:5278-84.
67. Lobo AR, Cocato ML, Jorgetti V, Sá LRM, Nakano EY, Colli C. Changes in bone mass, biomechanical properties and microarchitecture of calcium- and iron-deficient rats fed diets supplemented with inulin-type fructans. *Nutr Res* 2009; 29:873-81.
68. Aybar MJ, Sánchez Riera AN, Grau A, Sánchez SS. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2001; 74(2):125-32.
69. Geyer M, Manrique I, Degen L, Beglinger C. Effect of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on Colonic Transit Time in Healthy Volunteers. *Digestion* 2008; 78(1):30-3.
70. Genta S, Cabrera W, Habiba N, Pons J, Carillo IM, Grau A, Sánchez S. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin Nutr* 2009; 28(2):182-7.
71. Genta SB, Cabrera WM, Grau A, Sanchez SS. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried smallanthus sonchifolius (yacon) root as a diet supplement in rats. *Food and Chemical toxicology* 2005; 43(11):1657-65.

9.1.2. Farinha de yacon (*Sallanthus sonchifolius*): produção e caracterização química

Production and chemical characterization of yacon (*Smallanthus sonchifolius*)
flour

Artigo Original – Rev. Inst. Adolfo Lutz. 2011; 70(3):290-5

Fabiana Carvalho RODRIGUES, Adriano Simões Barbosa CASTRO, Hércia

Stampini Duarte MARTINO, Célia Lúcia de Lucas Fortes FERREIRA

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram produzir farinha da polpa de yacon, avaliar a viabilidade do processo e caracterizar sua composição química. As análises da composição centesimal foram realizadas de acordo com a metodologia da AOAC. Os teores de fibras alimentares foram analisados pela técnica enzimático-gravimétrica, os açúcares e fruto-oligossacarídeos - FOS por cromatografia líquida de alta eficiência, e os minerais por espectrofotometria de emissão de plasma. De 115,5 Kg de yacon *in natura* foram produzidas 9,6 Kg de farinha com a seguinte composição química: 6,9 g 100g⁻¹ de umidade; 2,7 g 100g⁻¹ de proteínas; 0,15 g 100g⁻¹ de lipídios; 5,4 g 100g⁻¹ de cinzas; 25,7 g 100g⁻¹ de oligofrutos; 38,95 g 100g⁻¹ de carboidratos não digeríveis; 0,05 g 100g⁻¹ de cálcio; 0,21 g 100g⁻¹ de fósforo e 0,18 g 100g⁻¹ de magnésio. O processo de produção da farinha favoreceu o aumento da vida útil do yacon. Torna-se também importante a disponibilidade de yacon no mercado na forma de farinha para facilitar sua utilização no preparo de produtos de panificação e, ainda, para que esse produto seja encontrado em qualquer época do ano.

Palavras-chave. Processamento de yacon, oligofrutanos, prebiótico, análise centesimal.

ABSTRACT

This study aimed at producing flour from yacon root pulp and assessing the process viability, and to characterize the chemical composition. The chemical composition analyses were performed according to the AOAC. The dietary fiber contents were analyzed by enzymatic-gravimetric methodology, the sugars and FOS by high performance liquid chromatography and the minerals by spectrophotometry for emission of plasma. From 115.5 kg of yacon *in natura*, 9.6 kg of flour were produced with the following composition: 6.9 g 100g⁻¹ of moisture, 2.7 g 100g⁻¹ of protein, 0.15 g 100g⁻¹ of lipid, 5.4 g 100g⁻¹ of ash, 25.7 g 100g⁻¹ of oligofrutans, 38.95 g 100g⁻¹ of not digestible carbohydrates, 0.05 g 100g⁻¹ of calcium, 0.21 g 100g⁻¹ of phosphorus and 0.18 g 100g⁻¹ of magnesium. The process for preparing the flour improved to lengthen the yacon life. In addition, it is also essential the availability of yacon in flour format on the market to facilitate its use for preparing bakery products, and allow it to be on sale at any period the year.

Keywords. Processing of yacon, oligofrutans, prebiotic, chemical analyse.

INTRODUÇÃO

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é um tubérculo pertencente à família da *Asteraceae*, apresentando um sistema de raiz composto de 4 a 20 tubérculos. Ele é considerado um fruto de sabor doce e conhecido por suas propriedades medicinais por contribuir na redução dos níveis de glicose sanguínea, podendo ser consumido *in natura* (cru e em saladas) ou na forma industrializada como suco, chips desidratados, farinha, xaropes, dentre outros^{1,2}. Seu cultivo tem expandido em diversas regiões do mundo (Nova Zelândia, Japão, República Checa, Coréia do Sul, Tailândia, Filipinas, Rússia, Estônia, etc.), e inclusive no Brasil, por ser de fácil manejo e processamento, e principalmente porque é fonte de componentes bioativos como frutooligossacarídeos (FOS) e compostos fenólicos^{3,4}.

Embora seja considerado um alimento tradicional na América do Sul, para a União Européia o yacon é alimento novo, e, portanto, deve ser avaliado quanto à segurança antes de ser introduzido no mercado⁴. Isto tem estimulado o interesse da comunidade científica na realização de estudos que vão desde a caracterização da composição química, propriedades tecnológicas, funcionais até a realização de estudos clínicos e toxicológicos que comprovem a segurança quanto ao uso.

Dentre os componentes bioativos, o yacon apresenta cerca de 40 a 70% de FOS em base seca⁵. Essa variação ocorre em função do período em que o yacon é colhido, da sazonalidade, clima, altitude, solo e o tratamento pós-colheita⁶. Os FOS pertencem à classe dos frutanos e são carboidratos de origem vegetal não-digeríveis pelo organismo humano e, portanto, são compostos bioativos classificados como fibras solúveis⁷ e atuam como prebióticos, ou seja,

como ingredientes não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pelo estímulo seletivo do crescimento e, ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon⁸.

Relatos na literatura científica evidenciam que a ingestão de prebióticos tanto em modelos animais quanto em humanos exercem um efeito bifidogênico por favorecer o crescimento de bactérias benéficas no trato digestório, especialmente as do gênero *Bifidobacterium*^{9,10}. Outros benefícios à saúde têm sido atribuídos aos prebióticos como o favorecimento do metabolismo ósseo em animais¹¹; redução dos níveis de triacilglicerídios, insulina e glicose séricos em ratos¹² e modulação do sistema imune¹³.

A umidade do yacon *in natura* é elevada, variando 69,5% a 92,7%¹⁴, o que contribui para sua rápida deterioração que advém da ação de enzimas polifenoloxidasas que catalisam reações, resultando no escurecimento do yacon e de seus produtos¹⁵.

Dentre esses produtos, um dos principais é a farinha que tem se mostrado bastante promissora não só por aumentar a vida útil do yacon, mas também pela possibilidade de ser utilizada como ingrediente funcional na formulação de diversos alimentos processados como bolos, biscoitos, doces, pães e outros.

Diferentes metodologias têm sido utilizadas na produção da farinha yacon^{16,17}. No entanto, ainda não há uma padronização do processo que permita a produção em larga escala, o que é importante para viabilizar sua inserção na agroindústria, uma vez que o yacon apresenta um maior valor agregado no mercado que outros tipos de plantas como milho e mandioca. Diante disto, este estudo teve como objetivos produzir uma farinha a partir da polpa de yacon, avaliar a viabilidade do processo e caracterizar sua composição química.

MATERIAL E MÉTODOS

O yacon foi obtido no mercado local da cidade de Viçosa-MG no mês de agosto de 2009. Imediatamente após sua aquisição as raízes foram selecionadas, pesadas e submetidas ao processo de elaboração da farinha conforme a metodologia de Marangoni¹⁸, com adaptações. Após lavagem e sanitização em água clorada, o descascamento foi realizado com descascador de vegetais e iniciou-se o tratamento com solução de citrato de sódio 0,5% por 15 minutos. Em seguida, foi fatiado em multiprocessador (Walita-RI7625) e imerso em uma solução de bissulfito de sódio 0,5% por 15 minutos. O líquido foi drenado com auxílio de um escurridor e a secagem foi realizada a 55°C/48 horas em secador de circulação de ar (Polidryer-DP) com capacidade média para 60 kg de produto.

A produção ocorreu em duas bateladas, sendo utilizado no total 115,5 kg de yacon *in natura*. Ao final do processo de secagem o yacon foi triturado em moedor do tipo cutter e depois em multiprocessador (Arno-PRC) a farinha foi peneirada obtendo-se a granulometria máxima de 425 µm em peneira de 40 mesh (Abronzinox-PGB 97891). Pesou-se a quantidade de farinha obtida para cálculo do percentual de rendimento, sendo $\% R = (\text{massa da farinha} \times 100) / \text{peso líquido}$. A farinha foi embalada em sacos plásticos de 2 a 5 kg que foram vedados e armazenados sob refrigeração.

Determinação da composição química

As farinhas obtidas nas duas bateladas de processamento foram homogeneizadas para obtenção de uma única amostra realização das análises químicas, conforme metodologias indicadas pela AOAC¹⁹. A umidade foi

determinada pelo método de secagem em estufa a 105°C até peso constante, a proteína pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25; os lipídios totais foram analisados pelo método de extração com éter etílico em equipamento Soxhlet e o teor de cinzas (resíduo mineral fixo) pelo método de incineração em mufla a 550°C. A fibra alimentar solúvel e insolúvel foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico da AOAC¹⁹, utilizando-se kit dietary fiber total (Sigma). Os carboidratos não digeríveis foram calculados pelo somatório da fração de fibra solúvel, insolúvel e FOS. O valor calórico pela soma das calorias fornecidas pelas proteínas, lipídios e carboidratos totais, descontando os carboidratos não digeríveis, utilizando-se os fatores de conversão 4 kcal g⁻¹, 9 kcal g⁻¹ e 4 kcal g⁻¹, respectivamente²⁰.

Oligofrutos e os açúcares (glicose, frutose e sacarose) foram determinados por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) em cromatógrafo (Varian, Pro-Star 410), com duas bombas binárias e injetor automático (auto sampler 410), detector IR (índice de refração) e água desionizada ultrapura Milli-Q na fase móvel, seguindo-se metodologia descrita por Kaneko et al.²¹. A coluna utilizada foi HPX 87P (BIO-RAD), fase estacionária de chumbo, com temperatura da coluna a 85°C e fluxo de 0,6 mL/min⁻¹. Os padrões utilizados foram frutose (Sigma), glicose e sacarose (Acros Organics); oligofrutano comercial (85% de pureza). Para o preparo da amostra pesou-se 1g e diluiu-se em 100 ml de água destilada. Realizou-se a centrifugação a 12000 rpm por 10 minutos e filtração em membrana de decafluoreto de polivinil (PVDF) da Milli Pore com 0,22 µm de porosidade e 13 mm de diâmetro, e em seguida, a amostra foi injetada no cromatógrafo. A identificação de cada açúcar foi realizada comparando-se os tempos de retenção obtidos para os padrões e para a amostra, analisados sob as mesmas condições cromatográficas. Para a

quantificação dos compostos utilizou-se curvas analíticas construídas a partir de concentrações crescentes de soluções padrão para cada açúcar. Desse modo, foi feita uma correlação linear entre as áreas dos picos e as concentrações injetadas de cada composto. A equação de regressão linear obtida para cada padrão foi utilizada para quantificar o conteúdo dos açúcares e oligofrutanos na amostra.

Os teores dos minerais (cálcio, fósforo e magnésio) foram determinados por espectrofotometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (Perkin Elmer-Optima 3300 DV), com limite de detecção de 0,02 ppb para cálcio; 0,1 ppb para magnésio e 30 ppb para fósforo. O preparo da amostra foi realizado conforme metodologia da AOAC¹⁹. Após pesagem de 1g da amostra em tubo de ensaio, iniciou-se o processo de digestão em ácido nítrico concentrado por 16 horas. O conteúdo do tubo, uma vez resfriado a temperatura ambiente, foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água deionizada e procedeu-se a determinação dos minerais no espectrofotômetro.

Os resultados da composição centesimal e minerais foram expressos como média de três replicatas, e fibra alimentar como média de duas replicatas. De acordo com o conteúdo do mineral encontrado a farinha foi classificada como fonte deste nutriente. Isto foi realizado segundo os critérios estabelecidos pela Portaria nº 27/1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)²², sendo considerados como fonte os alimentos que contém no mínimo 15% do valor da ingestão diária recomendada (IDR) para adultos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade do processamento da farinha

Durante o processamento do yacon, verificou-se um índice de perda de 7,5% (Tabela 1), sendo esta maior na segunda repetição. As perdas durante o descascamento variam em função do tamanho e morfologia das raízes tuberosas, uma vez que no mercado estas são comercializadas sem nenhuma padronização. O processamento para produção da farinha de yacon foi eficiente para inibir o escurecimento enzimático do produto, mesmo após 6 meses de armazenamento sob refrigeração de 8° a 10°C.

Tabela 1. Processamento da polpa do yacon para obtenção da farinha.

	Batelada 1 (kg)	Batelada 2 (kg)	Total (kg)	Índice de perdas*
Yacon <i>in natura</i>	52,7	62,8	115,5	
Perdas durante o descascamento	3,1	5,6	8,7	7,5%
Quantidade processada	49,6	57,2	106,8	
Quantidade de farinha obtida	4,4	5,2	9,6	

* Índice de perdas em relação à quantidade total processada.

O teor de umidade de 6,9% obtido após a secagem (55°C/48 horas) está de acordo com a Portaria nº 354/96 do Ministério da Saúde que estabelece no máximo 15% de umidade para farinhas.²³ Valores mais elevados foram encontrados por Marangoni¹⁸ (15,4% de umidade; secagem a 60°C/72 horas) e Rolim¹⁷ (13,2% de umidade; secagem a 55°C/24 horas). A variação do binômio tempo/temperatura usada na secagem do yacon influencia o teor de umidade da farinha.

As condições de processamento empregadas neste estudo proporcionaram um percentual de rendimento de 9,0%, sendo este maior do que o encontrado por Ribeiro²⁴ e Moscatto et al.¹⁶ que obtiveram 7,9% e 7,5%, respectivamente. Apesar de ser maior que de outros estudos, o rendimento obtido ainda é baixo, provavelmente em função do elevado conteúdo de água e baixo teor de sólidos totais do yacon.

Para viabilizar o processo de produção da farinha de yacon e inserí-lo na agroindústria tornam-se necessários mais estudos para melhorar o sistema de fabricação. Isto se justifica pelo fato do yacon atualmente ter um valor agregado no mercado maior que outros tipos de plantas como milho e mandioca, devido ao apelo de funcionalidade (prebiótico). Além disso, a farinha apresenta como vantagem a praticidade, facilidade para consumo e uso na elaboração de diversos alimentos tais como produtos de panificação, barra de cereal, entre outros, uma vez que esta poderá ser, no caso, encontrada em qualquer época do ano, independente do período de safra.

Composição química

A composição química da farinha de yacon é apresentada na Tabela 2. Os teores de proteínas e umidade obtidos foram próximos aos de Vasconcelos et al.²⁵, cuja matéria-prima usada na produção da farinha foi adquirida no mesmo mercado do presente estudo. Rolim¹⁷ obteve valores diferentes na composição química da farinha de yacon: 4,2 g 100g⁻¹ de cinzas; 3,4 g 100g⁻¹ de proteínas; 0,19 g 100g⁻¹ de lipídios e 13,2% de umidade.

Tabela 2- Composição química e valor calórico da farinha de yacon (g 100g⁻¹).

Componentes	Teor
Umidade	6,9
Cinzas	5,4
Proteínas	2,7
Lipídios	0,15
Fibra alimentar solúvel (FS)*	2,72
Fibra alimentar insolúvel (FI)	10,53
Carboidratos não digeríveis ¹	38,95
Valor calórico (kcal g ⁻¹)	195,75
Glicose	8,6
Frutose	21,1
Sacarose	16,3
Oligofrutanos (FOS)**	25,7
Cálcio	0,05
Magnésio	0,18
Fósforo	0,21

*Fração solúvel de fibra determinado pelo método enzimático-gravimétrico.

**Fração solúvel de fibra determinado pelo método HPLC.

1- Carboidratos não digeríveis = FS + FI + FOS.

Segundo a Anvisa²² um alimento é fonte de um determinado nutriente quando contribui no mínimo com 15% da IDR. De acordo com nossos resultados a farinha pode ser considerada fonte de fósforo e magnésio, por fornecer 30% e 69,2% da IDR, respectivamente, para adultos. Ribeiro²⁴ obteve menor concentração desses nutrientes. As diferenças nas concentrações da composição centesimal e de minerais entre os estudos podem ocorrer em função das condições de cultivo como clima, altitude, região e tipo de solo.

No presente estudo, o valor de fibra alimentar insolúvel (Tabela 2) foi próximo ao encontrado por Ribeiro²⁴. Segundo Vasconcelos et al.²⁵ a fração solúvel é a soma do valor obtido pelo método enzimático-gravimétrico mais os

oligofrutos detectados por HPLC. Os métodos enzimático-gravimétricos determinam apenas a fração solúvel da fibra com grau de polimerização (GP) maior ou igual a 12, visto que tais fibras se solubilizam em álcool 78% e possuem baixo peso molecular, sendo perdidas na etapa de filtração. Como o yacon apresenta teor elevado de oligossacarídeos de baixo GP (3-10 monômeros), faz-se necessário empregar o método HPLC para detectar destes compostos.

A farinha de yacon desenvolvida fornece um elevado teor de fibra alimentar, especialmente a fração solúvel, podendo sugerir alegação de funcionalidade, conforme Resolução nº 359/2003 da ANVISA.²⁶ Os teores de oligofrutos encontrados no presente estudo (25,7 g 100g⁻¹) foram superiores ao obtido por Vasconcelos et al.²⁵ (19,4 g 100g⁻¹) e inferiores aos de Genta et al.²⁷ (44,2 g 100g⁻¹). Estas variações podem ocorrer devido ao período de cultivo e da colheita, tempo de armazenamento e das condições de estocagem. Lobo et al.²⁸ ao produzir uma farinha por meio do processo de liofilização, obtiveram um maior teor de oligofrutos (55,3 g 100g⁻¹). Embora a liofilização seja um método de secagem mais eficiente do que a secagem em estufa, sua utilização no processamento da farinha de yacon torna-se inviável na economia familiar por apresentar custo elevado.

O teor de oligofrutos encontrado no yacon tem despertado o interesse de muitos pesquisadores pelo fato deste ser um componente bioativo com alegação de prebiótico²⁹. Além disso, Oliveira e Nishimoto³⁰ relataram que ao comparar o yacon com outras plantas freqüentemente utilizadas no processo de extração de frutanos, como *Helianthus tuberosus*, *Chichorium inthybus*, *Dália* sp.; o yacon possui a vantagem de fornecer maior produção de frutanos (5,7 t/ha contra 4,5, 0,9 e 2,5 t/ha das espécies citadas, respectivamente).

O yacon apresentou-se como uma fonte promissora de oligofrutanos, podendo ser utilizado como ingrediente para produzir alimentos com efeitos prebióticos e, ou simbióticos, ou seja, alimentos formulados com um prebiótico e um probiótico.

CONCLUSÃO

As condições de processamento utilizadas neste estudo permitiram obter uma farinha com 6,9% de umidade e rendimento de 9%. Por ter um conteúdo considerável de oligofrutanos, a farinha de yacon apresentou-se como um ingrediente funcional que pode ser utilizada pela indústria de alimentos na formulação de produtos prebióticos e simbióticos. Além das raízes de yacon serem consumidas *in natura*, é importante também, que o yacon seja disponibilizado no mercado na forma de farinha para facilitar sua utilização no preparo de produtos de panificação e permitir que ele seja encontrado em qualquer época do ano.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Grau A, Rea J. Yacon: *Smallanthus sonchifolius* (Pop. & Endl.) [acesso 2009 Fev 07]. Disponível em: [<http://www.cipotato.org>].
2. Aybar MJ, Sánchez Riera AN, Grau A, Sánchez SS. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2001;74(2):125-32.
3. Chuda Y, Suzuki M, Nagata T, Tsushida T. Contents and cooking loss of three quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). J Agric Food Chem. 1998;46(4):1437-9.
4. Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. Trends Food Sci Technol. 2011;22(1):40-6.
5. Santana I, Cardoso MH. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. Ciênc Rural. 2008;38(3):898-905.
6. Graefe S, Hermann M, Manrique I, Golombek S, Buerkert A. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. Field Crops Res. 2004;86:157-65.
7. Sales RL, Rodrigues FC, Costa NMB, Ferreira CLLF. Yacon: aspectos nutricionais, tecnológicos e funcionais. In: Costa NMB, Rosa COB, editores. Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos. 1ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Rúbio; 2010. p. 229-39.
8. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS). 2007.

[acesso 26 jun 2010]. Disponível em:

<http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/PrebioticsTechMeetingReport.pdf>.

9. Ferreira CLL, Teshima E, Costa NMB. Effect of probiotic, prebiotic synbiotic on colon and cecum microbiota of rats. *Int J Probiot Prebiot*. 2008;3(2):71-6.
10. Bouhnik Y, Vahedi K, Achour L, Attar A, Salfati J, Pochart P, et al. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *J Nutr*. 1999;129(1):113-6.
11. Lobo AR, Colli C, Filisetti TMCC. Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. *Nutr Res*. 2006;26(8):413-20.
12. Delzenne NM, Kok NN. Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. *J Nutr*. 1999;129(7):1467.
13. Arslanoglu S, Moro GE, Schmitt J, Tandoi L, Rizzardi S, Boehm G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J Nutr*. 2008;138(6):1091-5.
14. Lachman J, Fernández EC, Orsák M. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. *Plant soil environ*. 2003;49(6):283-90.
15. Valentova K, Cvak L, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. *Eur J Nutr*. 2003;42(1):61-6.
16. Moscatto JA, Borsato D, Bona E, de Oliveira AS, de Oliveira Hauly MC. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. *Int J Food Sc Technol*. 2006;41(2):181-8.
17. Rolim PM. Aspectos sensoriais e funcionais de pães com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) [dissertação de mestrado]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2008.

18. Marangoni AL. Potencialidade de aplicação de farinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos à base de cereais [dissertação de Mestrado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2007.
19. AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12^a ed. Washington 1997.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 de dezembro de 2000.
21. Kaneko T, Kudo T, Horikoshi K. Comparacion of CD composition produced by chimeric CGTases. Agric Biol Chem. 1990;54(1):197-201.
22. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº. 27, de 13 de janeiro de 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília. 1998.
23. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 354, de 18 de julho de 1996 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Adota o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 de julho de 1996.
24. Ribeiro JA. Estudos químico e bioquímico do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in natura e processado e influência do seu consumo sobre níveis glicêmicos e lipídeos fecais de ratos [dissertação de mestrado]. Lavras (MG): Universidade Federal de Lavras; 2008.
25. Vasconcelos CM, Silva CO, Teixeira LJQ, Chaves JBP, Martino HSD. Determinação da fração da fibra alimentar solúvel em raiz e farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) pelo método enzimático-gravimétrico e cromatografia líquida de alta eficiência. Rev Inst Adolfo Lutz. 2010;69(188-193).

26. Brasil. Resolução RDC n° 359, de 23 de dez. 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 26 de dez. 2003. Seção 1, p.28-9.
27. Genta SB, Cabrera WM, Grau A, Sánchez SS. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. Food Chem Toxicol. 2005;43(11):1657-65.
28. Lobo A, Colli C, Alvares EP, Filisetti TMCC. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. Br J Nutr. 2007;97:776-85.
29. Gibson GR. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). Clin Nutr. 2004;1(2):25-31.
30. Oliveira MA, Nishimoto EK. Avaliação do desenvolvimento de plantas de yacon (*Polymnia sonchifolia*) e caracterização dos carboidratos de reservas em HPLC. Braz J Food Technol. 2004;7(2):215-20.

9.1.3. Yacon flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone health in rats

Journal Medicinal Food (no prelo)

Authors: Fabiana Carvalho Rodrigues, Adriano Simões Barbosa Castro, Vívian Carolina Rodrigues, Sérgio Antônio Fernandes, Edimar Aparecida Filomeno Fontes, Tânia Toledo De Oliveira, Hércia Stampini Duarte Martino, Célia Lúcia De Lucas Fortes Ferreira.

ABSTRACT

Yacon flour has been considered a food with prebiotic potential because of the high levels of fructooligosaccharides, which allows for its use in formulating synbiotic foods. The purpose of this study was to evaluate the effect of yacon flour and probiotic (*B. longum*) on the modulation of variables related to bone health. Thirty-two Wistar rats were divided into 4 groups: control, yacon flour, diet + *B. longum*, yacon flour + *B. longum*. After euthanasia, the bones were removed for analysis of biomechanical properties (thickness, length and strength of fracture) and mineral content (Ca, Mg and P); the cecum was removed for analysis of the microbiota and short-chain fatty acids. Tibia Ca, P and Mg content was significantly ($P<0.05$) higher in groups fed diet + *B. longum*, yacon flour + *B. longum* than in the control group. An increase in fracture strength was observed in the yacon flour (8.1%), diet + *B. longum* (8.6%) and yacon flour + *B. longum* (14.6%) in comparison to the control group. Total anaerobe and weight of the cecum was higher ($P<0.05$) in rats consuming the yacon flour diet compared with the other groups. Cecal concentration of propionate was higher in all experimental groups compared with the control ($P<0.05$). Yacon flour in combination with *B. longum* helped to increase the concentration of minerals in bones, an important factor in the prevention of diseases such as osteoporosis.

KEY WORDS: Bifidobacteria; fructooligosaccharides (FOS); prebiotic.

INTRODUCTION

The search for functional foods that reduce the risk of developing diseases such as osteoporosis, hyperlipidemia and cancer has stimulated studies on alternative foods with this potential. Among these foods is yacon (*Smallanthus sonchifolius*) which presents bioactive components such as fructooligosaccharides (FOS)^{1,2}.

Yacon is a tuber belonging to the *Asteraceae* family.^{3,4} It has a high fructan content with a low degree of polymerization (FOS) that ranges from 20% to 67% on a dry basis. FOS are carbohydrates of plant origin indigestible to humans and classified as soluble fibers that act as prebiotics.^{5,6} According to the Food and Agriculture Organization (FAO)⁷ "prebiotics are nondigestible ingredients that beneficially affect the host by selectively stimulating the growth and/or activity of one or a limited number of bacteria in the colon."

In addition to studies of prebiotics, researchers have evaluated the effect of probiotics and synbiotics on the bioavailability of minerals and the modulation of intestinal microbiota.⁸⁻¹⁰ Probiotics are "live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit to the host."¹¹ A synbiotic is an "ingredient and/or food that contains both probiotic and prebiotic components with demonstrated benefits to human health".¹²

In the studies available, the prebiotics evaluated are usually those of commercial origin, extracted from chicory and artichokes of high cost.^{8,13,14} However, yacon presents a low production cost and high productivity per hectare.¹⁵ It is known that the predominant dietary fiber fraction in yacon is FOS, and therefore, it was selected for the present study in order to evaluate the effects of FOS in yacon flour, which is responsible for about two thirds of its prebiotic activity. Until now, this study was the only assessment of yacon flour associated with probiotics. Thus, the objective here was to determine the effect of yacon flour, associated with probiotic (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707), on modulation of the content of minerals in bones by taking into consideration biomechanical properties. The concentrations of triglyceride, total cholesterol and its fractions, short-chain fatty acids (SCFAs), pH cecal, microbiota of cecal content and parameters of liver toxicity risk in the animals were also assessed.

MATERIAL AND METHODS

Obtaining the yacon flour

Yacon (115,5 kg) was purchased on the local market (Viçosa/MG, Brazil) and after selecting, washing, peeling and weighing the roots they were subjected to the flour preparation process according to the methodology of Rodrigues et al.¹⁶ It was dried (48 h at 55°C) in an airflow dryer (Polidryer-DP, Viçosa, Brazil). Chemical composition was determined as indicated by the AOAC¹⁷ method, resulting in the following values per 100 grams: 6.9 g of moisture, 2.7 g of proteins, 0.15 g of fat, 5.4 g of ashes, 13.25 g of total fibers, 8.6 g of glucose, 21.1 g of fructose, 16.3 g of sucrose and 25.7 g of FOS.

Source and concentration of the probiotic culture

The culture of *Bifidobacterium longum* (American Type Culture Collection - ATCC 15707, Rockville, USA) was obtained by transplant of the culture deposited in the Culture Collection of the Federal University of Viçosa (UFVCC, Viçosa, Brazil). After thawing, it was then activated (1%) three consecutive times in MRS modified broth (De Mann, Ragoso and Sharpe, Difco, Detroit, USA) with 0.075% agar, 0.02% sodium carbonate, 0.01% calcium chloride dihydrate and 1% solution of 0.05% L-cysteine + HCl. The culture was incubated (18-24 h at 37°C) in anaerobic jars (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA).

For production of cell concentrate, 2% of the active culture was inoculated in 500 mL of MRS modified broth under the same incubation conditions as those described above. After cell growth, the material was distributed in sterile polypropylene centrifuge tubes followed by centrifugation at 2750 x g for 10 min at 4°C. This was followed by two washes, then the pellet was resuspended in 100 mL of sterile phosphate buffer, pH 7.2. The final pellet was resuspended in 10 mL of the same buffer (concentrate containing 10⁹ CFU mL⁻¹).

Animals and experimental diets

Thirty-two male Wistar rats (average weight, 109.9 ± 6.27g) were obtained from the Vivarium of the UFV. All experimental procedures were approved by the Ethics Committee of the Veterinary Department of the UFV/MG. Animals were individually housed in stainless steel wire-bottom cages in an environmentally controlled room (22 ± 2°C) with a 12 h light-dark cycle and received demineralized

water *ad libitum* and AIN-93G based experimental diets¹⁸ for 28 days. Diet + *B. longum* and yacon flour + *B. longum* groups received 0.1 mL concentrated of *B. longum* via direct gavage daily containing 10^9 CFU mL⁻¹ and the other groups received 0.1 mL of demineralized water (Table 1).

TABLE 1

Contents of protein, dietary fiber, carbohydrates and lipids provided by the yacon flour were considered to balance ingredients from the AIN-93G diet, so that all diets were isocaloric. Calcium carbonate was added in order to meet 100% of the recommendations for Ca in growing animals.¹⁸

Experimental design

The animals were divided into 4 groups (n = 8) as follows: control AIN-93G diet (C); yacon flour (Y); diet + *B. longum* (B); yacon flour + *B. longum* (YB). Food intake was determined daily while body weight was determined weekly. The feed efficiency (CEA) was determined as the weight gain/total food intake. At the end of the study, the animals were euthanised in a CO₂ chamber, followed by assessment of liver function variables, bone biomechanical properties, bone mineral content, lipid profile, concentrations of cecum SCFAs, pH and target groups of intestinal microbiota.

Determination of serum biochemical dosages

After euthanasia, blood was collected from each animal by cardiac puncture. The samples were centrifuged at $2,865 \times g$ for 15 minutes (Fanem-204, São Paulo, Brazil) to obtain the serum required for analysis of variables related to liver injury (total protein, albumin, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase-ALT and aspartate aminotransferase-AST) and evaluation of the lipid profile (total cholesterol, HDL-cholesterol (HDL-c), LDL-cholesterol (LDL-c) and triglycerides). The ratios of total cholesterol/HDL and LDL-c/HDL-c were also determined and the analyses were carried out using automated enzymatic and colorimetric "Kits" (Bioclin, Belo Horizonte, Brazil).

Evaluation of biomechanical properties and mineral content

The femur length, distance from the top edge of the head to the bottom edge of the medial condyle, and the thickness, in the midpoint of the length measurement were determined using a stainless steel caliper. The bone weight was measured on a digital electronic scale (Marte-AS 2000C, São Paulo, Brazil). For analysis of bone fracture resistance (fracture strength) we used the fracture test by three-points on the texturometer TA.HDi Texture Analyser (Stable Micro System, Godalming, UK).^{19,20}

Samples of tibia were prepared according to methodology recommended by AOAC.¹⁷ Minerals (Ca, Mg and P) were determined by plasma emission spectrophotometry (Perkin-Elmer Optima 3300 DV, Norwalk, USA) with a detection limit of 0.02 µg g⁻¹ for Ca, 0.1 µg g⁻¹ for Mg, and 30 µg g⁻¹ for P.

Evaluation of the microbiota, weight, pH and concentrations of SCFAs in the cecum

The cecum of 4 animals per group were removed, weighed and submitted to decimal dilutions using reduced sterile peptone water as the diluent. Samples were submitted to pH determination with a pH meter (Bel Engineering-W3B, Monza, Italy). Bifidobacteria were enumerated in modified MRS agar + 5% antibiotic solution and incubated (72 h at 37°C) in anaerobic jars (Gas Pak jar, Franklin Lakes, USA), lactobacilli were enumerated in Rogosa agar (Difco, Detroit, USA), and total anaerobes were enumerated in Wilkins Chalgren agar (Difco, Detroit, USA) and were incubated at 37°C for 48 h in anaerobic jars. Mesophile aerobic in PCA (Plate Count Agar, Difco, Detroit, USA) was incubated at 37°C for 24 h and enterococci in *Enterococcus* agar (Difco, Detroit, USA) was incubated at 37°C for 48 h. The microbiological count was expressed as log₁₀ CFU g⁻¹.

Samples for analysis of SCFAs (acetic acid, propionic and butyric) were acidified with 500 µL of meta-phosphoric acid at 25%, maintained at rest for 30 minutes at room temperature and centrifuged (CT15RE-Hitachi, Tokyo, Japan) at 16.100 x g (4°C, 30 min). Supernatant was then transferred to another micro tube. Centrifugation followed for 20 minutes under the same conditions described previously. This second supernatant was then used to determine the concentration of SCFAs by gas chromatography,²¹ in a chromatograph (Shimadzu-17A, Tokyo, Japan). The chromatographic conditions were: column temperature 100°C for 5 minutes and 185°C for 10 minutes, injector and detector temperatures 220°C and 250°C, respectively, and column flow 1.0 mL/minute.

Statistical analysis

Data were interpreted by analysis of variance and treatment means were compared using the Duncan test at 5% probability. All statistical analyses were performed using the Statistical Analysis System (SAS) software²² version 9.2 licensed for UFV.

RESULTS

Weight gain, food intake and liver function variables

There was no difference ($P>0.05$) in weight gain (96.9 ± 20.4 g), total food intake (372.9 ± 29.38 g) or feed efficiency (0.2 ± 0.05) between groups after 28 days of the test period. No symptoms of gastrointestinal disorders were observed. Consumption of yacon flour, *B. longum* and combination diets did not affect the growth and development of animals. In the *B. longum* group, the levels of total protein and albumin were higher ($P<0.05$) than in the other treatments. However, the levels of ASL, AST and alkaline phosphatase did not differ between groups ($P>0.05$) (Table 2).

TABLE 2

Biomechanical properties and bone mineral content

The absolute weight, thickness, length and strength of fracture of the femur did not differ between experimental groups ($P>0.05$) (Table 3).

TABLE 3

The results of bone mineral content are presented in Table 4. Weight of the tibia did not differ in any of the treatments ($P>0.05$). In the yacon flour group, the contents of Ca, P and Mg did not differ from those of the control group, however, there was a significant increase in these minerals observed in the animals fed B and YB diets ($P<0.05$). The YB group presented a higher concentration of Ca and Mg than the yacon flour group ($P<0.05$).

TABLE 4

Effect on microbiota, weight, pH and concentration of SCFA in the cecum

Mesophilic aerobes and enterococci counts in cecal contents of the animals did not differ among the groups ($P>0.05$). The highest mesophilic anaerobic count ($P<0.05$) was attained by the Y group (Fig. 1.A) and the lowest lactobacilli count was observed in the

YB group ($\log 4.94 \text{ CFU g}^{-1}$) (Fig. 1.B). Although not significant ($P>0.05$), when compared to the control ($\log 4.58 \text{ CFU g}^{-1}$), the absolute bifidobacteria counts were higher in all the other treatments ($\log 5.07 \text{ CFU g}^{-1}$ for YB; $\log 4.95 \text{ CFU g}^{-1}$ for B and $\log 4.79 \text{ CFU g}^{-1}$ for Y).

FIGURE 1

When all the groups are compared, the weight of the cecum was greatest ($P<0.05$) in the animals fed the Y diet. Cecum weight from the animals receiving the YB diet was higher ($P<0.05$) than that of the control and B groups. The pH of the cecal contents was not affected by the different test diets ($P>0.05$). Concentration of acetate in the cecum did not differ among groups; however, the levels of propionate were higher in all treatments when compared to the control ($P<0.05$). Similarly, animals of the Y and B groups had a higher concentration of butyrate than those of the control and YB groups ($P<0.05$) (Table 5).

TABLE 5

Effect on lipid profile

Table 6 presents the results of the lipid profile. Total cholesterol was lower ($P<0.05$) in rats receiving the Y diet when compared to the other experimental groups; however, in the B group, the concentration of total cholesterol was higher than the control ($P<0.05$).

TABLE 6

The Y group differed from the others in relation to HDL-c, showing the lowest value ($P<0.05$); however, among the B, YB and control groups, no significant differences were detected. The different diets did not affect the total cholesterol/HDL ratio or triglyceride levels ($P>0.05$). LDL-c levels in the animals that received the Y and YB diets did not differ from the control; however, there was an increase of LDL-c in the B group when compared to the other groups ($P<0.05$). In the Y and B groups the LDL-c/HDL-c ratio was significantly higher than in the YB, but the B group did not differ from the control ($P>0.05$). The YB group presented the lowest LDL-c/HDL-c ratio which did not differ from the control.

DISCUSSION

Throughout the experimental period the animals remained healthy and showed no behavioral abnormalities. In the present study, there was no difference in indicators of liver function (AST, ALT and alkaline phosphatase) indicating that consumption of the experimental diets did not harm the activity of the liver. Although variations were observed in levels of total protein and albumin in animals that received the *B. longum* diet, the weight gain and CEA of these animals did not differ from the other experimental groups ($P>0.05$) indicating absence of liver toxicity during the 28 days of experimentation. Similar studies corroborate the absence of toxicity of yacon. GENTA *et al.*²³ evaluated the toxicity of four month consumption of yacon flour containing FOS at concentrations about 0.6% and 13.0% and similarly concluded no significant differences in the concentrations of total proteins, albumin, AST, ALT, and alkaline phosphatase in rats were found when compared to the control group.

Regarding the biomechanical properties, higher percentage fracture strength was observed when compared to the control in the Y (8.1%), B (8.6%) and YB groups (14.6%). From a clinical standpoint, this percentage in increased bone strength plays an important potential role in preventing chronic diseases, such as osteoporosis, since it is characterized by low bone mass and deterioration of bone tissue structure, which then leads to bone fragility making one more susceptible to fractures.²⁴ These findings have also been obtained by LOBO *et al.*²⁵ The authors, in assessing the prebiotic characteristics of yacon at FOS concentrations of 5% and 7.5% for 27 days, in an animal model, found a higher peak load and stiffness in the experimental animals receiving yacon flour, and concluded that this feature might have contributed to the observed strengthening of the bone structure of the femur.

In the present study, the animals fed B and YB diets had higher concentrations of Ca, Mg and P in the tibia ($P<0.05$), and, since the Y group did not differ from the control and considered together with the fracture strength data, these results suggest that the probiotic might aggregate value to the yacon flour when these variables are taken into account. In fact, studies have shown that even in the absence of prebiotics, probiotics can positively influence bone growth due to the ability of these bacteria to synthesize enzymes and various vitamins necessary for bone growth and matrix formation, such as the vitamins D, C, K, folate and B complexes.^{26,27} In addition, bifidobacteria are responsible for the production of SCFAs that act to reduce pH, favoring the

solubilization of minerals and their absorption by the paracellular pathway.^{14,28} In the present study, no observed significant difference between the control group and the probiotic in regards to the retention of minerals might be related to the dose and type of FOS evaluated. Studies published in literature generally use commercial purified FOS, but in this study, 4% FOS was used as present in a food matrix (yacon flour). Using higher doses (7.5%), LOBO *et al.*²⁵ found that consumption of FOS increased the concentration of Ca in the femur and tibia of rats. Therefore, to obtain similar results, a higher proportion of consumed yacon flour may be necessary. However, care should be taken as high consumption of FOS might lead to flatulence and discomfort to the host.²⁹ Results obtained herein suggest that addition of *B. longum* to the yacon flour appears to be more interesting than the yacon flour alone in order to significantly increase the concentration of minerals in the bones. Besides contributing to better bone health, the association of a lower dose of the prebiotic in comparison to the probiotic might also potentially contribute to decreased risk of gastrointestinal disorders due to the presence of beneficial intestinal microorganisms.

In this study, the yacon flour group had a mesophilic anaerobic count higher than the other groups, suggesting a modulation in the composition of the intestinal microbiota. All test diets showed an increase in the concentration of propionate when compared to the control. There was also an increase in butyrate concentration in animals of the B and Y groups. These SCFAs act in maintaining colon health by providing energy to cells and stimulating differentiation and proliferation of the epithelium, which can increase the absorption capacity.^{30,31} The cecum weight was higher in animals receiving Y and YB diets, probably due to the increase of biomass as a result of greater fermentation in this site. Such trophic effects, observed in *in vivo* studies^{14,32}, might be a consequence of the increasing production of SCFAs as a result of metabolic activity of intestinal microbiota, which also favors an increase in absorptive area. Results of a similar study²⁵ are in agreement with this study, since an increase in cecal contents was observed in rats that consumed 5% and 7.5% of FOS in yacon flour. Recently, Weaver *et al.*³³ found a positive correlation between cecal weight and Ca content in the femur, suggesting that the osmotic effect, hypertrophy or permeability increase of enterocytes due to the consumption of prebiotics might have been involved in increased absorption of minerals. Therefore, the cecum weight seems to be an important variable to be considered in the assessment of bone health when probiotics and prebiotics are being considered.

In the present experiment, when compared to the control, the lipid profile was positively affected by the YB diet since: i) HDL-C was 6.0% higher, ii) the ratio of total cholesterol/HDL-C was 5.0% lower, iii) LDL-C did not significantly differ, and iv) the LDL-C/HDL-C ratio was significantly lower, by about 7.0%. Therefore, the data obtained herein suggest that yacon flour associated with *B. longum* might contribute to the maintenance of the lipid profile of the host, although conclusive studies can only be considered when performed on specific models. In conclusion, the consumption of *B. longum* and yacon flour + *B. longum* had a positive influence on retention of minerals, increasing their concentrations in bones. It is suggested that further studies be performed with yacon flour associated with *B. longum* using longer test periods in order to verify whether the effects observed in this study actually have a lasting effect through improvement of mineral metabolism and strengthening of the bone structure.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by FAPEMIG.

AUTHOR DISCLOSURE STATEMENT

No competing financial interests exist.

REFERENCES

1. Lachman J, Fernández EC, Orsák M: Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. *Plant soil environ.* 2003;49(6):283-90.
2. Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S: Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends Food Sci Technol.* 2011;22(1):40-6.
3. Grau A, Rea J: Yacon *Smallanthus sonchifolius* (Pop. & Endl.) H. Robinson. In: *Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon.* (Hermann MHJ, ed.) Rome: Italy 1997.
4. Aybar MJ, Sánchez Riera AN, Grau A, Sánchez SS: Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2001;74(2):125-32.
5. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res.* 2004;17(02):259-75.
6. Sales RL, Rodrigues FC, Costa NMB, Ferreira CLLF: Yacon aspectos nutricionais, tecnológicos e funcionais. In: *Alimentos Funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos.* (Costa NMB, Rosa COB, ed.) Ed. Rúbio, Rio de Janeiro, 2010, p. 229-39.
7. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS). <http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/prebioticstechmeetingreport.pdf>. (accessed 26 jun 2010).
8. Perez-Conesa D, Lopez G, Ros G: Effects of probiotic, prebiotic and synbiotic follow-up infant formulas on large intestine morphology and bone mineralisation in rats. *J Sci Food Agric.* 2007;87:1059-68.
9. Ferreira CLL, Teshima E, Costa NMB: Effect of probiotic, prebiotic synbiotic on colon and cecum microbiota of rats. *Int J Probiot Prebiot.* 2008;3(2):71-6.

10. Klobukowski J, Modzelewska-Kapitula M, Kornacki K: Calcium bioavailability from diets based on white cheese containing probiotics or synbiotics in short-time study in rats. *J Nutr.* 2009;8(7):933-6.
11. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food London, Ontario, Canada, 30 April-1 May 2002. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelinespdf. (accessed 30 jun 2010).
12. Gibson GR, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 1995;125(6):1401-12.
13. Azorín-Ortuño M, Urbán C, Cerón JJ, Tecles F, Allende A, Tomás-Barberán FA, Espin JC: Effect of low inulin doses with different polymerisation degree on lipid metabolism, mineral absorption, and intestinal microbiota in rats with fat-supplemented diet. *Food Chem.* 2009;113(4):1058-65.
14. Campbell JM, Fahey GC, Wolf BW: Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J Nutr.* 1997;127(1):130-6.
15. Oliveira MA, Nishimoto EK: Avaliação do desenvolvimento de plantas de yacon (*Polymnia sonchifolia*) e caracterização dos carboidratos de reservas em HPLC. *Braz J Food Technol.* 2004;7(2):215-20.
16. Rodrigues FC, Castro ASB, Martino HSD, Ferreira, CLLF: Farinha de yacon (*Smallanthus sonchifoli*): produção e caracterização química. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2011;70(3). "In press".
17. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of analysis of the AOAC*. 12^a ed. Washington 1997.
18. Reeves P, Nielsen F, Fahey G: AIN-93 Purified diets for laboratory rodents final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 a rodent diet. *J Nutr.* 1993;123:1939-51.

19. Shiga K, Hara H, Takahashi T, Aoyama Y, Furuta H, Maeda H: Ingestion of water-soluble soybean fiber improves gastrectomy-induced calcium malabsorption and osteopenia in rats. *Nutr.* 2002;18(7-8):636-42.
20. Tsanzi E, Light HR, Tou JC: The effect of feeding different sugar-sweetened beverages to growing female Sprague–Dawley rats on bone mass and strength. *Bone.* 2008;42(5):960-8.
21. Erwin ES, Marco GJ, Emery EMJ: Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid gas chromatography. *Dairy Sci.* 1961;44:1768-71.
22. Statistical Analysis System (SAS). Institute Inc., Cary, NC, U.S.A.
23. Genta SB, Cabrera WM, Grau A, Sánchez SS: Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. *Food Chem Toxicol.* 2005;43(11):1657-65.
24. Rizer MK: Osteoporosis. *Prim Care Clin Office Pract.* 2006;33:943-51.
25. Lobo A, Colli C, Alvares EP, Filisetti TMCC: Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *Br J Nutr.* 2007;97:776-85.
26. Arunachalam KD: Role of Bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. *Nutr Res.* 1999;19(10):1559-97.
27. Crittenden RG, Martinez NR, Playne M.: Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. *Inter J Food Microbiol.* 2003;80(3):217-22.
28. Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Adachi T, Sakata T, Sakaguchi E: Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. *J Nutr.* 1995;125(9):2417-24.
29. Bouhnik Y, Vahedi K, Achour L, Attar A, Salfati J, Pochart P, Marceau P, Flourie B, Rambaud FB: Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. *J Nutr.* 1999;129(1):113-6.

30. Hijova E, Chmelarova A: Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl Lek Listy*. 2007;108:354-8.
31. Tuohy KM, Rouzaud GC, Bruck WM, Gibson G: Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics-assessment of efficacy. *Curr Pharm Des*. 2005;11:75-90.
32. Levrat MA, Rémésy C, Demigné C: High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. *J Nutr*. 1991;121(11):1730-7.
33. Weaver CM, Martin BR, Story JA, Hutchinson I, Sanders L: Novel fibers increase bone calcium content and strength beyond efficiency of large intestine fermentation. *J Agric Food Chem*. 2010;58(16):8952-7.

TABLE 1. COMPOSITION OF THE EXPERIMENTAL DIETS (g 100g⁻¹)

Ingredients	C ¹	Y ²	B ³	YB ⁴
Albumin ⁵	20	20	20	20
Dextrinized starch ⁶	13.2	13.2	13.2	13.2
Sucrose ⁷	10	2.83	10	2.83
Soybean Oil ⁸	7	7	7	7
Fiber (microfine cellulose) ⁹	8	4	8	4
Mineral mix without calcium ¹⁰	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix ¹¹	1	1	1	1
L-cystine ¹²	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline Bitartrate ¹³	0.25	0.25	0.25	0.25
Corn starch ¹⁴	35.5	31.09	35.5	31.09
Yacon flour (FOS) ¹⁵	---	15.6	---	15.6
Calcium (CaCO ₃) ¹⁶	1.25	1.25	1.25	1.25
Bifidobacteria ¹⁷	---	----	0.1 mL	0.1 mL
Demineralized water	0.1 mL	0.1 mL	---	----
Caloric density (kcal g ⁻¹)	3.54	3.32	3.54	3.32

1 - C: control diet AIN93-G.

2 - Y: yacon flour contains 4% FOS.

3 - B: diet + *B. longum* ATCC 15707.

4 - YB: yacon flour + *B. longum*

Brand/Supplier:

5,6 - Maximum/ARVE, Viçosa/MG - Brazil. 7 - Sugar Union/Market, Viçosa/MG - Brazil. 8 - SOYA/Market, Viçosa/MG - Brazil. 9,10,11,12,13,16 - Rhooster/SP - Brazil. 14 - Anchieta/Market, Viçosa/MG - Brazil. 15- Department of Food Technology - UFV/MG - Brazil. 17 – Laboratory of Lactic Cultures of Bioagro, UFV/MG – Brazil.

TABLE 2. LIVER FUNCTION PARAMETERS IN THE SERUM OF WISTAR RATS

Variables	C ¹	Y ²	B ³	YB ⁴	P value
Total protein (g/L)	60.20 ± 4.34 ^b	58.85 ± 6.54 ^b	70.26 ± 4.49 ^a	63.49 ± 3.42 ^b	0.0003
Albumin (g/dL)	3.42 ± 0.11 ^b	3.43 ± 0.21 ^b	3.69 ± 0.13 ^a	3.56 ± 0.15 ^{ab}	0.0044
AST (UI)	204.29 ± 84.97	193.88 ± 51.36	223.57 ± 54.92	213.57 ± 47.20	0.7952
ALT (UI)	39.12 ± 13.58	37.25 ± 4.03	41.50 ± 15.20	34.62 ± 16.70	0.7672
Alkaline phosphatase (UI)	156.88 ± 46.83	142.75 ± 25.89	148.00 ± 29.71	139.12 ± 32.63	0.7575

Average values ± standard deviation, n=8. Significance (P < 0.05): Averages followed by the same letter in the row for each variable do not differ by the Duncan test.

1 - C: control diet AIN93-G.

2 - Y: yacon flour contains 4% FOS.

3 - B: diet + *B. longum* ATCC 15707.

4 - YB: yacon flour + *B. longum*

TABLE 3. BIOMECHANICAL PROPERTIES IN WISTAR RATS FEMURS

Variables	C ¹	Y ²	B ³	YB ⁴	P value
Absolute weight (g)	0.60 ± 0.04	0.63 ± 0.04	0.64 ± 0.04	0.64 ± 0.04	0.2035
Thickness (mm)	4.60 ± 0.22	4.58 ± 0.32	4.42 ± 0.25	4.50 ± 0.32	0.5643
Length (mm)	32,30 ± 0,47	32.04 ± 0.87	32.27 ± 0.59	31.40 ± 0.95	0.0804
Force of fracture (N)*	92.35 ± 11.19	99.86 ± 7.30	100.33 ± 9.60	105.81 ± 21.70	0.2876

Average values ± standard deviation, n=8. Significance (P<0.05): Averages followed by the same letter in the row for each variable do not differ by the Duncan test.

1 - C: control diet AIN93-G.

2 - Y: yacon flour contains 4% FOS.

3 - B: diet + *B. longum* ATCC 15707.

4 - YB: yacon flour + *B. longum*

*N - Newton

TABLE 4. MINERAL CONTENT (%) IN THE TIBIA OF WISTAR RATS

Variables	C ¹	Y ²	B ³	YB ⁴	P value
Bone weight (g)	0.45 ± 0.03	0.47 ± 0.04	0.45 ± 0.06	0.46 ± 0.02	0.6962
Calcium content	7.55 ± 1.20 ^b	7.82 ± 1.07 ^b	9.50 ± 0.57 ^a	8.91 ± 0.77 ^a	0.0007
Phosphorus content	8.88 ± 1.21 ^c	9.18 ± 1.09 ^{bc}	10.75 ± 1.42 ^a	10.27 ± 0.57 ^{ab}	0.0067
Magnesium content	0.62 ± 0.13 ^b	0.66 ± 0.14 ^b	0.80 ± 0.08 ^a	0.82 ± 0.07 ^a	0.0022

Average values ± standard deviation. n=8. Significance (P<0.05): Averages followed by the same letter in the row for each variable do not differ by the Duncan test.

1 - C: control diet AIN93-G.

2 - Y: yacon flour contains 4% FOS.

3 - B: diet + *B. longum* ATCC 15707.

4 - YB: yacon flour + *B. longum*

TABLE 5. CONCENTRATIONS OF SHORT CHAIN FATTY ACID (mmol/L), pH

VALUES AND CECUM WEIGHT OF WISTAR RATS

Variables	C ¹	Y ²	B ³	YB ⁴	P value
pH	7.62 ± 0.34	7.41 ± 0.32	7.48 ± 0.14	7.47 ± 0.17	0.6031
Weight (g)	1.62 ± 0.05 ^c	4.70 ± 0.54 ^a	1.96 ± 0.17 ^c	2.72 ± 0.24 ^b	0.0001
Acetate	33.95 ± 9.55	43.62 ± 16.19	41.82 ± 8.06	39.93 ± 8.66	0.3492
Propionate	15.38 ± 6.96 ^b	31.30 ± 10.98 ^a	25.83 ± 9.05 ^a	25.20 ± 7.31 ^a	0.0095
Butyrate	7.37 ± 1.86 ^b	15.67 ± 4.51 ^a	12.31 ± 4.42 ^a	8.29 ± 1.41 ^b	0.0001

Average values ± standard deviation. n=8. Significance (P < 0.05): Averages followed by the same letter in the row for each variable do not differ by the Duncan test.

1 - C: control diet AIN93-G.

2 - Y: yacon flour contains 4% FOS.

3 - B: diet + *B. longum* ATCC 15707.

4 - YB: yacon flour + *B. longum*

TABLE 6. LIPID PROFILE (mg/dL) IN THE SERUM OF WISTAR RATS

Variables	C ¹	Y ²	B ³	YB ⁴	P value
Total cholesterol	97.26 ± 12.58 ^b	80.89 ± 9.62 ^c	117.46 ± 8.53 ^a	103.15 ± 22.58 ^{ab}	0.0030
HDL-c	39.97 ± 3.10 ^a	32.94 ± 3.79 ^b	44.86 ± 5.36 ^a	42.37 ± 7.55 ^a	0.0003
Total cholesterol/HDL	2.45 ± 0.39	2.46 ± 0.26	2.63 ± 0.21	2.33 ± 0.32	2.2772
LDL-c	33.97 ± 7.00 ^b	35.87 ± 4.89 ^b	44.36 ± 7.03 ^a	34.20 ± 3.47 ^b	0.0034
LDL-c/HDL-c	0.85 ± 0.18 ^{bc}	1.10 ± 0.19 ^a	1.00 ± 0.22 ^{ab}	0.79 ± 0.17 ^c	0.0112
Triglycerides	91.36 ± 21.23	80.48 ± 17.07	101.30 ± 13.98	85.35 ± 30.52	0.2701

Average values ± standard deviation. n=8. Significance (P < 0.05): Averages followed by the same letter in the row for each variable do not differ by the Duncan test.

1 - C: control diet AIN93-G.

2 - Y: yacon flour contains 4% FOS.

3 - B: diet + *B. longum* ATCC 15707.

4 - YB: yacon flour + *B. longum*

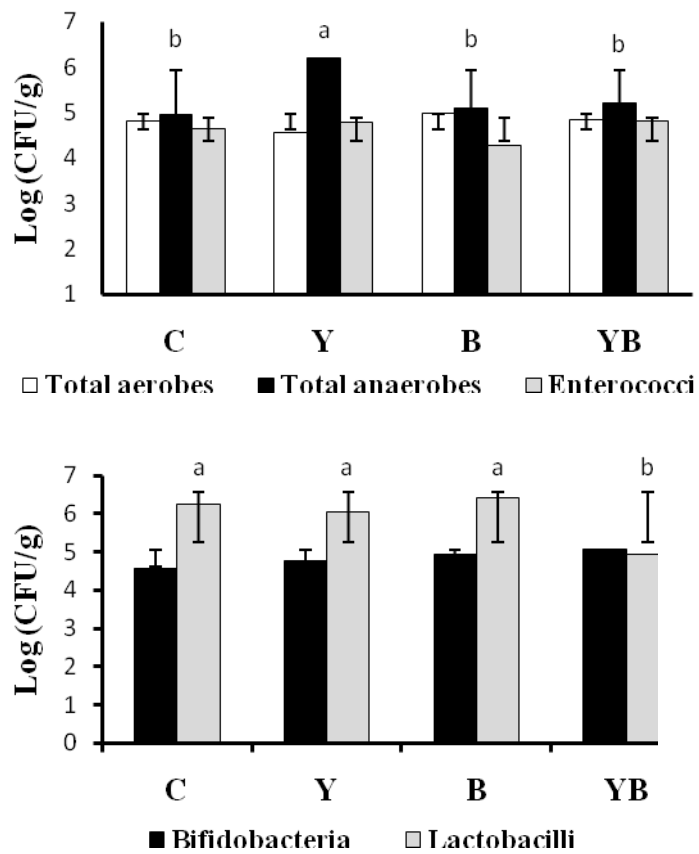


FIG. 1. Control AIN-93G diet (C); yacon flour (Y); diet + *B. longum* (B); yacon flour + *B. longum* (YB). Average values $\pm$ standard deviation (vertical bar), n=4. Significance ($P < 0.05$): treatments with the same letter do not differ by the Duncan test.

9.2- DADOS BRUTOS DOS EXPERIMENTOS

9.2.1. Farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico (*B. longum*) e simbiótico em modelo murino (estudo III)

Dieta	Repetição	Peso inicial (g)	Ganho de peso (g)	Consumo total (g)	CEA
Controle ¹	1	115,00	93,00	408,62	0,23
	2	112,00	120,00	419,63	0,29
	3	109,00	79,00	333,94	0,24
	4	112,00	80,00	356,99	0,22
	5	104,00	115,00	338,23	0,34
	6	103,00	108,00	295,64	0,22
	7	109,00	75,00	403,88	0,27
	8	128,00	77,00	375,25	0,21
	média	111,50	93,38	366,52	0,25
Prebiótico ²	1	112,00	76,00	332,68	0,23
	2	115,00	89,00	372,96	0,24
	3	112,00	87,00	391,87	0,22
	4	110,00	106,00	406,24	0,26
	5	98,00	85,00	323,41	0,26
	6	103,00	99,00	357,12	0,28
	7	104,00	87,00	358,88	0,24
	8	109,00	172,00	385,51	0,45
	média	107,88	100,13	366,08	0,27
Probiótico ³	1	106,00	95,00	391,68	0,24
	2	101,00	102,00	377,71	0,27
	3	106,00	96,00	383,05	0,25
	4	110,00	107,00	395,96	0,27
	5	113,00	114,00	375,86	0,28
	6	113,00	93,00	408,35	0,23
	7	110,00	100,00	377,20	0,27
	8	118,00	106,00	380,82	0,24
	media	109,63	101,63	386,33	0,26
Simbiótico ⁴	1	118,00	114,00	401,47	0,28
	2	110,00	84,00	358,18	0,23
	3	113,00	96,00	394,09	0,24
	4	106,00	91,00	377,12	0,24
	5	106,00	110,00	377,44	0,29
	6	113,00	105,00	392,56	0,27
	7	101,00	56,00	352,30	0,16
	8	118,00	83,00	326,89	0,17
	média	110,63	92,38	372,51	0,24

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707)

4- Simbiótico (prebiótico + probiótico).

Dieta	Repetição	Comprimento fêmur (mm)	Espessura fêmur (mm)	Peso fêmur (g)	Força fratura fêmur (m kg s ⁻²)
Controle ¹	1	32,47	4,42	0,56	82,63
	2	33,10	4,13	0,67	86,97
	3	32,60	4,60	0,56	103,23
	4	32,18	4,73	0,60	80,60
	5	31,75	4,72	0,58	89,73
	6	31,62	4,73	0,58	101,15
	7	32,38	4,83	0,64	83,73
	8	32,32	4,65	0,63	110,75
	média	32,30	4,60	0,60	92,35
Prebiótico ²	1	32,35	4,88	0,57	85,58
	2	32,55	4,13	0,66	102,34
	3	32,47	4,22	0,65	99,99
	4	32,90	4,22	0,66	106,02
	5	30,10	4,80	0,69	98,92
	6	31,57	4,75	0,60	97,02
	7	32,28	4,77	0,60	98,47
	8	32,08	4,85	0,63	110,51
	média	32,04	4,58	0,63	99,86
Probiótico ³	1	32,20	4,47	0,63	89,52
	2	32,05	4,78	0,58	114,43
	3	32,85	4,25	0,68	92,48
	4	32,65	4,38	0,71	110,14
	5	32,35	4,78	0,61	91,65
	6	31,40	4,22	0,63	103,14
	7	33,08	4,12	0,63	107,30
	8	31,55	4,33	0,66	94,02
	média	32,27	4,42	0,64	100,34
Simbiótico ⁴	1	31,40	4,87	0,64	140,73
	2	31,32	4,72	0,60	121,74
	3	31,40	4,12	0,63	107,56
	4	30,38	4,20	0,62	103,85
	5	32,67	4,20	0,70	84,59
	6	32,83	4,32	0,69	116,10
	7	31,02	4,82	0,65	70,57
	8	30,18	4,78	0,59	101,37
	média	31,40	4,50	0,64	105,82

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707)

4- Simbiótico (prebiótico + probiótico).

Dieta	Rep.	Peso tibia (g)	Fósforo (%)	Cálcio (%)	Magnésio (%)	Acetato (mmol/L)	Propionato (mmol/L)	Butirato (mmol/L)
Controle ¹	1	0,47	7,83	6,65	0,55	41,12	18,71	6,91
	2	0,48	8,92	8,76	0,67	31,24	16,82	8,20
	3	0,44	8,97	7,48	0,63	20,72	7,94	6,24
	4	0,44	6,80	5,10	0,39	40,01	19,31	3,69
	5	0,40	8,96	7,84	0,66	19,88	8,06	8,96
	6	0,45	8,74	7,82	0,67	38,81	16,71	8,58
	7	0,43	10,50	7,90	0,84	33,82	8,01	9,43
	8	0,48	10,36	8,82	0,59	46,04	27,46	6,95
	média	0,45	8,88	7,55	0,62	33,96	15,38	7,37
Prebiótico ²	1	0,48	7,51	6,12	0,59	60,74	37,28	16,97
	2	0,53	8,00	6,46	0,68	51,11	26,86	14,96
	3	0,39	9,49	7,83	0,46	60,10	36,51	18,05
	4	0,46	9,18	7,82	0,68	57,97	53,55	18,97
	5	0,47	8,63	7,84	0,84	32,36	25,96	9,63
	6	0,47	10,75	9,20	0,85	23,87	23,37	22,75
	7	0,45	10,00	8,55	0,73	41,23	28,53	14,35
	8	0,50	9,91	8,73	0,48	21,56	18,39	9,73
	média	0,47	9,18	7,82	0,66	43,62	31,31	15,68
Probiótico ³	1	0,45	9,97	9,09	0,73	44,52	28,02	15,73
	2	0,46	10,06	9,03	0,74	45,45	25,47	14,13
	3	0,38	11,03	9,96	0,84	36,11	27,32	15,55
	4	0,52	9,98	9,24	0,74	55,75	44,00	18,76
	5	0,33	14,08	10,56	0,93	33,69	17,29	6,19
	6	0,47	10,47	9,55	0,86	34,39	15,04	10,38
	7	0,47	9,69	8,85	0,71	48,89	29,51	10,43
	8	0,50	10,72	9,74	0,86	35,77	20,03	7,33
	média	0,45	10,75	9,50	0,80	41,82	25,83	12,31
Simbiótico ⁴	1	0,49	9,99	9,27	0,82	51,62	40,89	7,87
	2	0,45	11,28	9,71	0,96	38,00	27,76	7,29
	3	0,47	10,78	9,69	0,85	36,84	28,71	9,40
	4	0,46	10,04	8,93	0,74	35,72	21,87	11,16
	5	0,50	9,49	7,58	0,83	54,34	18,51	7,17
	6	0,43	10,55	8,04	0,76	33,32	23,24	8,32
	7	0,45	9,84	8,71	0,77	29,64	19,50	6,84
	8	0,44	10,16	9,35	0,84	39,93	21,14	8,29
	média	0,46	10,27	8,91	0,82	39,93	25,20	8,29

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707)

4- Simbiótico (prebiótico + probiótico).

Dieta	Rep.	Colesterol (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	Triacilgliceróis (mg/dL)	Colesterol/HDL-c (mg/dL)	LDL-c/HDL-c (mg/dL)
Controle ¹	1	93,00	43,00	31,50	78,80	2,16	0,73
	2	124,10	39,70	44,10	129,10	3,13	1,11
	3	87,20	41,70	33,30	106,70	2,09	0,80
	4	91,60	37,10	40,50	72,10	2,47	1,09
	5	82,90	39,10	27,90	68,70	2,12	0,71
	6	98,80	43,70	29,70	81,00	2,26	0,68
	7	98,10	41,10	40,50	85,50	2,39	0,99
	8	102,40	34,40	24,30	109,00	2,98	0,71
	média	97,26	39,98	33,98	91,36	2,45	0,85
Prebiótico ²	1	81,40	35,80	31,50	102,30	2,27	0,88
	2	82,20	29,10	38,70	57,60	2,82	1,33
	3	92,30	33,10	40,50	86,60	2,79	1,22
	4	67,70	29,10	29,70	83,30	2,33	1,02
	5	84,30	33,80	44,10	63,10	2,49	1,30
	6	91,60	40,40	33,30	75,40	2,27	0,82
	7	81,40	31,10	35,87	104,50	2,62	1,15
	8	66,20	31,10	33,30	71,00	2,13	1,07
	média	80,89	32,94	35,87	80,48	2,47	1,10
Probiótico ³	1	116,90	43,00	54,90	100,00	2,72	1,28
	2	116,90	40,40	51,30	113,40	2,89	1,27
	3	107,50	45,70	35,10	112,30	2,35	0,77
	4	115,50	42,40	44,10	84,40	2,72	1,04
	5	119,10	49,00	35,10	122,40	2,43	0,72
	6	122,00	47,00	47,70	84,40	2,60	1,01
	7	134,30	54,30	44,35	101,30	2,47	0,82
	8	107,50	37,10	42,30	92,20	2,90	1,14
	média	117,46	44,86	44,36	101,30	2,64	1,01
Simbiótico ⁴	1	106,80	48,30	33,30	62,00	2,21	0,69
	2	110,40	38,40	38,70	104,50	2,88	1,01
	3	85,80	43,70	29,70	45,30	1,96	0,68
	4	87,20	33,80	35,10	138,00	2,58	1,04
	5	86,50	44,40	29,70	65,40	1,95	0,67
	6	105,30	44,40	38,70	106,70	2,37	0,87
	7	90,10	42,40	33,30	67,60	2,13	0,79
	8	153,10	59,60	35,10	93,30	2,57	0,59
	média	103,15	44,38	34,20	85,35	2,33	0,79

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707)

4- Simbiótico (prebiótico + probiótico).

Dieta	Rep.	Enterococos log (UFC/g)	Aeróbios mesófilos log (UFC/g)	Bifidobactérias log (UFC/g)	Anaeróbios estritos e facultativos log (UFC/g)	Lactobacilos log (UFC/g)	pH cecal	Peso cecal (g)
Controle ¹	1	4,20	4,54	3,84	4,94	6,68	7,42	1,66
	2	5,08	5,20	5,32	5,36	6,25	8,16	1,67
	3	5,15	5,15	4,58	5,18	5,91	7,51	1,58
	4	4,18	4,32	4,58	4,28	6,15	7,52	1,57
	média	4,65	4,80	4,58	4,94	6,25	7,65	1,62
Prebiótico ²	1	4,90	4,18	4,92	5,98	6,15	7,50	4,42
	2	4,91	4,25	5,63	6,52	5,60	7,70	4,46
	3	5,28	5,38	5,18	5,92	6,36	7,50	4,41
	4	4,08	4,45	3,40	6,43	6,04	6,95	5,51
	média	4,79	4,57	4,78	6,21	6,04	7,41	4,70
Probiótico ³	1	4,96	5,08	6,69	6,11	6,63	7,55	1,77
	2	4,36	4,92	5,41	4,97	6,49	7,44	1,92
	3	3,65	5,32	3,74	4,94	6,15	7,60	2,17
	4	4,15	4,59	3,98	4,38	6,36	7,28	2,00
	média	4,28	4,98	4,96	5,10	6,41	7,47	1,96
Simbiótico ⁴	1	5,25	5,25	5,04	5,23	4,78	7,34	2,94
	2	4,87	5,00	4,68	5,08	4,81	7,56	2,52
	3	5,15	4,62	5,50	5,50	4,94	7,32	2,52
	4	3,99	4,50	5,07	5,08	5,23	7,68	2,91
	média	4,82	4,84	5,07	5,22	4,94	7,48	2,72

1-Controle: dieta AIN93-G.

2-Prebiótico (farinha de yacon com 4% FOS).

3- Probiótico (*Bifidobacterium longum* ATCC 15707)

4- Simbiótico (prebiótico + probiótico).

9.2.2. Efeito da farinha de yacon com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio em modelo murino (estudo II)

Dieta	Rep.	Peso tíbia (g)	Fósforo (%)	Cálcio (%)	Magnésio (%)
100% cálcio	1	0,47	7,83	6,65	0,55
	2	0,48	8,92	8,76	0,67
	3	0,44	8,97	7,48	0,63
	4	0,44	6,80	5,10	0,39
	5	0,40	8,96	7,84	0,66
	6	0,45	8,74	7,82	0,67
	7	0,43	10,50	7,90	0,84
	8	0,48	10,36	8,82	0,59
média		0,45	8,88	7,55	0,62
100% cálcio + FY* com 4% de FOS	1	0,48	7,51	6,12	0,59
	2	0,53	8,00	6,46	0,68
	3	0,39	9,49	7,83	0,46
	4	0,46	9,18	7,82	0,68
	5	0,47	8,63	7,84	0,84
	6	0,47	10,75	9,20	0,85
	7	0,45	10,00	8,55	0,73
	8	0,50	9,91	8,73	0,48
média		0,47	9,18	7,82	0,66
100% cálcio + FY com 8% de FOS	1	0,40	12,05	10,93	0,94
	2	0,47	7,81	6,83	0,50
	3	0,53	7,92	6,71	0,61
	4	0,36	11,85	10,74	0,38
	5	0,48	8,28	7,40	0,61
	6	0,43	10,64	9,39	0,88
	7	0,50	9,37	8,45	0,64
	8	0,38	11,00	10,09	0,79
média		0,44	9,86	8,82	0,67
75% cálcio	1	0,46	9,48	8,28	0,76
	2	0,48	7,85	6,73	0,64
	3	0,45	6,58	5,06	0,44
	4	0,47	7,77	6,65	0,63
	5	0,47	6,52	5,10	0,45
	6	0,44	9,39	8,29	0,78
	7	0,48	9,00	7,83	0,76
	8	0,44	9,06	8,14	0,75
média		0,46	8,21	7,01	0,65
75% cálcio+ FY Com 4% de FOS	1	0,44	7,77	9,32	0,62
	2	0,44	8,20	6,57	0,68
	3	0,43	10,78	9,78	0,82
	4	0,41	9,62	8,22	0,82
	5	0,43	8,93	7,47	0,69
	6	0,45	9,50	8,49	0,81
	7	0,48	9,79	8,49	0,85
	8	0,43	10,78	9,15	0,92
média		0,44	9,42	8,44	0,78

Dieta	Rep.	Peso tibia (g)	Fósforo (%)	Cálcio (%)	Magnésio (%)
75% cálcio FY +8% de FOS	2	0,46	8,12	9,44	0,63
	3	0,48	10,18	8,55	0,79
	4	0,53	9,11	7,98	0,80
	5	0,48	9,61	8,51	0,86
	6	0,51	9,32	8,20	0,88
	7	0,43	10,35	8,92	0,90
	8	0,41	11,10	9,41	0,86
	média	0,47	9,51	8,48	0,79

*FY – Farinha de yacon.

Dieta	Rep.	Peso inicial (g)	Ganho de peso (g)	Consumo total (g)	CEA	Comprimento fêmur (mm)	Espessura fêmur (mm)	Peso fêmur (g)	Força fratura fêmur (m kg s ⁻²)
100% cálcio	1	115,00	93,00	408,62	0,23	32,47	4,42	0,56	82,63
	2	112,00	120,00	419,63	0,29	33,10	4,13	0,67	86,97
	3	109,00	79,00	333,94	0,24	32,60	4,60	0,56	103,23
	4	112,00	80,00	356,99	0,22	32,18	4,73	0,60	80,60
	5	104,00	115,00	338,23	0,34	31,75	4,72	0,58	89,73
	6	103,00	108,00	295,64	0,22	31,62	4,73	0,58	101,15
	7	109,00	75,00	403,88	0,27	32,38	4,83	0,64	83,73
	8	128,00	77,00	375,25	0,21	32,32	4,65	0,63	110,75
	média	111,50	93,38	366,52	0,25	32,30	4,60	0,60	92,35
100% cálcio + FY com 4% de FOS	1	112,00	76,00	332,68	0,23	32,35	4,88	0,57	85,58
	2	115,00	89,00	372,96	0,24	32,55	4,13	0,66	102,34
	3	112,00	87,00	391,87	0,22	32,47	4,22	0,65	99,99
	4	110,00	106,00	406,24	0,26	32,90	4,22	0,66	106,02
	5	98,00	85,00	323,41	0,26	30,10	4,80	0,69	98,92
	6	103,00	99,00	357,12	0,28	31,57	4,75	0,60	97,02
	7	104,00	87,00	358,88	0,24	32,28	4,77	0,60	98,47
	8	109,00	172,00	385,51	0,45	32,08	4,85	0,63	110,51
	média	107,88	100,13	366,08	0,27	32,04	4,58	0,63	99,86
100% cálcio + FY com 8% de FOS	1	112,00	108,00	321,18	0,27	31,33	4,25	0,70	110,52
	2	103,00	94,00	403,15	0,20	30,45	4,77	0,61	117,08
	3	110,00	102,00	353,17	0,25	30,45	4,13	0,59	133,86
	4	104,00	70,00	355,47	0,20	31,25	4,65	0,67	94,77
	5	109,00	88,00	332,07	0,25	31,13	4,25	0,62	95,26
	6	111,00	79,00	371,88	0,24	32,87	4,82	0,61	103,09
	7	114,00	100,00	387,60	0,27	32,50	4,82	0,64	97,10
	8	117,00	89,00	406,56	0,23	32,28	4,60	0,67	120,08
	média	110,00	91,25	366,39	0,24	31,53	4,54	0,64	108,97

Dieta	Rep.	Peso inicial (g)	Ganho de peso (g)	Consumo total (g)	CEA	Comprimento fêmur (mm)	Espessura fêmur (mm)	Peso fêmur (g)	Força fratura fêmur (m kg s ⁻²)
75% cálcio	1	115,00	93,00	408,62	0,23	32,47	4,42	0,56	82,63
	1	102,00	92,00	393,82	0,23	32,82	4,12	0,60	85,47
	2	114,00	103,00	382,10	0,27	32,78	4,35	0,62	109,47
	3	111,00	98,00	374,85	0,26	32,22	4,27	0,61	96,96
	4	112,00	92,00	376,04	0,25	31,30	4,92	0,65	104,40
	5	99,00	82,00	406,52	0,27	32,87	4,90	0,64	107,30
	6	104,00	96,00	365,00	0,23	31,15	4,85	0,55	98,38
	7	109,00	80,00	392,81	0,24	32,25	4,73	0,58	85,49
	8	110,00	102,00	368,51	0,22	32,77	4,87	0,60	84,44
	média	107,63	93,13	382,46	0,25	32,27	4,62	0,61	96,49
75% cálcio + FY* com 4% de FOS	1	112,00	88,00	343,47	0,26	32,43	4,18	0,65	119,98
	2	110,00	78,00	381,67	0,20	32,27	4,23	0,63	90,78
	3	111,00	93,00	367,59	0,25	31,92	4,63	0,64	111,34
	4	117,00	78,00	346,76	0,23	32,88	4,38	0,63	77,98
	5	102,00	100,00	396,45	0,25	30,42	4,38	0,59	96,90
	6	105,00	83,00	374,54	0,22	31,98	4,10	0,58	103,59
	7	108,00	95,00	408,80	0,23	32,12	4,27	0,62	93,59
	8	99,00	66,00	306,56	0,22	31,78	4,30	0,60	81,23
	média	108,00	85,13	365,73	0,23	31,97	4,31	0,62	96,92
75% cálcio + FY com 8% de FOS	1	110,00	109,00	417,61	0,26	31,82	4,38	0,62	93,72
	2	111,00	86,00	358,75	0,24	32,05	4,20	0,57	119,60
	3	114,00	110,00	409,18	0,27	32,62	4,45	0,62	139,49
	4	106,00	94,00	355,63	0,26	32,52	4,17	0,59	119,85
	5	112,00	57,00	328,30	0,17	32,68	4,83	0,61	99,53
	6	117,00	94,00	378,46	0,25	32,50	4,10	0,62	86,79
	7	101,00	88,00	391,00	0,23	30,32	4,63	0,51	99,44
	8	102,00	68,00	360,71	0,19	30,27	4,77	0,51	94,36
	média	109,13	88,25	374,96	0,23	31,85	4,44	0,58	106,60

Dieta	Rep.	Proteína total (g/L)	Albumina (g/L)	AST (UI)	ALT (UI)	Colesterol (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	Triacilgliceróis (mg/dL)
100% cálcio	1	63,90	3,32	395,00	52,00	93,00	43,00	31,50	78,80
	2	68,30	3,47	229,00	17,00	124,10	39,70	44,10	129,10
	3	54,80	3,27	203,00	33,00	87,20	41,70	33,30	106,70
	4	58,20	3,36	138,00	61,00	91,60	37,10	40,50	72,10
	5	62,40	3,61	142,00	41,00	82,90	39,10	27,90	68,70
	6	58,00	3,45	190,00	31,00	98,80	43,70	29,70	81,00
	7	57,80	3,39	204,28	44,00	98,10	41,10	40,50	85,50
	8	58,20	3,48	133,00	34,00	102,40	34,40	24,30	109,00
	média	60,20	3,42	204,29	39,13	97,26	39,98	33,98	91,36
100% cálcio + 4% FOS	1	73,90	3,87	194,00	39,00	81,40	35,80	31,50	102,30
	2	53,00	3,42	146,00	46,00	82,20	29,10	38,70	57,60
	3	58,50	3,49	264,00	34,00	92,30	33,10	40,50	86,60
	4	60,20	3,45	207,00	38,00	67,70	29,10	29,70	83,30
	5	56,70	3,32	207,00	36,00	84,30	33,80	44,10	63,10
	6	54,30	3,14	255,00	36,00	91,60	40,40	33,30	75,40
	7	58,70	3,43	115,00	33,00	81,40	31,10	35,87	104,50
	8	55,50	3,36	163,00	36,00	66,20	31,10	33,30	71,00
	média	58,85	3,44	193,88	37,25	80,89	32,94	35,87	80,48
100% cálcio + 8% FOS	1	56,80	3,35	111,00	22,00	79,30	38,40	31,50	117,90
	2	56,60	3,24	234,00	36,00	70,60	33,10	29,70	78,80
	3	67,70	3,69	229,00	26,00	96,60	41,70	44,10	56,40
	4	56,00	3,38	181,00	37,00	88,70	29,80	45,90	43,00
	5	60,80	3,36	124,00	31,00	103,20	35,10	45,90	72,10
	6	51,70	3,19	181,00	32,00	93,00	42,40	38,70	72,10
	7	52,30	3,27	163,00	22,00	65,50	31,10	22,50	78,80
	8	53,30	3,24	225,00	32,00	98,80	31,80	35,10	87,70
	média	56,90	3,34	181,00	29,75	86,96	35,43	36,68	75,85

Dieta	Rep.	Proteína total (g/L)	Albumina (g/L)	AST (UI)	ALT (UI)	Colesterol (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)	Triacilgliceróis (mg/dL)
75% cálcio	1	57,80	3,45	225,00	44,00	95,90	35,80	35,10	114,60
	2	52,80	3,40	251,00	35,00	80,70	25,80	38,70	57,60
	3	56,30	3,32	175,00	39,00	72,80	36,40	31,50	105,60
	4	54,80	3,53	286,00	37,00	84,30	38,40	35,10	106,70
	5	54,30	3,43	207,00	39,00	95,20	39,70	36,90	94,40
	6	56,20	3,53	299,00	37,00	97,40	33,80	31,50	84,40
	7	61,80	3,61	229,00	37,00	80,70	35,10	36,90	76,60
	8	60,20	3,48	205,00	24,00	70,60	30,50	35,10	71,00
	média	56,78	3,47	234,63	36,50	84,70	34,44	35,10	88,86
75% cálcio+ FY com 4% de FOS	1	56,10	3,36	312,00	41,00	94,50	29,80	35,10	52,00
	2	55,20	3,45	216,00	39,00	80,70	28,50	35,10	47,50
	3	58,00	3,35	164,00	40,00	83,60	34,40	29,70	41,90
	4	58,00	3,46	177,00	42,00	93,00	38,40	36,90	43,00
	5	57,30	3,47	181,00	24,00	85,80	38,40	36,90	69,90
	6	58,60	3,34	193,00	23,00	89,40	33,80	35,10	64,30
	7	58,70	3,61	168,00	39,00	77,10	38,40	22,50	47,50
	8	56,00	3,46	146,00	38,00	67,70	30,50	33,30	38,60
	média	57,24	3,44	194,63	35,75	83,98	34,03	33,08	50,59
75% cálcio+ FY com 8% de FOS	1	57,60	3,52	273,00	38,00	65,50	32,40	29,70	57,60
	2	56,20	3,46	220,00	36,00	78,50	31,80	33,30	28,50
	3	58,30	3,29	199,00	37,00	93,00	41,10	38,70	50,90
	4	63,60	3,76	168,00	35,00	86,50	29,10	42,30	50,90
	5	55,00	3,47	152,00	35,00	109,70	31,10	29,70	55,30
	6	62,80	3,60	151,00	39,00	104,60	31,80	47,70	44,10
	7	60,60	3,38	173,00	42,00	73,50	33,80	27,90	41,90
	8	64,30	3,53	181,00	31,00	77,10	36,40	35,61	75,40
	média	59,80	3,50	189,63	36,63	86,05	33,44	35,61	50,58

9.3. Tabelas de análise de variância

Farinha de yacon com 4% de FOS, probiótico (*B. longum*) e simbiótico em modelo murino (estudo III)

Tabela 1- Resumo da Análise de Variância do peso inicial, ganho de peso, consumo de dieta e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.

Fonte de variação	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		Peso inicial	Ganho de peso	Consumo alimentar	CEA
Dietas	3	19,3646	175,000	713,6369	0,0019
Resíduo	28	39,3795	416,0893	863,3720	0,0025
CV %		5,71	21,05	7,88	19,83

* Significativo, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 2- Resumo da Análise de Variância do peso do fêmur, espessura, comprimento e força de fratura dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.

Fonte de variação	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		Peso fêmur	Espessura	Comprimento	Força de fratura
Dietas	3	0,0026	0,0556	1,3967	244,7911
Resíduo	28	0,0016	0,080	0,5599	185,4408
CV %		6,37	6,26	2,34	13,67

* Significativo, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3- Resumo da Análise de Variância do peso da tíbia, fósforo, cálcio e magnésio dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.

Fonte de variação	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		Peso Tíbia	Fósforo	Cálcio	Magnésio
Dietas	3	0,0008	6,2228*	6,7486*	0,0768*
Resíduo	28	0,0017	1,2454	0,8783	0,0123
CV %		9,11	11,42	11,10	15,24

* Significativo, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4- Resumo da Análise de Variância da proteína total, albumina, AST, ALT e fosfatase alcalina dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.

Fonte de variação	GL	QUADRADOS MÉDIOS				
		Proteína total	Albumina	AST	ALT	Fosfatase alcalina
Dietas	3	207,6908*	0,1291*	1290,9143	67,7500	475,2083
Resíduo	28	23,3674	0,0236	3775,7047	177,6339	1202,8304
CV %		7,65	4,36	29,42	34,96	23,64

* Significativo, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5- Resumo da Análise de Variância do colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triacilgliceróis dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.

Fonte de variação	GL	QUADRADOS MÉDIOS					
		Colesterol total	HDL	LDL	Triacilgliceróis	Colesterol/HDL	LDL/HDL
Dietas	3	1832,6936*	244,0225*	192,9030*	643,5270	0,1264	0,1598
Resíduo	28	208,3652	27,4488	33,6088	464,2412	0,09340	0,03591
CV %		14,48	12,92	15,62	24,12	12,37	20,22

* Significativo, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6- Resumo da Análise de Variância do pH, peso e ácidos graxos de cadeia curta do ceco dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.

Fonte de variação	GL	QUADRADOS MÉDIOS				
		pH	peso	acetato	propionato	butirato
Dietas	3	207,6908*	0,1291*	1290,9143	67,7500	475,2083
Resíduo	28	23,3674	0,0236	3775,7047	177,6339	1202,8304
CV %		7,65	4,36	29,42	34,96	23,64

* Significativo, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Efeito da farinha com 4% e 8% de FOS, em dieta com 100% ou 75% das recomendações de cálcio em modelo murino (estudo II)

Tabela 1 - Resumo da Análise de Variância do peso inicial (Pi), ganho de peso (GP), consumo de dieta total (CD) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) em função das dietas: 100% ou 75% das recomendações de cálcio e farinha de yacon (FY) com 4% ou 8% de FOS.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		Pi	GP	CD	CEA
Cálcio	1	1,1250 ^{ns}	648,0000 ^{ns}	135,0135 ^{ns}	0,0040 ^{ns}
FY	1	21,1250 ^{ns}	56,1250 ^{ns}	181,4989 ^{ns}	0,0021 ^{ns}
Cálcio x FY	1	2,0000 ^{ns}	288,0000 ^{ns}	159,2666 ^{ns}	0,0024 ^{ns}
Resíduo	28	30,1339 ^{ns}	385,7411 ^{ns}	946,3759 ^{ns}	0,0019 ^{ns}
CV %		5,05	21,54	8,35	18,23

^{ns} Não significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2 - Resumo da Análise de Variância do peso, comprimento, espessura e força de fratura dos fêmures de ratos tratados com 100% ou 75% das recomendações de cálcio e farinha de yacon (FY) com 4% ou 8% de FOS.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		Peso fêmur	Comprimento	Espessura	Força de fratura
Cálcio	1	0,0107*	0,1245 ^{ns}	0,2603 ^{ns}	56,3258 ^{ns}
FY	1	0,0019 ^{ns}	0,8001 ^{ns}	0,0161 ^{ns}	705,9151 ^{ns}
Cálcio x FY	1	0,0038 ^{ns}	0,2827 ^{ns}	0,0598 ^{ns}	0,6308 ^{ns}
Resíduo	28	0,0013*	0,7815 ^{ns}	0,0724 ^{ns}	193,6370 ^{ns}
CV %		5,97	2,77	6,02	13,50

*Significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

^{ns} Não significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3 - Resumo da Análise de Variância do peso, da concentração de cálcio, fósforo e magnésio da tíbia de ratos tratados com 100% ou 75% das recomendações de cálcio e farinha de yacon (FY) com 4% ou 8% de FOS.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		Peso tíbia	Cálcio	Fósforo	Magnésio
Cálcio	1	0,0001 ^{ns}	0,1624 ^{ns}	0,0264 ^{ns}	0,1152*
FY	1	0,00001 ^{ns}	2,1945 ^{ns}	1,1935 ^{ns}	0,0012 ^{ns}
Cálcio x FY	1	0,0071 ^{ns}	1,8050 ^{ns}	0,6962 ^{ns}	0,0004 ^{ns}
Resíduo	28	0,00178 ^{ns}	1,4685 ^{ns}	1,6147 ^{ns}	0,0196 ^{ns}
CV %		9,18	14,44	13,38	19,32

*Significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

^{ns} Não significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4 - Resumo da Análise de Variância da concentração de proteína total, albumina, ALT e AST de ratos tratados com 100% ou 75% das recomendações de cálcio e farinha de yacon (FY) com 4% ou 8% de FOS.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		Proteína total	Albumina	ALT	AST
Cálcio	1	3,3153 ^{ns}	0,0536 ^{ns}	57,7812 ^{ns}	175,7812 ^{ns}
FY	1	0,7503 ^{ns}	0,0019 ^{ns}	87,7812 ^{ns}	639,0312 ^{ns}
Cálcio x FY	1	40,7253 ^{ns}	0,0504 ^{ns}	140,2812*	124,0312 ^{ns}
Resíduo	28	21,1685 ^{ns}	0,0238 ^{ns}	29,8705 ^{ns}	2300,6651 ^{ns}
CV %		7,90	4,50	15,68	25,27

*Significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

^{ns} Não significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5 - Resumo da Análise de Variância dos níveis de colesterol total, HDL-c, LDL-c e triacilgliceróis de ratos tratados com 100% ou 75% das recomendações de cálcio e farinha de yacon (FY) com 4% ou 8% de FOS.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio			
		Colesterol total	HDL-c	LDL-c	Triacilgliceróis
Cálcio	1	9,4612 ^{ns}	1,6200 ^{ns}	29,7606 ^{ns}	6085,8028*
FY	1	132,8450 ^{ns}	7,2200 ^{ns}	22,3446 ^{ns}	43,0128 ^{ns}
Cálcio x FY	1	32,0000 ^{ns}	18,9112 ^{ns}	6,0204 ^{ns}	42,5503 ^{ns}
Resíduo	28	149,5922 ^{ns}	17,2674 ^{ns}	41,9919 ^{ns}	271,5271*
CV %		14,48	12,24	18,35	25,60

*Significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

^{ns} Não significativo, ao nível de 5% de probabilidade.

9.4. Termo de aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética - UFV

CERTIFICADO

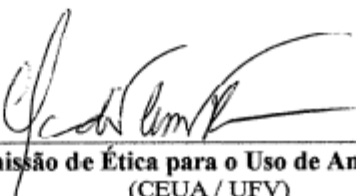
A Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) / UFV certifica que o processo n.º 18 / 2011, intitulado “**Avaliação do consumo de oligofrutanos provenientes do yacon desidratado (*Smallanthus sonchifolius*) na prevenção da saúde óssea e no metabolismo de ratos Wistar**” coordenado pela Profa. Celia Lucia de Luces Fortes Ferreira do Departamento de Tecnologia de Alimentos está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em 09/ 06 /2011.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use / UFV certify that the process number 18 / 2011, named “Avaliação do consumo de oligofrutanos provenientes do yacon desidratado (*Smallanthus sonchifolius*) na prevenção da saúde óssea e no metabolismo de ratos Wistar.”

is in agreement with the Medical Veterinary Professional Ethics Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and with actual Brazilian legislation. This Institutional Commission on June 9, 2011 approved this process.

Viçosa, 9 de junho de 2011



Comissão de Ética para o Uso de Animais da UFV
(CEUA / UFV)