

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

LORENA PEREIRA DE SOUZA ROSA

**EFEITO DA FARINHA DA BATATA YACON (*Smallanthus
Sonchifolius*) SOBRE O PERFIL GLICÊMICO DE RATOS**

Goiânia
2011

LORENA PEREIRA DE SOUZA ROSA

**EFEITO DA FARINHA DA BATATA YACON (*Smallanthus
Sonchifolius*) SOBRE O PERFIL GLICÊMICO DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde – Nível Mestrado – da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Linha de Pesquisa: Qualidade de Alimentos e dietas

Orientador: Prof Dr Eduardo Ramirez Asquieri

Coorientadora: Prof^a Dr^a Maria Sebastiana Silva

Goiânia
2011

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

**BANCA EXAMINADORA DA
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Lorena Pereira de Souza Rosa

Orientadora: Prof Dr Eduardo Ramirez Asquieri

Membros:

1. Profª Drª Telma Maria Braga Costa

2. Profª Drª Caroline Dário Capitani

3. Profª Drª Maria Margareth Veloso Naves

4. Profª Drª Daniela Castilho Orsi

Data: 08/04/2011

Dedico este trabalho aos meus pais, meus maiores ídolos, minha irmã, sempre companheira e confidente. Meus verdadeiros guias. Sem vocês nada seria possível e a vocês agradeço a alegria de viver.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Ramirez Asquieri, pela confiança em meu trabalho e por ter contribuído para meu crescimento científico.

A minha co-orientadora Prof^a Dr^a Maria Sebastiana da Silva por aceitar meu convite sem aviso prévio e me acolher e orientar maravilhosamente.

A todos os professores e às Coordenadoras do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da FANUT/UFG, por servirem de exemplo ético e profissional.

Em especial, a Prof. Dr. Maria Margareth Veloso Naves por apoiar a idéia do ensaio biológico, disponibilizando o espaço do laboratório de Nutrição Experimental e oferecendo sempre uma palavra de incentivo e conhecimento pessoal e profissional.

As colegas de ensaio biológico, Daniela Fernandes, Amanda Goulart, Aline Medeiros e Eloiza Helena Carrijo, pelas risadas, confidências e pelos ensinamentos. Agradeço a Deus por colocar apenas anjos na minha vida.

Às colegas do laboratório de Química e Bioquímica da Faculdade de Farmácia, Aline, Vânia, Adriana, Daniela, com as quais aprendi a repetir sempre as análises pensando positivamente.

Aos alunos que me ajudaram na coleta de dados do ensaio biológico, Lorena, Maressa, Gabriela, Paulo, Natália, Nayara, Thays, Sara e Nara, por se dedicarem ao meu projeto como se fosse o deles e pela amizade que contruímos com a formação do “esquadrão dos ratos”.

Aos funcionários da limpeza da Faculdade de Nutrição (FANUT/UFG), Zélia e Silvânia por facilitarem minha coleta de dados deixando o ambiente de trabalho mais limpo e agradável sempre.

As minhas amigas, em especial a Luciana e Aline pelas palavras de incentivo na minha ausência dos nossos encontros rotineiros e pelo apoio nos momentos difíceis que passei.

Aos meus queridos pais Delton e Tereza, e a minha irmã Bárbara e meu cunhado Dirceu – uma família completa de professores natos – pelo apoio, compreensão e por sempre me tranquilizarem nos momentos mais tensos.

À nutricionista Mariane Falcon, um exemplo de ser humano paciente e iluminado, pelo apoio e pelo incentivo aos contatos da SKL.

À SKL que forneceu os sachês de frutooligossacarídeos no intuito de contribuir com meu trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

Aos professores componentes da banca de qualificação Prof^a. Dr^a. Maria Margareth Velosos Naves, Prof^a. Dr^a. Caroline Dário Capitani e Prof^a. Dr^a. Daniela Castilho Orsi pelas valiosas contribuições para a finalização do trabalho.

Aos colegas de mestrado da turma 2009/ padrão ouro, por tornarem agradáveis até mesmo às horas mais difíceis - em especial à Eloiza, Débora, Ana Paula – e a tantas outras pessoas que pelo carinho e companheirismo fizeram-se presentes nesta jornada.

Enfim, a todos aqueles que me apoiaram por realizar mais um sonho.

RESUMO

Nos últimos tempos observaram-se mudanças no perfil de morbimortalidade da população brasileira, em função do aumento de prevalência das doenças crônicas não transmissíveis. Pode-se destacar entre elas o diabetes que é uma doença de etiologia múltipla que se caracteriza pela deficiência de produção de insulina, diminuição dessa produção ou ambas as condições. Um dos principais objetivos do tratamento é o controle glicêmico, e para esse controle utiliza-se medicamentos que são caros e apresentam efeitos colaterais e por isso aumenta cada vez mais a busca de alimentos funcionais capazes de complementar esse tratamento. Entre esses alimentos destaca-se a batata yacon. Na busca da confirmação da atividade antidiabética desse tubérculo, estudos são desenvolvidos com animais e humanos com avaliação do perfil glicêmico. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da farinha da batata yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no perfil glicêmico de ratos não diabéticos e diabéticos induzidos por streptozotocina. Elaborou-se uma farinha com a polpa da batata yacon e posteriormente foi realizado um ensaio biológico. A farinha da batata yacon foi capaz de diminuir a média da glicemia dos ratos diabéticos, o que pode ser justificado pela reserva de FOS. Os animais tratados com dieta FOS também reduziram a glicemia confirmando a capacidade de controle glicêmico desses frutanos. Foi possível observar a eficácia da metodologia de indução do diabetes melitus, validando o protocolo de indução elaborado. Tais resultados sugerem que estudos crônicos com o modelo de diabetes podem ser melhor avaliados em relação ao controle glicêmico, já que observou-se um melhor controle a partir da terceira semana de experimento.

Palavras chave: Estreptozocina, Diabetes mellitus, experimental, glicemia

ABSTRACT

The morbidity and mortality profile of the Brazilian population has changed recently in light of the increasing prevalence of chronic noncommunicable diseases. Of particular importance among these diseases is diabetes, a multiple-etiology disease characterized by insulin deficiency or decreased insulin production, or both. A major treatment goal is glycemic control, which requires medications that are expensive and have side effects. As a result, the demand for functional foods to complement this treatment is increasing. Among these foods is the yacon potato. To confirm its antidiabetic activity, glycemic profile studies in animals and humans have been carried out. The aim of this study was to evaluate the effect of yacon potato (*Smallanthus sonchifolius*) flour on glycemic control in nondiabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes. Flour was prepared from yacon potato pulp and later a biological assay was carried out. Yacon potato flour was able to lower mean glycemia in diabetic rats, which can be explained by the FOS reserve. Animals treated with a FOS diet also had reduced blood glucose levels, confirming the ability of these fructans to control glycemia. The diabetes mellitus induction methodology proved effective, which validated the induction protocol developed. These results suggest that long-term studies with the diabetes model can best be assessed in relation to glycemic control, since there was better control starting in the third week of experiment.

Keywords: Streptozocin, Diabetes mellitus, experimental, blood glucose

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1	Composição centesimal e valor energético da batata yacon <i>in natura</i> e na forma de farinha (g.100g ⁻¹).	21
Tabela 2	Composição das dietas experimentais (g.100g ⁻¹ de dieta).	24
Figura 1	Batata yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>).	12
Figura 2	Estrutura química dos principais FOS, adaptado de PASSOS e PARK, 2003.	14
Figura 3	Fluxograma de obtenção da farinha de yacon.	20
Figura 4	Distribuição dos animais por tratamento.	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
FOS	Frutoooligossacarídeos
CEASA	Central de Abastecimento do Estado de Goiás
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
LABM	Laboratorio de Pesquisa e Consultória
LANUTE	Laboratorio de Nutrição Experimental
UFG	Universidade Federal de Goiás
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
AIN	American Institute of Nutrition
STZ	Estreptozotocina

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1	11
1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1	CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	19
3.2	PROCESSAMENTO DA FARINHA DE YACON.....	19
3.3	ANÁLISES QUÍMICAS.....	20
3.4	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA.....	22
3.4.1	Animais	22
3.4.2	Dietas	23
3.4.3	Ensaio biológico	23
3.4.3.1	Adaptação dos animais.....	23
3.4.3.2	Indução do diabetes	23
3.4.3.3	Período de diabetogênese	23
3.4.3.4	Período de tratamento.....	25
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
4	REFERÊNCIAS	27
	 CAPÍTULO 2	 32
	ARTIGO CIENTÍFICO	32
	 CAPÍTULO 3	 59
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
	 APÊNDICES	 60
	 ANEXOS	 68

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos observaram-se mudanças no perfil de morbimortalidade da população brasileira, em função do aumento de prevalência das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). Estas alterações vêm sendo estudadas, a partir da década de 60, dentro do contexto de transição demográfica, epidemiológica e nutricional (PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004; RIBEIRO; CARDOSO, 2002).

As DCNT são um grupo de doenças que em geral se caracterizam por história natural prolongada, fatores de riscos múltiplos e complexos, período de latência e curso assintomático longo, manifestações clínicas que oscilam pela gravidade da doença, e lesões irreversíveis, que podem levar a diferentes graus de incapacidade e até mesmo à morte (PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004).

Esses grupos de doenças caracterizam grandes problemas de saúde pública. O tratamento é oneroso, pois são as que demandam maior atenção no desenvolvimento de ações, procedimentos e serviços de saúde. Dentre as DCNT pode-se destacar o diabetes, que é classificado entre as 10 primeiras causas de morte em diversos países, apresentando uma alta prevalência juntamente com a Obesidade, Dislipidemias e Hipertensão Arterial (LESSA, 2004).

O diabetes mellitus é uma doença crônica caracterizada por hiperglicemia resultante da deficiência na secreção de insulina, na ação da insulina ou em ambas funções. É uma doença de alta morbi-mortalidade, com etiologia múltipla e complicações como insuficiência renal, amputação de membros inferiores, cegueira e doenças cardiovasculares (TOSCANO, 2004). Em relação aos sintomas, observa-se polidipsia, poliúria, glicosúria, fraqueza sem causa aparente e lenta cicatrização de feridas pela má circulação (BARONI et al. 2008).

Em países em desenvolvimento como o Brasil, está previsto aumento na prevalência de diabetes de 170% no período de 1995 a 2025, segundo Narayan et al. (2000).

Em pesquisa realizada em 26 capitais dos estados brasileiros e no Distrito Federal, tendo como objetivo monitorar a frequência e a distribuição dos determinantes das DCNT no Brasil obtiveram que no ano de 2009, a frequência do

diagnóstico prévio de diabetes encontrada foi de 5,8%, não havendo diferença entre os sexos. A prevalência foi maior (20%) em indivíduos com idade igual ou superior a 65 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

O controle da glicemia é essencial no tratamento do diabetes mellitus. O tratamento com medicamentos tais como biguanidas e sulfoniluréias, pode causar efeitos colaterais graves, motivando uma busca cada vez maior por outros agentes com fins terapêuticos, como os alimentos funcionais que proporcionam uma melhora na tolerância à glicose (HWANG et al., 2005).

Estudos relatam que extratos obtidos a partir de plantas são eficazes na redução da glicemia, causando menores efeitos colaterais e com custos mais baixos que os medicamentos habituais antidiabéticos (GUPTA et al., 2005; MARLES, FARNSWORTH, 1995; NEGRI, 2005; PASSOS; PARK, 2003; ROSA et al., 2009).

Além de extratos de plantas, alguns alimentos também têm sido investigados em relação à sua ação no perfil glicêmico. Dentre os alimentos estudados, a batata yacon (*Smallanthus sonchifolius*) (Figura 1). É um tubérculo nativo dos Andes, apesar de ainda pouco conhecido no Brasil, tem emergido nos últimos anos como uma matéria-prima de importância por seu elevado teor de frutanos e por sua capacidade no controle glicêmico (QUINTEROS, 2000).



Figura 1. Batata yacon (*Smallanthus sonchifolius*).

A yacon também é conhecida por nomes tipicamente andinos como jicama, chicama, shicama ou jiquimilla e deriva do idioma Quéchua no qual *-yaku*” significa água (ZARDINI, 1991). As raízes têm formatos irregulares devido ao contato com pedras do solo e a pressão de outras raízes. A cor varia entre branca, creme, rosas ou roxas enquanto a casca pode ser marrom, roxa ou creme (GRAU; REA, 1997).

A presença de compostos fenólicos (enzimas polifenoloxidasas e peroxidases) na yacon torna esse tubérculo suscetível ao escurecimento enzimático, pois quando descascada para o consumo ocorre uma oxidação enzimática comum em frutas e vegetais resultando na formação de quinonas, caracterizada como típicos pigmentos marrons ou pretos. Por essas características, caso a batata yacon não seja consumida imediatamente, após a colheita é necessário um tratamento específico para inativar as enzimas responsáveis por esse escurecimento (VALLENTOVA; ULRICHOVA, 2003).

No Brasil, o cultivo da batata yacon se destaca nos cinturões verdes de São Paulo, e cresce motivado pela facilidade de adaptação da batata ao solo. O cultivo brasileiro foi introduzido por volta de 1989, por japoneses imigrantes, que utilizavam as folhas e raízes da yacon na alimentação dos diabéticos (QUEIROZ et al., 2008; MARANGONI, 2007).

A batata yacon pode ser consumida *in natura*, desidratada ou na forma de infusão de suas folhas e raízes, o que aumenta as possibilidades do seu consumo em diferentes preparações e receitas. Apresenta também, características particulares como um agradável sabor doce e, devido ao seu alto conteúdo aquoso, deixa a sensação refrescante depois de ser consumida *in natura*. Por essa razão é também considerada fruta por comerciantes e consumidores (MALDONADO et al., 2008).

As raízes de yacon têm chamado à atenção de pesquisadores, visto que apresentam uma composição química peculiar, com quantidades apreciáveis de frutooligossacarídeos (FOS) (DA SILVA et al., 2006).

Os FOS são formados por moléculas de sacarose e frutose, nas quais uma ou duas outras unidades de frutose são unidas por ligações $\beta(2\rightarrow1)$ à molécula de frutose da sacarose (FAGUNDES; COSTA, 2003) (Figura 2). É classificado com um frutano assim como a inulina, porém a diferença entre eles está no número de moléculas de frutose que compõem essas cadeias. A inulina tem de 2 a 60 cadeias, enquanto os FOS possuem de 2 a 10 cadeias (NINESS, 1999).

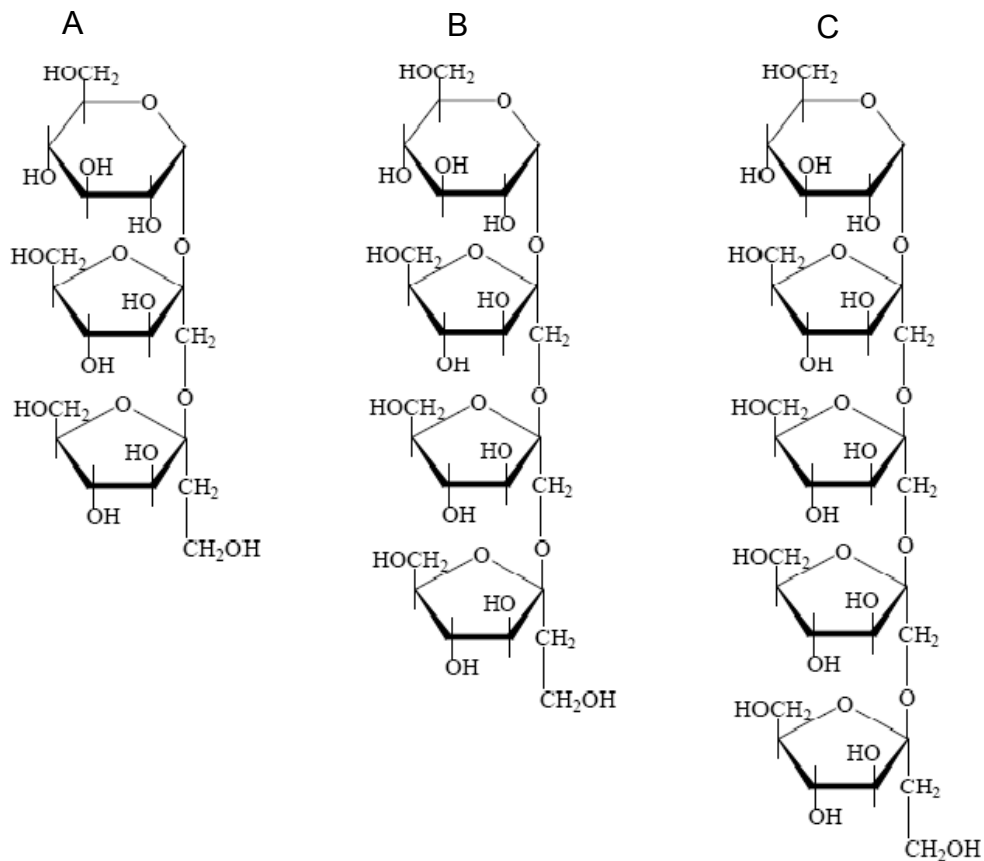


Figura 2. Estrutura química dos principais frutooligossacarídeos que se diferenciam apenas pelo número de moléculas de frutose: (A) kestose, (B) nistose e (C) frutofuranosil nistose. Adaptado de PASSOS e PARK, 2003.

A biossíntese ocorre amplamente na natureza e são componentes de origem vegetal, mas também podem ser obtidos industrialmente por reações enzimáticas induzidas (BORGES, 2001; MOSCATTO; HAULY, 2002; SPIEGEL; ROSE; KARABEL, 1994). Os FOS industrialmente produzidos são caros, custando em média cerca de U\$0,20 por grama (PASSOS, PARK, 2003).

Os frutooligossacarídeos apresentam cadeias curtas e são muito higroscópicos. Sua higroscopacidade é superior a da sacarose. São fibras estáveis, capazes de suportar temperatura superior a 140°C e ainda pH acima de 3. A solubilidade atingida na água a 25°C é de 80%, sendo solúvel em etanol a 80% (BORNET, 1994; SILVA et al., 2007). E ainda resistem a processos térmicos, como a pasteurização, não são cariogênicos e nem deixam sabor residual (VAN LOO et al., 1999).

Os FOS podem ser encontrados em vegetais tais como a alcachofra, raiz de chicória, cebola, alho, dália, dente de leão e banana, no entanto a quantidade

encontrada nesses alimentos é pequena, exigindo um consumo elevado para obter o efeito funcional esperado quando comparado à batata yacon (DA SILVA et al., 2006; OLIVEIRA; NISHIMOTO, 2004; SANTOS; CANÇADO, 2009).

O percentual de FOS encontrados na batata yacon representa em torno de 40% a 70% dos carboidratos na massa seca e são armazenados como reserva de carboidratos na batata yacon, diferente de outras raízes que acumulam amido (OLIVEIRA; NISHIMOTO, 2004; ROSA et al., 2009; SPIEGEL; ROSE; KARABELL, 1994).

No entanto quando se trata dos frutooligossacarídeos na raiz da batata yacon é necessário um cuidado maior, pois estudos têm demonstrado que, logo após a colheita, é iniciado rapidamente um processo de mudança na composição química de seus açúcares, sendo os FOS hidrolisados em frutose, sacarose e glicose. Após uma semana de armazenamento à temperatura ambiente, cerca de 30% dos FOS podem ter sido convertidos em açúcares simples, no entanto, a velocidade dessa conversão é mais lenta se o yacon é armazenado em temperaturas de refrigeração ou ainda se houver um tratamento específico para inibir essa degradação (NARAI-KANAYAMA; TOKITA; ASO, 2007; QUINTEROS, 2000; SANTANA; CARDOSO, 2008). Justamente por essa mudança na composição é que autores afirmam que a batata yacon quando consumida tem apenas FOS e não mais inulina, pois as moléculas de inulina são as primeiras a serem degradadas em FOS para posterior degradação das moléculas de FOS (SANTANA; CARDOSO, 2008; SEMINARIO; VALDERRAMA; MANRIQUE, 2003).

Os FOS apresentam cerca de um terço do poder adoçante da sacarose e não são calóricos. Baseada no balanço da lipogênese, Roberfroid, (1993) concluí que o valor calórico dos FOS está em torno de 1 kcal/g a 1,5 kcal/g. Pelo poder adoçante e baixo valor calórico são chamados de açúcares não-convencionais.

Destaca-se que esses açúcares têm grande resistência às enzimas salivares e digestivas, pela sua configuração molecular, não sendo digeridas pelo organismo humano, chegando ao intestino grosso intacto, podendo assim ser fermentado pelas bactérias anaeróbicas presentes no colón, chamadas de bifidobactérias, desempenhando um papel funcional no organismo (BURIGO et al., 2007; SILVA et al., 2004).

Segundo a legislação, para classificar um produto alimentar contendo FOS como funcional, é necessário que a porção do produto pronto para consumo tenha

no mínimo 3 g de FOS se for sólido ou 1,5 g se o for líquido, valores que são facilmente atingidos quando se adiciona às formulações algum percentual da batata yacon ou de seus derivados. Nesse sentido a indústria alimentícia investe para desenvolver produtos com a batata yacon já que esta proporciona ao produto uma palatabilidade agradável pelo sabor doce e uma caracterização como funcional, ganhando destaque no mercado consumidor (BRASIL, 2008). Portanto além do consumo natural, a batata pode ser utilizada como ingrediente em produtos como bolos e barra de cereais, que além das propriedades promotoras da saúde são alimentos com baixo valor calórico (MOSCATO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; HAYLE, 2004; SILVA et al., 2004).

O fato do FOS não ser metabolizado pelo aparelho digestivo possibilita a melhora do controle glicêmico, já que apresentam o efeito de fibras dietéticas, controlando a velocidade de absorção da glicose, evitando os picos glicêmicos pós-prandiais e ainda a curva glicêmica diária, confirmando mais um efeito benéfico a saúde humana, principalmente aos diabéticos (QUINTEROS, 2000).

Pela expressiva concentração de frutooligossacarídeos na batata yacon e seu possível potencial antidiabético, modelos experimentais de ratos diabéticos vêm sendo desenvolvidos na tentativa de avaliar a glicemia desses animais que consomem esse tubérculo promissor.

Reis, Pardal e Baldissera (2006) investigaram o uso dos extratos foliares da Yacon como coadjuvante no tratamento do diabetes em ratos diabéticos aloxanos induzidos, e apontou-se um efeito controlador da glicemia sanguínea dos grupos de ratos que consumiram o yacon.

Em outro estudo foi oferecida solução aquosa da raiz de yacon para ratos diabéticos e não diabéticos, machos e fêmeas, a solução foi administrada por gavagem em uma única vez e o efeito hipoglicemiante da solução de yacon foi verificada apenas nos grupos de animais diabéticos quando avaliados ambos os sexos ou nos machos separadamente (OLIVEIRA, et al, 2009).

Volpato et al. (2007) também avaliaram o efeito do extrato aquoso de yacon em ratas diabéticas e não diabéticas, porém não obtiveram diferenças significativas relacionadas a glicemia, sugerindo utilizar doses maiores que 32,4mg/kg do extrato.

A oferta da farinha de yacon para ratos também foi avaliada em comparação a oferta do extrato de yacon, e concluíram que não foi obtido o efeito hipoglicemiante funcional tanto com a farinha quanto com o extrato do yacon, nas concentrações

testadas e nos modelos experimentais adotados. No entanto, as duas apresentações foram capazes de causar uma variação significativa na glicemia de ratos diabéticos comparados aos ratos normais (PEREIRA et al., 2009).

O possível efeito hipoglicemiante existente nas folhas de yacon ainda não foi identificado, mas sugere-se que esse efeito na raiz da yacon é resultante da ação dos FOS no organismo (SEMINARIO; VALDERRAMA; MANRIQUE, 2003). No entanto ainda não existem estudos que fizeram o comparativo entre o possível efeito hipoglicemiante da farinha batata yacon comparado ao efeito dos FOS isolados para tal confirmação. Além disso, é possível que a quantidade de FOS resultante seja diferente após os tratamentos (secagem para elaborar a farinha, extração da solução com posterior liofilização, oferta do extrato aquoso sem liofilizar, entre outros).

Nessa perspectiva, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o efeito da farinha da batata yacon sobre o perfil glicêmico, por meio de ensaio biológico com ratos diabéticos e não diabéticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da farinha da batata yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no perfil glicêmico de ratos não diabéticos e diabéticos induzidos por streptozotocina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Tratar a batata yacon para evitar o escurecimento enzimático na elaboração da farinha.

Elaborar a farinha da batata yacon.

Caracterizar quimicamente a batata yacon *in natura* e sua farinha

Avaliar o efeito da farinha da batata sobre a evolução do peso corporal de ratos normais e diabéticos.

Verificar o controle glicêmico dos ratos normais e diabéticos nos diferentes tratamentos durante o ensaio biológico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido em duas etapas distintas. A primeira etapa realizou-se um estudo descritivo constituído pela elaboração da farinha de yacon, análise química e determinação da composição centesimal da batata yacon *in natura* e da farinha elaborada. Na segunda etapa desenvolveu-se um estudo do tipo experimental, em modelo animal.

3.2 PROCESSAMENTO DA FARINHA DE YACON

As batatas yacon foram adquiridas na Central de Abastecimento do Estado de Goiás (CEASA –GO) oriundas de um lote específico de Botucatu (São Paulo).

Para o tratamento do escurecimento enzimático do yacon, foi utilizado o bissulfito de sódio como agente inibidor (PEREIRA et al., 2009; RIBEIRO, 2008). A quantidade utilizada de bissulfito no tratamento foi de 0,2% diluído em água para salmoura e não adicionada diretamente no alimento, quantidade aceita na indústria alimentícia sem causar riscos a saúde (POTTER, 1978).

O fluxograma de processo para a elaboração da farinha está mostrado na Figura 1.

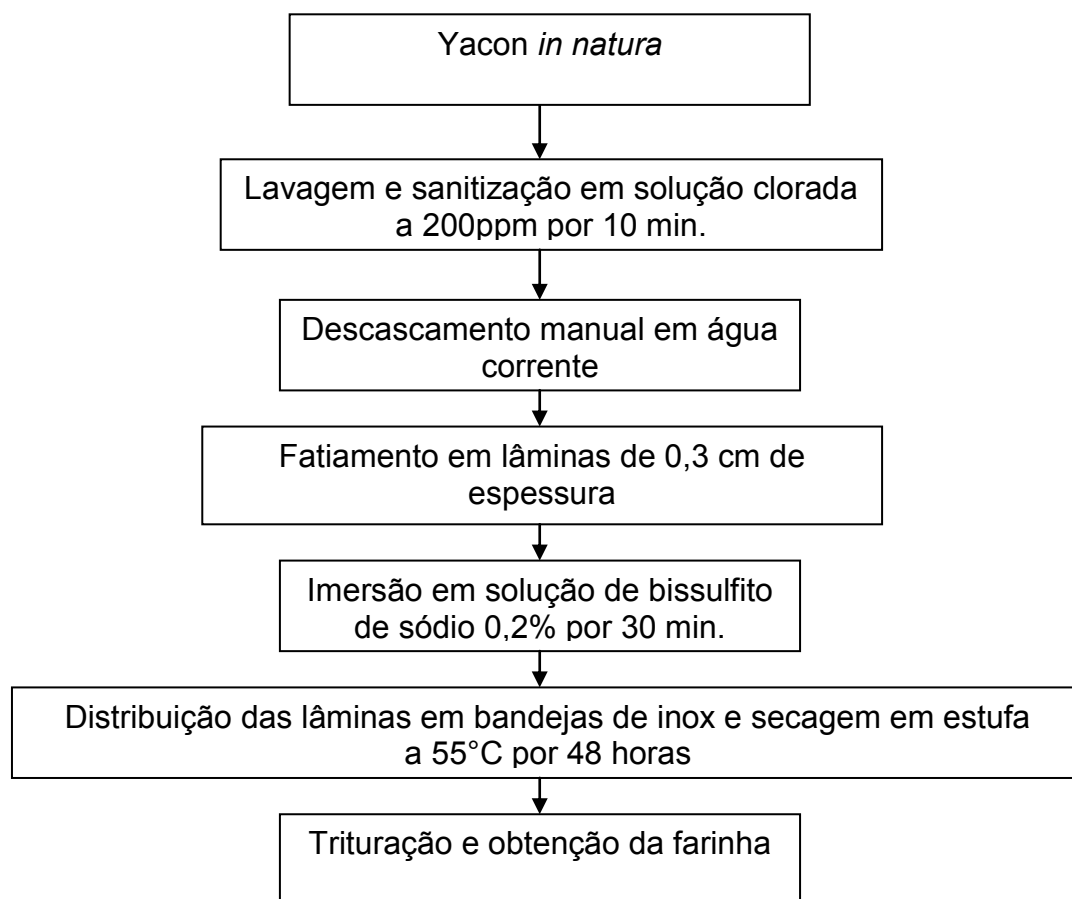


Figura 3. Fluxograma de obtenção da farinha de yacon.

Após todo o procedimento de secagem as fatias da batata foram trituradas em microprocessador para a obtenção da farinha. Esta foi pesada, envasada em sacolas plásticas de polipropileno e mantida sob refrigeração até o momento da elaboração da farinha da batata yacon.

3.3 ANÁLISES QUÍMICAS

A composição química da batata yacon foi determinada em triplicata, por meio das análises de umidade em estufa de esterilização a 105°C até obtenção de peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005); nitrogênio total, segundo o método de micro-kjeldahl e conversão em proteína bruta utilizando-se o fator 6,25 (AOAC, 1990); lipídios totais, extraídos por meio da técnica de Bligh e Dyer (1959) e posteriormente determinados por gravimetria; fibra alimentar total, solúvel e insolúvel, conforme técnica enzimática-gravimétrica descrita por Prosky et al. (1988) e resíduo mineral fixo (cinzas), por incineração em mufla a 550°C (AOAC, 1990). Os

carboidratos totais foram determinados pelo método fenol sulfúrico (DUBOIS et al.,1956). As análises foram realizadas no Laboratório de Química e Bioquímica de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFG, exceto as análises de fibra alimentar, que foram realizadas no Laboratório de Pesquisa e Consultoria (LABM, Belo Horizonte). A partir dos dados da composição centesimal, foram estimados o valor energético (calórico) das amostras, considerando-se os fatores de conversão de Atwater de 4, 4 e 9 para proteína, carboidrato e lipídio, respectivamente (MERRILL; WATT, 1973).

Essa determinação foi realizada, pois era necessário saber a composição da farinha da batata yacon para elaborar as dietas do ensaio biológico, além da importância em caracterizar a batata yacon *in natura* confirmando as características peculiares deste tubérculo (Tabela 1).

3.4 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

3.4.1 Animais

Para a realização do ensaio biológico foram utilizados 88 ratos machos, albinos, da linhagem Wistar, adultos, com pesos entre 150 e 250g. Os ratos foram fornecidos pela BIOAGRI laboratórios (Planaltina-DF).

A distribuição dos animais foi feita inicialmente em dois grandes grupos, aleatoriamente, segundo delineamento por blocos casualizados, sendo um grupo de 56 animais que foram induzidos a diabetes e o outro grupo com 32 animais não diabéticos. O grupo de ratos não diabéticos foi novamente distribuído em quatro subgrupos (yacon, FOS, celulose e padrão), enquanto que o grupo diabético só foi distribuído nesses subgrupos após a indução e confirmação do diabetes (para nova distribuição aleatória por glicemia).

Calculou-se inicialmente um valor aproximado de 57% de margem de segurança para possíveis perdas dos animais que seriam induzidos a diabetes (ratos que não se tornam diabéticos, ou que morrem após a administração da droga), o que justifica uma amostra inicial maior para o grupo dos animais induzidos a diabetes (n=56) (LERCO et al.,2003).

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço galvanizado durante 38 dias, sob condições ambientais padronizadas, ciclo de luz 12 h claro e 12 h escuro, temperatura média de 20° C e umidade média de 60%, com trocas de ar

frequentes. A água destilada foi oferecida *ad libitum*. O consumo de dieta foi monitorado três vezes por semana, e o peso dos animais, uma vez por semana.

O ensaio biológico foi conduzido no Laboratório de Nutrição Experimental (LANUTE) da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás (UFG). Todos os procedimentos com os animais foram realizados de acordo com os princípios éticos preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (DE LUCA et al., 1990), e o protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFG (Protocolo n° 126/10) (ANEXO A).

3.4.2 Dietas

As dietas (tratamentos) foram formuladas de acordo com a recomendação do *American Institute of Nutrition* para manutenção de animais adultos (AIN-93M) (REEVES; NIELSEM; FAHEY JÚNIOR, 1993).

Os ingredientes da dieta foram adquiridos da Rhoster Indústria e Comércio Ltda. e os frutooligossacarídeos isolados foram doados pelo laboratório SKL Functional Nutrition Ltda (ANEXO B). Pesou-se esses ingredientes em ordem crescente de peso em balança eletrônica (GEHAKA, BF 8000), e em seguida, foram homogeneizados e peneirados, o óleo foi acrescentado por último, e a mistura peneirada por mais cinco vezes para homogeneização adequada. As dietas foram elaboradas em duas etapas ao longo do ensaio, colocadas em sacos de polipropileno, etiquetadas e armazenadas sob refrigeração.

Foram elaboradas quatro dietas diferentes (Tabela 2). Todas as dietas tinham o mínimo recomendado de 5% de fibra (celulose) para manutenção de ratos adultos.

Na dieta Yacon foi adicionado 18,75 g de farinha da batata, o que oferecia aproximadamente 6 gramas de FOS já que estudos relatam que 40% dos carboidratos da batata são frutooligossacarídeos (OLIVEIRA; NISHIMOTO, 2004). Se o valor de carboidrato na farinha foi de 83,30g, espera-se que 33,32g sejam de frutooligossacarídeos.

Na dieta FOS® adicionou-se 6g de FOS® isolado (1 sachê de 6 gramas) e na dieta controle celulose adicionou-se 6g de celulose. Não houve acréscimos para dieta padrão.

Esse acréscimo de 6% a mais de fibras caracteriza as dietas estudadas como ricas em fibras e foi determinado como um valor superior ao recomendado por estudos realizados que afirmam que no tocante à dose bifidogênica de FOS, cerca de 4 g/100g do alimento consumido seriam suficientes para um adulto (FERNANDEZ et al., 2002; REEVES; NIELSEN; FAHEY JÚNIOR, 1993; ROBERFROID; VAN LOO; GIBSON, 1998).

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g.100g⁻¹ de dieta).

Componente ¹	Dieta ²			
	Yacon	FOS®	Controle celulose	Padrão
Farinha de yacon	18,75	---	---	---
FOS®	---	6,00	---	---
Óleo de soja	4,00	4,00	4,00	4,00
Celulose	5,00	5,00	11,00	5,00
Mistura salina	3,50	3,50	3,50	3,50
Mistura vitamínica	1,00	1,00	1,00	1,00
Bitartarato de colina	0,25	0,25	0,25	0,25
L-cistina	1,80	1,80	1,80	1,80
Caseína	14,00	14,00	14,00	14,00
Amido de milho	53,30	64,45	64,45	70,45

¹ Segundo Reeves, Nielsen e Fahey Júnior (1993).

² Yacon: quantidade de farinha equivalente a 6 g de frutooligosacarídeos; FOS®: adicionado 6 g puro/ 1 sachê; Controle celulose: adicionado 6g de celulose e Padrão: sem acréscimo de fibras.

3.4.3 Ensaio biológico

3.4.3.1 Adaptação dos animais

Os animais foram mantidos por um período de três dias de adaptação ao biotério e sete dias de adaptação à dieta, após a indução do diabetes sob condições ambientais padronizadas. A água foi oferecida *ad libitum*.

3.4.3.2 Indução do diabetes

Neste estudo, foi utilizada streptozotocina (STZ), também conhecida como estreptozocina, um glicosídeo natural isolado do *Streptomyces achromogenes*. A droga foi administrada pela veia da cauda, diluída em solução tampão de citrato de sódio (pH=4,5; 0,01M) com a concentração de 40mg/kg de peso corporal do animal. Foi administrada após 24 horas de jejum dos animais (Apêndice A).

3.4.3.3 Período de diabetogênese

A indução do diabetes foi feita em 56 animais que haviam sido randomizados anteriormente, sendo a confirmação do diabetes feita após três dias da indução por meio da dosagem da glicemia de jejum. Animais com glicemia de jejum acima de 200mg/dL foram selecionados para o ensaio e novamente distribuídos em quatro grupos, de acordo com os valores da glicemia de jejum. Os animais com glicemia abaixo desse valor foram excluídos do estudo. A glicemia foi determinada pelo aparelho Accu-Check Advantage II com fitas glicotestes e as coletas do sangue foram realizadas sempre pela manhã, após jejum de 12 horas.

3.4.3.4 Tratamento

Os animais foram distribuídos inicialmente em dois grupos (diabéticos e não diabéticos) e subdivididos em oito grupos com oito ratos cada (Figura 4).

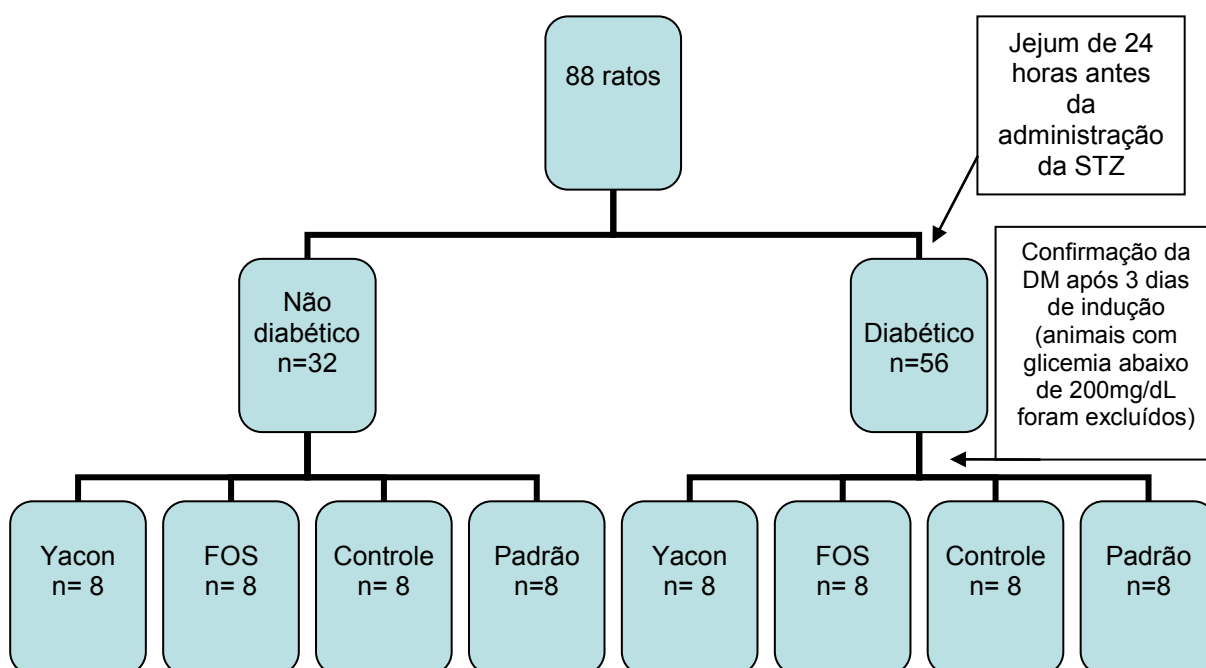


Figura 4. Distribuição dos animais por tratamento.

As quatro dietas elaboradas foram oferecidas tanto para o grupo diabético quanto para o grupo não diabético. Os animais foram tratados por um período total de 35 dias sendo sete dias de adaptação à dieta oferecida e 28 dias de tratamento.

Os animais foram pesados semanalmente e a glicemia analisada uma vez por semana durante todo o período de tratamento. Foram também avaliados sinais

clínicos da doença durante todo o experimento, tais como microcomplicações sanguíneas (circulação periférica, cor da cauda), poliúria e polidipsia. E o consumo de ração foi avaliado a cada dois dias.

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise da evolução dos valores de glicemia, peso dos animais e resto ingesta utilizou-se o seguinte modelo de efeitos mistos com matrix de variância e covariância com estrutura Toeplitz, sendo que os resíduos possuam distribuição gaussiana:

$$y_{hijk} = \mu + \alpha_i + b_{hij} + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + \delta_h + (\delta\alpha)_{hi} + (\delta\gamma)_{ik} + (\delta\alpha\gamma)_{hik} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde y_{hijk} são as variáveis peso, glicemia e resto ingesta na coleta semanal k , sobre o j -ésimo rato, do grupo i , na dieta h ; $\mu + \alpha_i + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + \delta_h + (\delta\alpha)_{hi} + (\delta\gamma)_{ik} + (\delta\alpha\gamma)_{hik}$ é a média do peso, da glicemia e do resto ingesta dieta h , grupo i , na coleta semanal k ; b_{hij} é o efeito aleatório associado com o rato j na dieta h , no grupo i , $N(0, \sigma_B^2)$; ε_{hijk} é o erro aleatório associado com o rato j , da dieta h , do grupo i , na coleta semanal k , com matrix de variância e covariância com estrutura irrestrita.

A análise do modelo de efeitos mistos foi realizada no software SAS (Statistical Analysis System) 9.2 for Windows. Para efeito de análise usou-se um nível de significância de 5 %.

4 REFERÊNCIAS

(AOAC) ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 10.ed. Washington: AOAC, 1990. 1115p.

BARONI, S.; SUZUKI-KEMMELMEIER, F.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. Effect of crude extracts of leaves of *smallanthus sonchifolius*(yacon) on glycemia in diabetic rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Lawrence, v. 44, n. 3, p. 521-530, 2008.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Toronto, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BORGES, V. C. Impactos dos alimentos funcionais para a saúde. **Nutrição em Pauta**, São Paulo, v. 2, n. 48, p.14-16. 2001.

BORNET, F. R. J. Umdigestible sugars in food products. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 59, n. 5, p. 7635-7695, 1994.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n.º 18 de janeiro de 1999**. Aprova regulamento técnico sobre as alegações aprovadas relacionam a propriedade funcional e ou de saúde a um nutriente ou não nutriente do alimento. Brasília, DF: Presidência da República, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 20 març. 2011.

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

DA 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 ingestão de yacon (*Smallantus sonchifollius*) in natura, cultivadas no estado de Santa Catarina – Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 137-142, 2006.

DE LUCA, R. R.; ALEXANDRE, S. R.; MARQUES, T.; SOUZA, N. L.; MERUSSE, J. L. B.; NEVES, S. P. Ética, bem-estar e legislação. In: _____. **Manual para técnicos em bioterismo**. São Paulo: H. A. Rothschild, 1990. cap. 2, p. 11-13.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

FAGUNDES, R. L. M.; COSTA, Y. R. Uso de alimentos funcionais na alimentação. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 108, p. 42- 48, 2003.

FERNANDEZ, S. A. V.; TANNURI, U.; DOMIGUES, G.; UEHARA, D. Y.; CARRAZA, F. R. Efeito de dietas ricas em fibras sobre ratos em crescimento: estudo experimental. **Revista de Pediatria**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 32-37, 2002.

GRAU, A.; REA, J. Yacon. ***Smallanthus sonchifolius*** (Poep. & Endl.) H. Robinson. In: HERMANN, M.; HELLER, J. (Eds.). **Andean roots and tubers: ahipa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops**. (Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research). Rome, Italy: Gatersieben/ International Plant Genetic Resources Institute. 1997. p.199-242. Disponível em: <<http://www.cipotato.org/market/ARTChermann/yacon.pdf>>. Acesso: 4 março. 2011.

GUPTA, R. K.; KESARI, A. N.; MURTHY, P. S.; CHANDRA, R.; TANDON, V.; WATAL, G. Hypoglycemic and antidiabetic effect of ethanolic extract of leaves of *Annona squamosa* L. in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 99, n. 8, p. 75-81, 2005.

HWANG, H. J.; KIM, S. W.; LIM, J. M.; JOO, J. H.; KIM, H. O.; KIM, K. M.; YUN, J. M. Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sciences**, New York, v. 76, n. 26, p. 3069-3080, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 1018 p.

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

LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.; PADOVANI, C. R. Caracterização de um modelo experimental de *Diabetes Mellitus*, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 132-142, 2003.

MALDONADO, S.; SANTAPAOLA, J. E.; SINGH, T. M.; GARAY, A. Cinética de la transferencia de masa durante la deshidratación osmótica de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 251-256, 2008.

MARANGONI, A. L. **Potencialidade da aplicação de farinha de yacon (*Polymnia sonchifolia*) em produtos a base de cereais**. 125 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

MARLES, R. F. FANSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 2, n. 3, p. 137-189, 1995.

MERRIL, A. L. WATT, B. K. **Energy value of foods: basis and derivation.** Washington: United States Department of Agriculture, 1973. 105p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de vigilância em saúde. Secretaria de gestão estratégica e participativa. **Vigitel Brasil 2009: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 116 p. (Série G: Estatística e Informação em Saúde).

MOSCATTO, J. A.; HAULY, M. C. O. Inulina e Oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prébiotico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 105-118, 2002.

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

NARAI-KANAYAMA, A.; TOKITA, N.; ASO, K. Dependence of fructooligosaccharide content on activity of fructooligosaccharide-metabolizing enzymes in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. **Journal Food Science**, Washington, v. 72, n. 2, p. 381-387, 2007.

NARAYAN, K. M. V.; GREGG, E. W.; FAGOTE-CAMPAGNA, A.; ENGELGAU, M. M.; VINICOR, F. Diabetes: a common, growing, serious, costly, and potentially preventable public health problem. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Atlanta, v. 50, suppl. 2, p. 77-84, 2000.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 121-142, 2005.

NINESS, K. R. Inulin and oligofructose: what are they? **The Journal of Nutrition**, Belgium, v. 129, suppl., p. 1402-1406, 1999.

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

OLIVEIRA, L. A.; BRAGA COSTA, T. M.; OLIVEIRA, L. R. A.; FERREIRA, J. F.; NAVARRO, A. M. M. Respostas glicêmicas de ratos diabéticos recebendo solução aquosa de yacon. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 61- 67, 2009.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Fructooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciências Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 385-390, 2003.

PEREIRA, C. L. P.; MONTEIRO, M. R. P.; HENRIQUES, G. S.; CALLEGARI, F. U.; HERBEST, W. L. Avaliação do efeito hipoglicemiante da farinha e do extrato de

yacon (*Polymnia sonchifolius*) em ratos normais e diabéticos. **Revista do Médico Residente**, Curitiba, v. 11, n. 4, p. 147-154, 2009.

PINHEIRO, A. R. O.; FREITAS, S. F. T.; CORSO, A. C. T. Uma Abordagem Epidemiológica da Obesidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 523-533, 2004.

POTTER, N. N. **La ciencia de los alimentos**. Mexico: Edutex S. A., 1978. 105p.

PROSKY, L.; ASP, N.; SCHWEIZER, T. F.; DEVRIES, J. W.; FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v.71, n.5, p.1017-1023, 1988.

QUEIROZ, R. F.; MAXIMIANO, F. P.; NUNES, T. D. S.; MOREIRA, D. A. D.; AZEVEDO, L.; SILVA, L. B. C. Avaliação do perfil lipídico, glicêmico, conteúdo de glicogênio hepático e cardíaco em ratos diabéticos suplementados com farinha de casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 173-177, 2008.

QUINTEROS, E. T. T. **Produção com tratamento enzimático e avaliação do suco de yacon**. 146 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

REIS, D. M.; PARDAL, D. P.; BALDISSERA, J. Estudo experimental sobre o uso do *smallanthus sonchifolius* na redução da hiperglicemia: uma contribuição para a qualidade de vida e saúde dos diabéticos. **Revista Científica Online JOPEF**, Curitiba, v. 1, n. 5, p. 3-7, 2006.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. N.; FAHEY JUNIOR., G. C. AIN- 93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition ad hoc writing commite on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 123, p.1939-1951, 1993.

RIBEIRO, A. B.; CARDOSO, M. A. Construção de um questionário de frequência alimentar como subsídio para programas de prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 239-245, 2002.

RIBEIRO, J. A. **Estudos químicos e bioquímicos do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in natura e processado e influencia do seu consumo sobre níveis glicêmicos e lipídeos fecais de ratos**. 181f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

ROSA, C. S.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, V. B.; GRESSLER, C.; VIEGA, S. Elaboração de bolo com farinha yacon. **Ciências Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, 2009.

ROBERFROID, M. B. Dietary fiber, inulin, and oligosaccharides: a review comparin their physiological effects. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, Cambridge, v. 33, n. 2, p. 103.108, 1993.

ROBERFROID, M. B.; VAN LOO, J. A. E.; GIBSON, G. R. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolisis products. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 2, p. 11-19, 1998.

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

SANTOS, L. C.; CANÇADO, I. A. C. Probióticos e prebióticos: vale a pena incluí-los em nossa alimentação! **SynThesis Revista Digital FAPAM**, Pará de Minas, n.1, 2009.

SEMINARIO, J.; VALDERRAMA, M.; MANRIQUE, I. **El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de um recurso promisorio**. Centro Internacional de la Papa (CIP). Universidad Nacional de Cjamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperacion (COSUDE), Lima, Perú, 2003. 60p.

SILVA, E. B.; CANDIDO, L. M. B.; SABINO, J.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C. Composição química da raiz e das folhas desidratadas do yacon. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 6, n. 8, p. 48-52, 2004.

SILVA, A. S. S.; HAAS, P.; SARTORI, N. T.; ANTON, A. A.; FRANCISCO, A. Frutooligosacarídeos: Fibras Alimentares Ativas. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 295-304, 2007.

SPIEGEL, J. E.; ROSE, R.; KARABEL, P. Safty and benefits of frutooligosaccharides as food ingredients. **Food and Technology**, Boston, v. 48, n. 3, p. 85-89, 1994.

TOSCANO, C. M. As campanhas nacionais para detecção das doenças crônicas não-transmissíveis: diabetes e hipertensão arterial. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 885-95, 2004.

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

VAN LOO, J.; CUMMINGS, J.; DELZENNE, N.; ENGLYST, H.; FRANCK, A.; HOPKINS, M.; KOK, N.; MACFARLANE, G.; NEWTON, D.; QUIGLEY, M.; ROBERFROID, M.; VILET, T.; HEUVEL, E. V. D. Funcional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII – CT94-1094). **British Journal of Nutrition**, London, v. 81, n. 9, p. 121-132, 1999.

VOLPATO, G. T.; VIEIRA, F. L.; DAMASCENO, D. C.; CÂMARA, F. L. A.; DI STASI, L. C.; LEMONICA, I. P. Efeitos do extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* (yacon) em ratas diabéticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 88-93, 2007.

ZARDINI, E. Ethnobotanical notes of yacon. **Economic Botany**, New York, v. 45, n. 1, p. 72-85, 1991.

CAPÍTULO 2

1 ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo a seguir será submetido ao periódico Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia sob avaliação Qualis B3 (Anexo C).

A. Página Título

a) Título: Efeito da farinha da batata yacon (*Smallanthus sonchifolius*) sobre o perfil glicêmico de ratos

Title: Effect of yacon potato flour (*Smallanthus sonchifolius*) on glyceemic control in rats.

(b) Nome e filiação institucional de todos os autores

Lorena Pereira de Souza Rosa

Mestranda do Curso de Pós-Graduação Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás.

Eduardo Ramirez Asquieri

Professor da Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás. Professor Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás.

Maria Sebastiana Silva

Professora adjunta da Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Goiás

(c) Nome do(s) Serviço(s) e/ou Departamento(s) e Instituição (ões) onde o trabalho foi realizado

Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás e Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás

(d) Nome e endereço completo (incluindo e-mail) do (a) autor(a) responsável pela correspondência

Lorena Pereira de Souza Rosa- lorenapsrosa@yahoo.com.br; Rua C-268 Quadra. 614 Lote. 04 - Nova Suíça, Goiânia-GO, CEP: 74.280-300

(e) “Título abreviado”, com até 40 caracteres (incluindo espaços entre palavras).

Efeito da yacon na glicemia de ratos

B. Resumo e Descritores

O diabetes mellitus é uma disfunção metabólica que leva a perda importante na qualidade de vida quando não controlada. Nos últimos anos, houve um aumento na busca por produtos naturais para fins terapêuticos como uma terapia complementar. Dentre esses alimentos naturais, destacam-se os alimentos funcionais como a batata yacon (*Smallanthus sonchifolius*) com grandes quantidades de frutooligossacarídeos. Nessa perspectiva de avaliar o efeito das propriedades da yacon sobre o perfil glicêmico, realizou-se um ensaio biológico. Foi conduzido um estudo experimental com ratos, não diabéticos e diabéticos induzidos por estreptozotocina. Houve diferença significativa da glicemia observada nos ratos diabéticos entre as dietas oferecidas podendo indicar que o túberculo tem efeito hipoglicemiante, e que esse efeito, ao se tratar da raiz e não da folhas, pode ser justificado pela quantidade disponível de FOS que possibilita o controle glicêmico.

Descritores: Estreptozocina, Diabetes mellitus, glicemia.

C. Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disorder that leads to significant loss in quality of life if not controlled. In recent years there has been an increasing search for natural products for therapeutic purposes as a complementary therapy. Among these natural foods are highlighted functional foods such as potatoes yacon (*Smallanthus sonchifolius*) with large amounts of fructooligosaccharides. This perspective to evaluate the effect of the properties of yacon on the glycemic profile, there was a biological assay. An experimental study was conducted with rats, nondiabetic and diabetic induced by streptozotocin. There were significant differences in blood glucose in diabetic rats observed between the offered diets may indicate that the tubers have hypoglycemic effect, and that this effect, when dealing with the root and not the leaves, can be justified by the available quantity of FOS allows controlling glycemic .

Keywords: Streptozocin, Diabetes Mellitus, Experimental, Blood Glucose.

D. Texto Completo

I. Introdução

O diabetes mellitus é uma disfunção metabólica de múltipla etiologia, caracterizada por hiperglicemia crônica, resultante da deficiência na secreção de insulina, na ação da insulina ou em ambas. É uma doença crônica não transmissível de alta morbi-mortalidade, com perda importante na qualidade de vida (1).

Em países em desenvolvimento como o Brasil, foi previsto aumento na prevalência de diabetes de 170%, no período de 1995 a 2025 (2). É uma doença considerada problema de saúde pública e onerosa do ponto de vista social e econômico.

Nos últimos anos, houve um aumento na busca por produtos naturais com fins terapêuticos para complementar a ação dos medicamentos utilizados no tratamento do diabetes. Nesse sentido estudos demonstram que extratos obtidos a partir de plantas são eficazes na redução da glicemia, causando menos efeitos colaterais e com custos mais baixos que os medicamentos habituais antidiabéticos (3, 4). Dentre esses alimentos, destaca-se a batata yacon, de origem Andina e ainda pouco conhecida no Brasil, mas que tem sido estudada por diferentes autores evidenciando seu potencial para o controle glicêmico.

O potencial hipoglicemiante da batata se deve ao elevado teor de frutooligossacarídeos (FOS). Os FOS são classificados quimicamente como frutanos mas atuam como fibra dietética já que não são degradados pelas enzimas digestivas podendo ser fermentado pelas bactérias anaeróbicas presentes no colón, chamadas de bifidobactérias, desempenhando um papel funcional no organismo e auxiliando no controle glicêmico (5, 6,7, 8).

Pela expressiva concentração de frutooligossacarídeos na batata yacon e seu possível potencial antidiabético, modelos experimentais de ratos diabéticos tem sido utilizados na tentativa de avaliar o controle glicêmico desse tubérculo promissor.

Estudo realizado com ratos diabético aloxanos induzidos investigaram o uso dos extratos foliares da Yacon como coadjuvante no tratamento do diabetes e obtiveram um efeito controlador da glicemia sanguínea dos grupos de ratos que consumiram o yacon (9).

Outros pesquisadores também avaliaram o efeito da yacon em animais diabéticos e não diabéticos, porém não obtiveram diferenças significativas relacionadas a glicemia (4,10,11).

Estudos que utilizaram as folhas do tubérculo não identificaram o componente responsável pelo possível efeito hipoglicemiante enquanto que esse efeito da raiz da yacon é resultante da ação dos FOS no organismo (12). No entanto ainda não existem estudos que avaliaram o possível efeito hipoglicemiante da farinha batata yacon comparado ao efeito dos FOS isolados para tal confirmação. Além disso, é possível que a quantidade de FOS resultante seja diferente após os tratamentos (secagem para elaborar a farinha, extração da solução com posterior liofilização, oferta do extrato aquoso sem liofilizar, entre outros).

Nessa perspectiva, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o efeito da farinha da batata yacon sobre o perfil glicêmico, por meio de ensaio biológico com ratos diabéticos e não diabéticos.

II. Métodos

. Trata-se de um estudo experimental em modelo animal, conduzido com 64 ratos Wistar, machos e adultos, com peso entre 150 e 250g. Na primeira etapa do estudo

foi feita a caracterização química da batata yacon *in natura* e de sua farinha. Na segunda etapa foram oferecidas quatro tipos de dietas com composição diferentes para quatro grupos de ratos diabéticos, e as mesmas dietas para outros quatro grupos de ratos não diabéticos.

Para o desenvolvimento da farinha de yacon foi estabelecido um fluxograma de processo (Figura 1). Inicialmente o yacon *in natura* foi lavado em água corrente e sanitizado em solução clorada 200ppm por 10 minutos. O descascamento da batata foi manual em água corrente e o fatiamento das raízes em lâminas de 0,3cm de espessura aproximadamente. Depois de fatiadas as lâminas foram imersas em solução de bissulfito de sódio 0,2% por 24 horas. Em seguida, submetidas à secagem em estufa com recirculação de ar a 55°C por 48 horas, devido ao elevado teor de umidade. Posteriormente foram trituradas em microprocessador para a obtenção da farinha. Esta foi pesada, envasada em sacolas plásticas e mantida sob refrigeração.

No ensaio experimental, a distribuição dos animais foi feita de forma aleatória e randomizada em dois grupos iniciais (diabéticos e não diabéticos) e subdivididos em oito grupos (yacon, FOS, celulose e padrão) com oito ratos em cada (Figura 2).

A indução do diabetes tipo II, foi feita utilizando a droga estreptozotocina, na concentração de 40mg/kg de peso corporal diluída em solução tampão de citrato de sódio (pH= 4,5; 0,01M) e administrada na veia da cauda dos animais dos quatro grupos diabéticos. A indução foi realizada após jejum de 24 horas. A confirmação do diabetes aconteceu três dias depois da indução após jejum de 12 horas, com a análise de uma gota de sangue da cauda do animal. Os animais com glicemia abaixo de 200mg/dL foram excluídos do estudo. A glicemia foi analisada por aparelho Accu-Check Advantage II com fitas glicotestes.

O ensaio biológico foi desenvolvido por um período de 35 dias. Sendo que desses sete dias de adaptação e 28 dias de tratamento. O ensaio foi conduzido com a oferta de quatro tipos de dietas diferentes entre si de acordo com o subgrupo (yacon, FOS, controle e padrão) tanto para os animais diabéticos quanto para os não diabéticos (Tabela 1).

As dietas oferecidas foram elaboradas de acordo com a recomendação da AIN-93M (15) e modificadas em relação ao teor de fibras. A dieta yacon foi elaborada com 18,75g de farinha da batata yacon o que equivale a aproximadamente 6g de FOS. Já que alguns estudos afirmam que de 40 a 70% dos carboidratos do tubérculo são FOS (9, 10) e que na farinha utilizada foi encontrado um valor de aproximadamente 83,30g de carboidratos em 100g da farinha segundo análise pelo método fenol sulfúrico (13). As dietas dos grupos FOS (diabéticos e não diabéticos) receberam acréscimo de 6g de FOS® isolado. As dietas dos grupos controle foram acrescentadas de 6g de celulose e nas dietas dos grupos padrão não se acrescentou fibras. Ressaltando que todas as dietas tinham em comum os 5% de celulose recomendadas pela AIN – 93M.

Para elaborar a farinha foi feito um tratamento com 0,2% de bissulfito de sódio para inibir o escurecimento enzimático do yacon. Após todo o procedimento de secagem as fatias da batata foram trituradas em microprocessador para a obtenção da farinha que foi utilizada na elaboração das dietas yacon (Figura 1).

Todos os procedimentos com os animais foram realizados de acordo com os princípios éticos preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (14), e o protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Goiás (Protocolo nº 126/10).

Os animais foram pesados semanalmente e a glicemia analisada uma vez por semana durante todo o período de tratamento. Foram também identificados sinais clínicos da doença durante todo o experimento, tais como microcomplicações sanguíneas (circulação periférica, cor da cauda), poliúria e polidipsia. E o consumo de ração foi avaliado a cada dois dias.

Para análise estatística dos dados utilizou-se o modelo de efeitos mistos com matrix de variância e covariância com estrutura Toeplitz:

$y_{hijk} = \mu + \alpha_i + b_{hij} + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + \delta_h + (\delta\alpha)_{hi} + (\delta\gamma)_{ik} + (\delta\alpha\gamma)_{hik} + \varepsilon_{ijk}$. Onde y_{hijk} são as variáveis peso, glicemia e resto ingesta na coleta semanal k , sobre o j -ésimo rato, do grupo i , na dieta h ; $\mu + \alpha_i + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + \delta_h + (\delta\alpha)_{hi} + (\delta\gamma)_{ik} + (\delta\alpha\gamma)_{hik}$ é a média do peso, da glicemia e do resto ingesta dieta h , grupo i , na coleta semanal k ; b_{hij} é o efeito aleatório associado com o rato j na dieta h , no grupo i , $N(0, \sigma_B^2)$; ε_{hijk} é o erro aleatório associado com o rato j , da dieta h , do grupo i , na coleta semanal k , com matrix de variância e covariância com estrutura irrestrita. A análise do modelo de efeitos mistos foi realizada no software SAS (Statistical Analysis System) 9.2 for Windows. Para efeito de análise usou-se um nível de significância de 5 %.

III. Resultados

A batata *yacon in natura* possui elevado conteúdo de umidade e baixas concentrações de lipídeos e proteínas (Tabela 1). O valor energético total observado foi de 47,24 kcal/100g na batata *in natura* e de 361,16 kcal/100g da farinha.

Verificou-se após o experimento que as glicemias médias não diferem estatisticamente entre si ao longo das semanas avaliadas para os grupos não diabéticos, independente da dieta oferecida ($p = 0,9893$) (Figura 3).

No entanto observou-se que no grupo diabético, ao longo das cinco semanas, houve diferença estatística entre as médias de glicemia das diferentes dietas oferecidas. Os ratos diabéticos que foram alimentados com dieta yacon apresentaram em média 179,55 ml/dl a menos na glicemia quando comparados com os ratos alimentados com as outras três dietas ($p < 0,001$) (Figura 4).

Verifica-se que a partir da terceira semana, o comportamento glicêmico dos animais começa a se diferenciar bastante entre as dietas, indicando que os valores de glicemia dos que receberam dieta com yacon foram melhor controlados comparada a glicemia dos animais que receberam dieta com FOS, que por sua vez teve maior controle comparado a dieta padrão e celulose ($p < 0,05$).

Em relação aos parâmetros clínicos, observaram-se variações entre o grupo diabético e não diabético, embora a quantificação destes não tenha sido realizada durante o experimento. A água dos bebedouros dos animais diabéticos foi trocada cinco vezes na semana enquanto que a dos não diabéticos foi trocada apenas duas vezes. Os animais diabéticos mantiveram-se apáticos, com maiores alterações de pelagem e problemas de circulação periférica (ponta da cauda escurecida). Observou-se ainda, durante a limpeza rotina dos gaioleiros para avaliação de consumo alimentar, que a urina dos animais diabéticos tinha um odor forte e ácido e o volume era maior.

Quanto a evolução ponderal dos ratos durante o experimento, observou-se que o ganho de peso dos animais indica diferença estatística a partir da terceira semana nos grupos não diabéticos, com menor ganho de peso dos animais que receberam a dieta com yacon ($p = 0,0042, 0,0316$ e $0,0327$, para terceira, quarta e quinta semana respectivamente) (Figura 5). Quando comparado o ganho de peso desses animais não diabéticos com dieta yacon e FOS, observou-se que os ratos

que foram alimentados com dieta FOS apresentaram em média 26,08g a mais no peso quando comparados com os ratos alimentados com dieta yacon. No entanto no grupo diabético, os pesos médios dos animais não diferem estatisticamente entre si ($p = 0,2109$), ao longo das semanas avaliadas, independente das dietas oferecidas (Figura 6).

Quanto à evolução do peso de uma forma geral, os grupos não diabéticos apresentam pesos médios estatisticamente superiores comparados aos grupos diabéticos, em todas as semanas avaliadas ($p < 0,0001$), uma vez que os animais sofreram influência das alterações metabólicas da doença (Figura 7).

A oferta de ração em quantidade igual para todos os grupos impossibilitou a avaliação da polifagia dos animais. No entanto, foi possível detectar uma menor ingestão diária de ração com farinha da batata yacon comparada aos demais grupos, tanto para o grupo diabético quanto para o grupo não diabético. Ao longo das cinco semanas, aqueles ratos diabéticos que foram alimentados com dieta com farinha de yacon consumiram em média 36,08g a menos de dieta quando comparados aos animais alimentados com as outras três dietas ($p < 0,0001$) (Figura 8). No grupo não diabético, essa média foi de 26,50g a menos de consumo da dieta com yacon comparados com as demais ($p < 0,0001$) (Figura 9).

Ao avaliar a média de ingestão por semana separadamente das dietas foi possível observar que não houve uma variação significativa, ou seja, a taxa de mudança não se alterou ao longo do período analisado ($p = 0,7364$).

IV. Discussão

O valor de umidade elevado da batata yacon *in natura* já era esperado pelas suas características sensoriais no que se refere à suculência e refrescância. Valores

semelhantes foram encontrados, na raiz seca de yacon, sendo 87,52% de umidade (10). Em outro estudo sobre a composição química da batata yacon, constatou-se valores de 85,93% de umidade; 0,23% de lipídeos; 0,61% de proteínas; 0,5% de cinzas e 12,27% de carboidratos (11), sendo estes valores similares aos encontrados no presente estudo.

O valor de umidade da farinha da batata yacon está de acordo com a legislação vigente (12), que estabelece um valor menor que 15g de umidade/100g para farináceos. Valores semelhantes foram encontrados em um estudo que utilizou estufa a 55°C e obtiveram um valor de 4,37% de umidade (15). O que indica que o tempo de secagem e a temperatura determinam a umidade final da farinha. Uma explicação significativa quando comparada a outro estudo (16) que utilizou a temperatura de 40°C e teve umidade de 6,80%. E ainda 0,97% de lipídeos; 3,47% de proteínas; 12,20% de fibras e 2,93% de cinzas.

O valor de fibras encontrados neste trabalho (19%) foi superior ao encontrado em outro trabalho (17) que foi de 9,12% e superior também ao valor de 12,2% (16). No entanto foi semelhante aos valores encontrados de 20,9% (13).

A quantidade de frutooligossacarídeos encontrada na farinha foi semelhante a outros estudos que afirmam ser aproximadamente de 40% dos carboidratos (17). Destaca-se que as diferenças nos plantios não interferem na composição dos frutooligossacarídeos (6), pois não se encontrou diferença significativa nos conteúdos de carboidratos presentes em raízes cultivadas no Brasil e na Bolívia. No entanto o tempo de colheita e armazenamento pode influenciar nas reservas de frutooligossacarídeos da batata yacon. Estudo relata que obteve um teor de 10,1% de FOS em yacon recém-colhida após 8 dias de exposição ao sol (11). Esse valor é muito inferior ao encontrado neste estudo, que não teve a batata exposta ao sol.

A batata yacon é pouco calórica como apresentado neste trabalho. Outros estudos confirmam o fato, com o valor de 54kcal/100g da batata *in natura* (17). Ao compará-la com outros tubérculos como a batata doce (*Ipomoea batatas L.*) (116kcal/100g) ainda teve um valor calórico inferior mas se aproxima da batata doce quanto ao sabor já que os FOS apresentam cerca de um terço do poder adoçante da sacarose (5).

O diabetes é uma síndrome crônica e está associado a altos índices glicêmicos principalmente quando não controlada. No tratamento dessa doença é necessário um controle alimentar preferencialmente com o consumo de alimentos que possam auxiliar no controle desses índices glicêmicos (18). Dieta com alto teor de fibra alimentar tem resultado positivos para saúde, principalmente as solúveis que controlando a velocidade de absorção de glicose com o aumento do tempo de trânsito intestinal retardando o esvaziamento gástrico (19). E os frutooligosacarídeos presentes na batata yacon são frutanos que por não serem digeridos funcionam como fibra alimentar solúvel (12).

Os resultados encontrados nesse estudo sugerem que a dieta yacon teve melhor controle glicêmico comparado à dieta FOS que por sua vez teve melhor controle comparado à dieta padrão e celulose nos grupos diabéticos indicando que o FOS reduz a absorção de glicose (Figura 4). Possivelmente, essa redução acontece pelo mesmo mecanismo das fibras solúveis que formam um gel no lúmen intestinal além de aumentarem a produção de mucina, que atua como uma barreira de controle a absorção de glicose (20).

Outro fator importante para o controle glicêmico é a não digestibilidade do FOS, pois ele chega quase que integralmente ao intestino, sendo fermentados e produzindo ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato). Esses

ácidos têm efeito direto no metabolismo de carboidratos, pois são potentes estimuladores da secreção de GLP-1, que por sua vez estimula o pâncreas a produzir mais insulina e ainda atuam diretamente na saciedade e subsequente redução na ingestão (21,22).

Entre vários dos mecanismos de controle glicêmico na tentativa de normalizar as alterações destaca-se também o aumento na captação de glicose pelos tecidos periféricos (músculos e tecidos adiposos), sendo o FOS, nesse caso, um dos responsáveis por esse estímulo. Ocorre também uma inibição da reabsorção de glicose pelos rins, com o intuito de aumentar a eliminação de glicose pela urina (21,23).

No presente estudo foi possível observar também uma maior diferenciação entre as médias glicêmicas a partir da terceira semana de experimento, sugerindo que o controle glicêmico é melhor avaliado quando realizado um tratamento a longo prazo. Aybar et al. (23), realizaram um ensaio biológico com modelos de diabetes aguda e crônica e observaram que não houve diferença significativa entre os dois grupos quando comparados à glicemia final com a glicemia inicial na fase aguda, porém observou-se uma redução de 6,02% da glicemia comparando o grupo tratado e o grupo controle, no entanto no experimento crônico foi possível observar a diferença estatística com uma diminuição na glicemia de 13,9%.

Como o diabetes é uma doença crônica, cujas manifestações patológicas sobre os rins, retina e vasos estão nitidamente relacionadas ao tempo de exposição do hospedeiro e às anormalidades metabólicas causadas pela doença, um seguimento em longo prazo dos animais pode ser mais eficiente, tal qual foi demonstrado em um ensaio biológico desenvolvido por 12 meses, indicando a capacidade dos animais resistirem à doença por um período de tempo maior

possibilitando uma análise das variáveis mais detalhada e fidedigna da doença nesse período (24).

Além disso, Kolbye (25), em revisão sobre o assunto, concluíram que não há razão para admitir-se à inulina ou ao FOS e seus metabolitos quaisquer efeitos tóxicos tanto quanto ao tempo ou quantidade. Ao contrário, ressaltam os efeitos benéficos destes no metabolismo.

No experimento realizado, os animais diabéticos alimentados com dieta yacon obtiveram um melhor controle glicêmico comparados aos que foram alimentados com a dieta FOS, como já relatado anteriormente (Figura 4). Essa diferença da yacon e do FOS não era esperada já que a quantidade de FOS nas duas dietas é a mesma, porém estudos mostram que os alimentos integrais oferecem mais proteção contra doenças crônicas do que uma fibra isolada. Portanto, é possível admitir esses resultados em resposta à adição de fibra purificada à dieta que tem menor controle glicêmico quando comparada a um alimento íntegro (20,26). Além disso, admiti-se que os cálculos para quantificar os FOS da farinha da batata yacon foram baseados em literatura e não analisados, o que pode ter subestimado a quantidade de FOS da farinha.

O grupo controle com acréscimo de celulose não influenciou sobre os índices glicêmicos por se tratar de uma fibra insolúvel (27), assim como o grupo padrão que não teve acréscimo de fibras, resultados esses já esperados.

Um dos poucos estudos já realizados que utilizaram a oferta de farinha de yacon, concluíram que não foi obtido o efeito hipoglicemiante funcional do yacon tanto com a farinha, nas concentrações testadas (10% da farinha para elaborar a ração) e sugeriram ainda um novo estudo com uma maior dosagem de farinha,

condizendo com o estudo presente no qual foram adicionados 18,75% de farinha de yacon à dieta (4).

Nos animais não diabéticos os diferentes tratamentos não influenciaram na diminuição da glicemia e mantiveram uma média glicêmica dentro dos níveis de normalidade durante todo o experimento, os mesmos relatos foram feitos por Genta et al.,(28) (Figura 3). Outro estudo realizado apenas com animais fêmeas, verificou que também não houve diferença estatística entre a glicemia inicial e final das ratas não diabéticas tratadas com extrato aquoso das folhas de yacon comparando-se as ratas não tratadas com esse extrato (11).

As alterações clínicas dos animais quanto à maior ingestão hídrica nos diabéticos são explicadas, pois caracteriza um dos possíveis sintomas da doença que é a polidipsia. Essa maior ingestão de água também foi observada em estudo realizado por Volpato et al. (11) em que as ratas diabéticas consumiram um volume maior (não quantificado) quando comparadas às ratas do grupo não diabéticos.

Provavelmente essas observações justificam-se, pois para que a glicose seja eliminada na urina como um dos mecanismos de adaptação e de controle da glicemia há necessidade de ingestão de grandes volumes de líquido (daí a diurese exagerada também observada nos animais diabéticos) o que gera sede intensa justificando a maior troca de água dos bebedouros dos animais (polidipsia). A desidratação intracelular causada pela hiperosmolaridade sanguínea, em razão de altos níveis de glicose circulante é outro fator que vai aumentar a sede dos animais, pois essa desidratação é percebida pelos osmorreceptores cerebrais, desencadeando sede intensa (29-34).

As alterações físicas observadas nos grupos diabéticos como apatia e dificuldade de circulação são justificadas pelas alterações metabólicas da diabetes.

Por outro lado os grupos não diabéticos apresentaram-se, durante o experimento, em bom estado geral, ativos, com apetite normal em conformidade com outros trabalhos comparados aos grupos diabéticos (32,33).

Estudos relatam que os ratos têm fatores crossensoriais que predispõem ao sabor doce o que teoricamente favoreceria o consumo da ração com yacon e FOS dos animais (35). Porém a média do consumo da ração com batata yacon foi à menor, o que possivelmente pode ser justificada pela saciedade que a fibra solúvel oferece (19,26), apesar da quantidade de fibras da dieta yacon e FOS observou-se menor consumo da dieta yacon, o que não era esperado.

A menor ingestão de dieta dos grupos que receberam a dieta com batata yacon refletiu no menor ganho de peso tanto para o grupo não diabético quanto para o grupo diabético comparados aos demais grupos.

Os animais diabéticos em geral obtiveram um ganho de peso menor que os não diabéticos, o que pode ser justificada pelo uso das reservas lipídicas dos animais diabéticos para obtenção de energia, visto que não produzem insulina suficiente para promover a metabolização eficiente da glicose necessária para a demanda energética, ou seja, a diminuição da insulina reduz o processo anabólico acelerando o processo catabolico do organismo, contribuindo com o menor ganho de peso (36). Esses resultados corroboram com os encontrados em um modelo experimental em que os animais diabéticos apresentaram ganho de peso significativamente menor em relação aos ratos normais (24). Observações semelhantes foram encontradas no estudo de Oliveira et al., (10) entre ratos diabéticos e não diabeticos, porém essas diferenças de pesos não foram significativas quando comparadas por grupos de estudo (oferta de solução de yacon e o outro grupo oferta de água).

V. Conclusão

A farinha da batata yacon foi capaz de diminuir a média da glicemia dos ratos diabéticos, o que pode ser justificado pela reserva de FOS.

Os animais tratados com dieta FOS também reduziram a glicemia confirmando a capacidade de controle glicêmico desses frutanos.

Foi possível observar a eficácia da metodologia de indução do diabetes melitus tanto pela glicemia quanto pelos sintomas desenvolvidos pelos animais, validando o protocolo de indução elaborado.

Tais resultados sugerem que estudos crônicos com o modelo de diabetes podem ser melhor avaliados em relação ao controle glicêmico, já que observou-se um melhor controle a partir da terceira semana de experimento.

E. Agradecimentos

Os autores agradecem aos alunos e profissionais envolvidos na coleta de dados. Agradecem também ao Laboratório SKL Functional Nutrition Ltda e ainda à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo recebimento de bolsa de mestrado da pós-graduanda Lorena Pereira de Souza Rosa.

Conflito de Interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses pertinentes.

O Laboratório SKL FUNCTIONAL NUTRITION LTDA-EPP, o qual doou o suplemento nutricional permitindo a realização desta pesquisa é uma empresa séria, idônea e seus produtos apresentam registro na ANVISA nº. 1.05.691-8. Para a realização desta pesquisa foi firmado um contrato “Termo de acordo de patrocínio” entre a pesquisadora (PATROCINADA) e o Laboratório SKL (PATROCINADOR), estabelecendo que a pesquisa seria desenvolvida seguindo os princípios éticos de animais e que o patrocinador teria por obrigação fornecer suplemento suficiente para o bom andamento da pesquisa, e que os dados relativos à pesquisa são de direito da pesquisadora podendo ser cedido e utilizado pela SKL somente sob autorização e sob a forma apresentada pela pesquisadora, que os dados obtidos e analisados na pesquisa serão divulgados independente do resultado final ser favorável ou não ao patrocinador.

F. Referências

1. Toscano CM. As campanhas nacionais para detecção das doenças crônicas não-transmissíveis: diabetes e hipertensão arterial. *Ciênc. Saúde. Coletiva*. 2004;9(4):885-95.
2. Narayan KMV, Gregg EW, Fagote-campagna A, Engelgau MM, Vinicor F. Diabetes: a common, growing, serious, costly, and potentially preventable public health problem. **Diabetes Res. Clin. Pract.** 2000;50(2):77-84.
3. Negri, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. *Rev. bras. ciênc. Farm.* 2005;41(2):121-42.
4. Pereira CLP, Monteiro MRP, Henriques GS, Callegari FU, Herbst WL. Avaliação do efeito hipoglicemiante da farinha e do extrato de yacon (*Polymnia sonchifolius*) em ratos normais e diabéticos. *Ver. Méd. Res.* 2009;11(4):147-154.
5. Quinteros ETT. Produção com tratamento enzimático e avaliação do suco de yacon [Tese de doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2000.
6. Silva EB, Candido LMB, Sabino J, Freitas RJS, Stertz SC. Composição química da raiz e das folhas desidratadas do yacon. *Rev. bras. plantas med.* 2004;6(8):48-52.
7. Burigo T, Fagundes RLN, Trindade EBSM, Vaconcelos HCFF. Efeito bifidogênico do frutooligossacarídeos na microbiota intestinal de pacientes com neoplasia hematológica. *Rev. Nutr.* 2007;20(5):491-497.
8. Santos LC, Cançado IAC. Probióticos e prebióticos: vale a pena incluí-los em nossa alimentação! *SynThesis Rev Digit FAPAM*. 2009;1.
9. Reis DM, Pardal DP, Baldissera J. Estudo experimental sobre o uso do *smallanthus sonchifolius* na redução da hiperglicemia: uma contribuição para a qualidade de vida e saúde dos diabéticos. *Revista Científica Online JOPEF*. 2006;1(5):3-7.
10. Oliveira LA, Braga Costa TM, Oliveira LRA, Ferreira JF, Navarro AMM. Respostas glicêmicas de ratos diabéticos recebendo solução aquosa de yacon. *Alim. Nutr.* 2009;20(1):61-67.
11. Volpato GT, Vieira FL, Damasceno DC, Câmara FLA, Distasi LC, Lemonica IP. Efeitos do extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* (yacon) em ratos diabéticos. *Rev. bras. plantas med.* 2007; 9(2):88-93.
12. Seminario J, Valderrama, M. El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima, Peru: Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE), 2003.60p.

13. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytic Chemistr.* 1956;28(3):350-356.
14. De Luca RR, Alexandre SR, Marques T, Souza NL, Merusse JLB, Neves SP. Ética, bem-estar e legislação. In: Manual para técnicos em bioterismo; 1990; São Paulo, Brasil. São Paulo: Rothschild; 1990. p.13.
15. Reeves PG, Nielsen FN, Fahey Junior GC. AIN- 93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition ad hoc writing commite on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 1993; 123:1939-51.
16. Rosa CS, Oliveira VR, Vieira VB, Gressler C, Veiga S. Elaboração de bolo com farinha yacon. *Ciênc Rural.* 2009;39(6):35-37.
17. Spiegel JE, Rose R, Karabel P. Safty and benefits of frutooligosaccharides as food ingredients. *Food and Technol.* 1994;48(3):85-89.
18. Moscatto JA, Prudencio-Ferreira SH, Haully MCO. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2004;24(4):634-40.
19. Derivi SCN, Mendez MHM, Francisconi AD, Silva CS, Castro AF, Luz DP. Efeito hiperglicêmico de rações à base de berinjela (*Solanum melongena*, L.) em ratos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2002;22(2):164-169.
20. Freitas MCJ, Derivi SCN, Mendez MHM, Fernandes ML. Produto rico em fibra solúvel (pectinas) e seu efeito sobre os níveis de glicose no soro sangüíneo. *Ciênc Tecnol Alim.* 1994;14(12):46-54.
21. Silva ASS, Haas P, Sartori NT, Anton AA, Francisco A. Frutooligossacarideos: Fibras Alimentares Ativas. *Boletim CPPA.* 2007;25(2); p.295-304.
22. Marquez LR. Fibra terapêutica. São Paulo: Byk Química, 2001.
23. Aybar MJ, Sánchez ANR, Grau A, Sánchez SS. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2001;74(2): 125-132.
24. Lerco MM, Spadella CT, Machado JLM, Schellini SA, Padovani CR. Caracterização de um modelo experimental de *Diabetes Mellitus*, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2003;18(2):132-142.

25. Kolbye AC. Evaluation of the food safety aspects of inulin and oligofructose—GRAS determination. Orafiti internal report. 1992.
26. Castilho AC. A Importância das Fibras Alimentares para o Paciente Diabético. Support, 2005.
27. Mello VD, Laaksonen DE. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios a saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009;53(5):509-518.
28. 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):1657-1665.
29. Passos LML, Park YK. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. *Cienc Rural.* 2003;33(2):385-90.
30. Lee S, Tung KSK, Koopmans H, Chandler JG, Orloff MJ Pancreaticoduodenal transplantation in the rat. *Transplantation.* 1972;13:421-5.
31. Ueda T, Lee S, Storck G. Metabolic effect of Alloxan diabetic rats before and after pancreas transplantation. *Proc Anat Microsurg Soc.* 1979;3:423-4.
32. Brekke IB, Hostmark AT, Flaten O, Oyasoeter S. Effect of pancreas transplantation on plasma lipids and plasma concentrations of pancreatic hormones in streptozotocin diabetic rats. *Eur Surg Res.* 1981;13:361-70.
33. Calderon IMP. Modelo experimental em ratas para estudo do binômio diabetes e gravidez [Dissertação de Mestrado]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 1988.
34. Spadella CT. Avaliação funcional do transplante pancreato-duodenal no rato diabético: estudo clínico laboratorial, anátomo-patológico e imunohistoquímico [Tese de Doutorado]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 1989.
35. Nascimento AB, Rezende D, Souza SR, Florenzano AP. Papel do gosto e do cheiro no controle do comportamento alimentar de ratos privados e não privados. *Semina.* 1991;11(2):101-07.
36. Alves NNR, Gargliardo LC, Lavinhas FC. A importância do consumo de fibras dietéticas solúveis no tratamento do diabetes. *Saúde & Amb.Rev.* 2008;3(2):20-29.

G. Tabelas

Tabela 1. Composição centesimal e valor energético da batata yacon *in natura* e na forma de farinha (g.100g⁻¹).

Componente	Batata yacon in	Farinha da batata
	natura ¹	yacon ¹
Umidade	86,90 ± 1,22	5,57 ± 0,12
Proteínas (N x 6,25)	0,55 ± 0,55	4,20 ± 0,06
Lipídios	0,16 ± 2,05	1,24 ± 0,08
Cinzas	0,63 ± 0,38	4,85 ± 0,45
Carboidratos totais	10,90 ± 0,31	83,30 ± 0,47
Valor Energético Total (kcal)	47,24	361,16

¹ Valores constituem médias ± desvios-padrão de três repetições, com exceção do valor energético (VET), estimado por meio dos fatores de conversão de 4, 4 e 9 para proteínas, carboidratos e lipídios respectivamente (MERRIL; WATT, 1973).

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g.100g⁻¹ de dieta).

Componente ¹	Dieta ²			
	Yacon	FOS®	Controle celulose	Padrão
Farinha de yacon	18,75	---	---	---
FOS®	---	6,00	---	---
Óleo de soja	4,00	4,00	4,00	4,00
Celulose	5,00	5,00	11,00	5,00
Mistura salina	3,50	3,50	3,50	3,50
Mistura vitamínica	1,00	1,00	1,00	1,00
Bitartarato de colina	0,25	0,25	0,25	0,25
L-cistina	1,80	1,80	1,80	1,80
Caseína	14,00	14,00	14,00	14,00
Amido de milho	53,30	64,45	64,45	70,45

¹ Segundo Reeves, Nielsen e Fahey Júnior (1993).

² Yacon: quantidade de farinha equivalente a 6 g de frutooligossacarídeos; FOS®: adicionado 6 g puro/ 1 sachê; Controle celulose: adicionado 6g de celulose e Padrão: sem acréscimo de fibras.

H. Legenda das Figuras

Figura 1. Distribuição dos animais por tratamento.

Figura 2. Fluxograma de obtenção da farinha de yacon.

Figura 3. Evolução de glicemia dos ratos não diabéticos conforme tipo de dieta.

Figura 4. Evolução de glicemia dos ratos diabéticos conforme tipo de dieta.

Figura 5. Curva das médias de ganho de peso dos animais não diabéticos ao longo das semanas de acompanhamento.

Figura 6. Curva das médias de ganho de peso dos animais diabéticos ao longo das semanas de acompanhamento.

Figura 7. Evolução de peso dos animais diabéticos e não diabéticos.

Figura 8. Curva das médias de consumo de ração em ratos diabéticos.

Figura 9. Curva das médias de consumo de ração em ratos não diabéticos.

I - Figuras

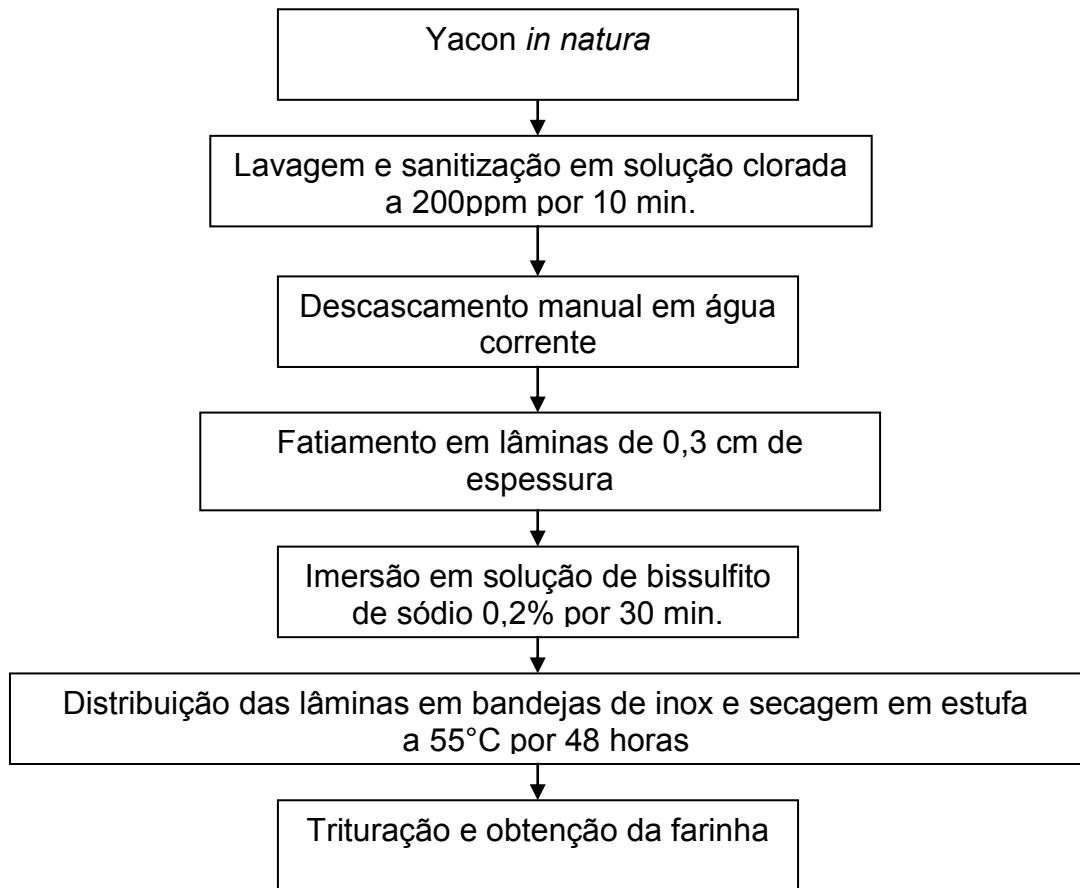


Figura 1. Fluxograma de obtenção da farinha de yacon.

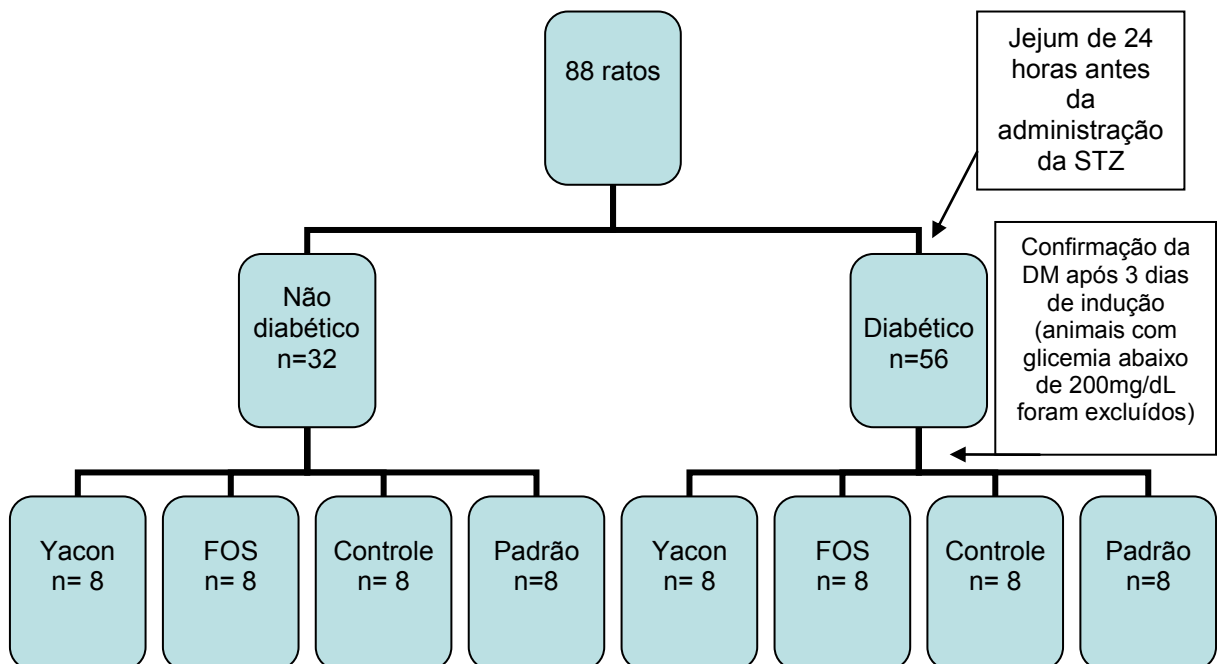


Figura 2. Distribuição dos animais por tratamento.

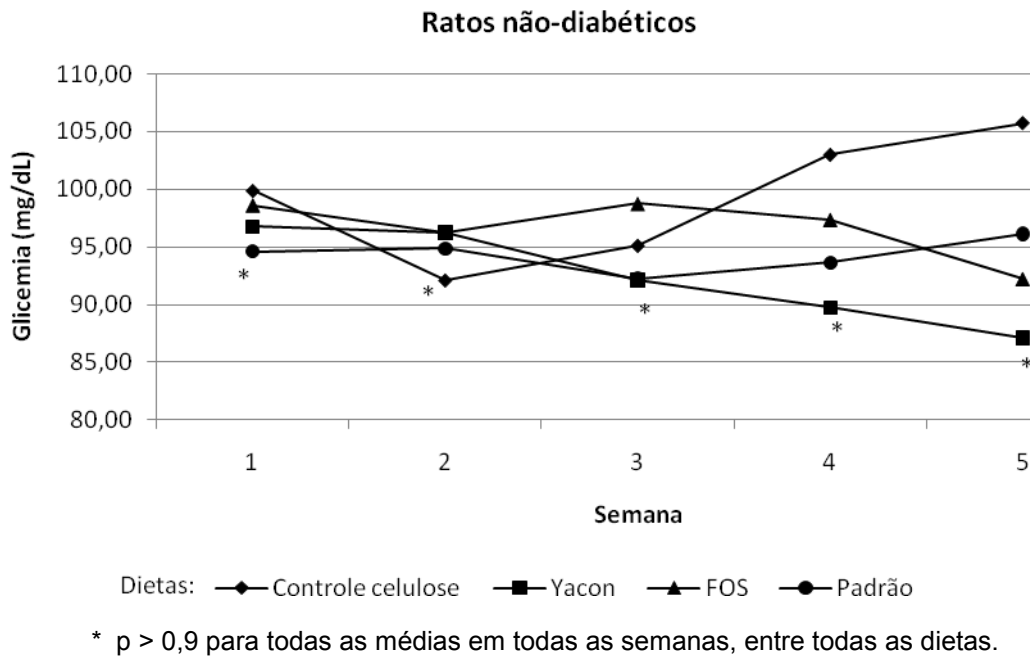


Figura 3. Evolução da glicemia dos ratos não diabéticos conforme dieta.

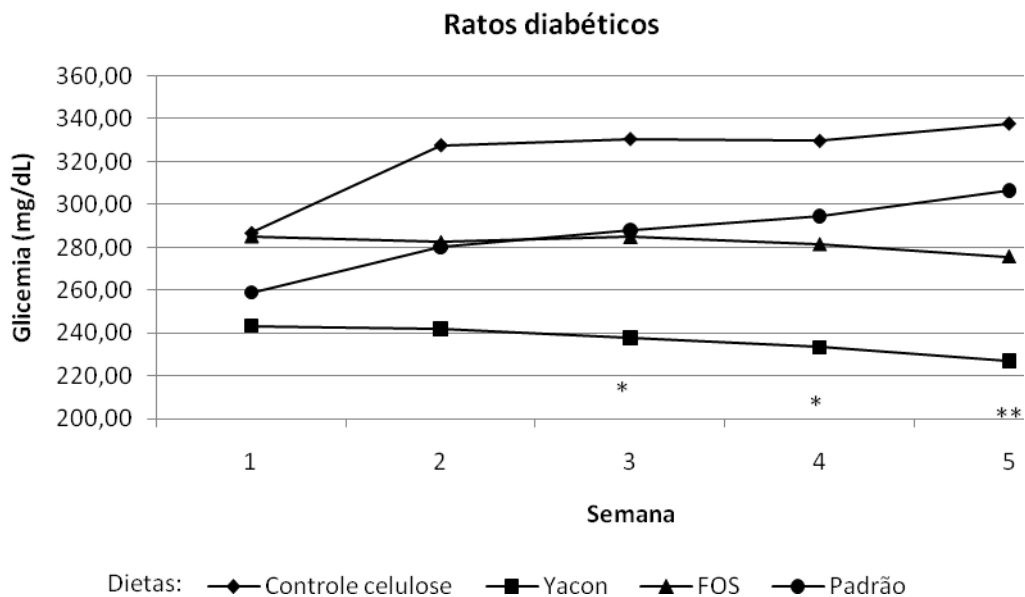
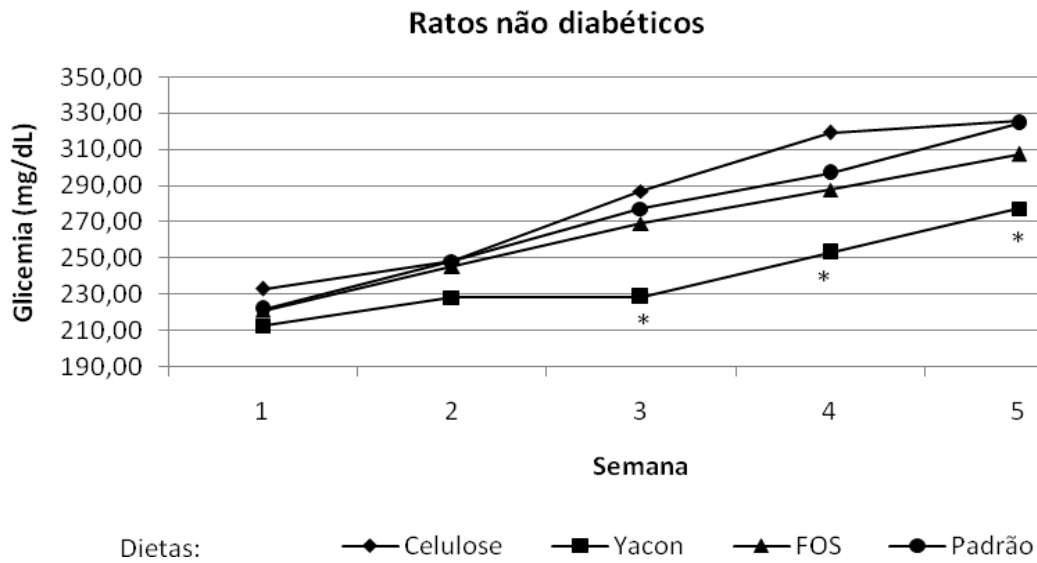
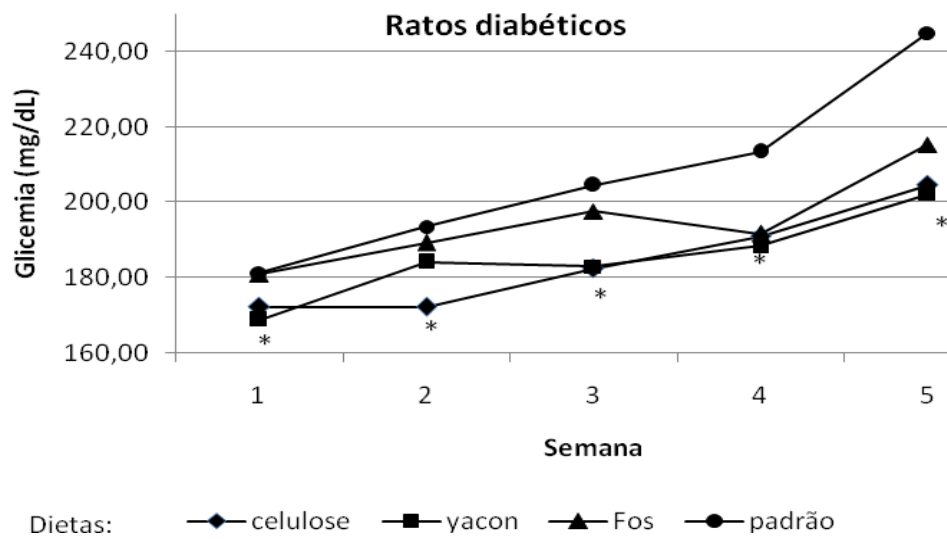


Figura 4. Evolução de glicemia dos ratos diabéticos conforme tipo de dieta.



* $p < 0,05$ para terceira, quarta e quinta semana respectivamente quando comparada a yacon com as demais dietas.

Figura 5. Curva das médias de ganho de peso dos animais não diabéticos ao longo das semanas de acompanhamento.



* $p > 0,05$ para todas as médias em todas as semanas, entre todas as dietas.

Figura 6. Curva das médias de ganho de peso dos animais diabéticos ao longo das semanas de acompanhamento.

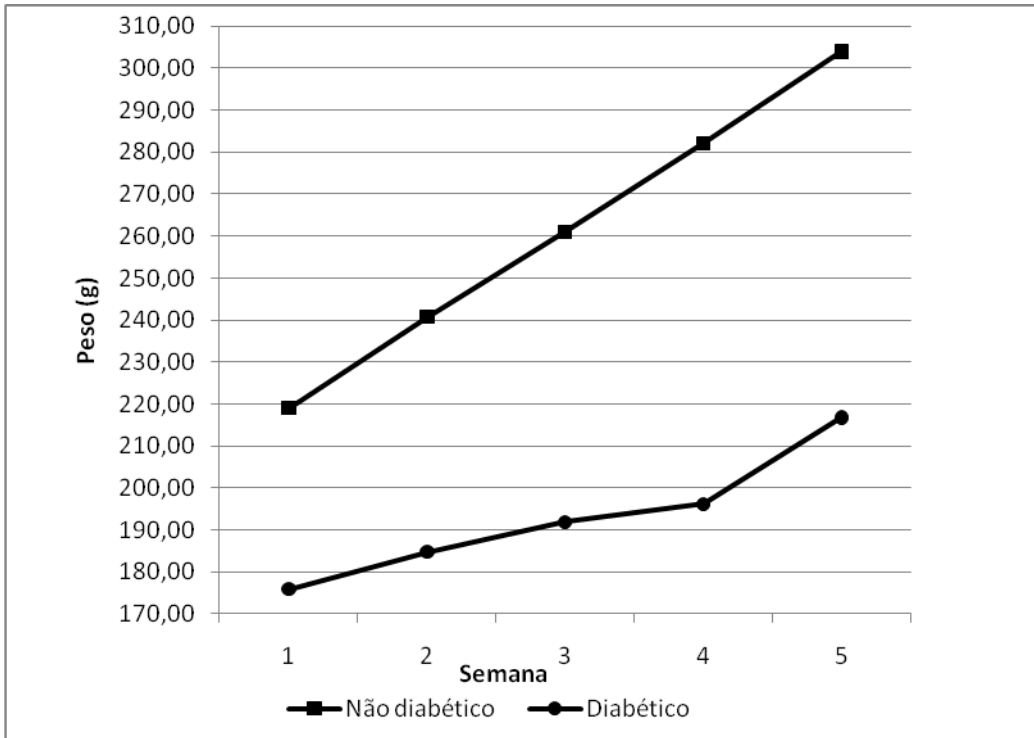


Figura 7. Evolução de peso dos animais diabéticos e não diabéticos. Com $p < 0,0001$.

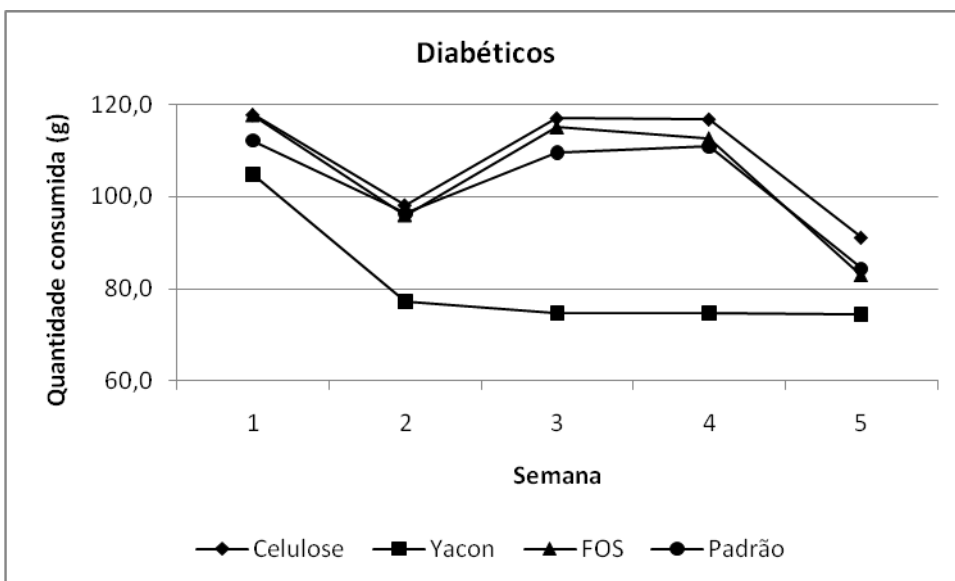


Figura 8. Curva das médias de consumo de ração em ratos diabéticos com $p < 0,0001$ entre a dieta com batata yacon e as demais.

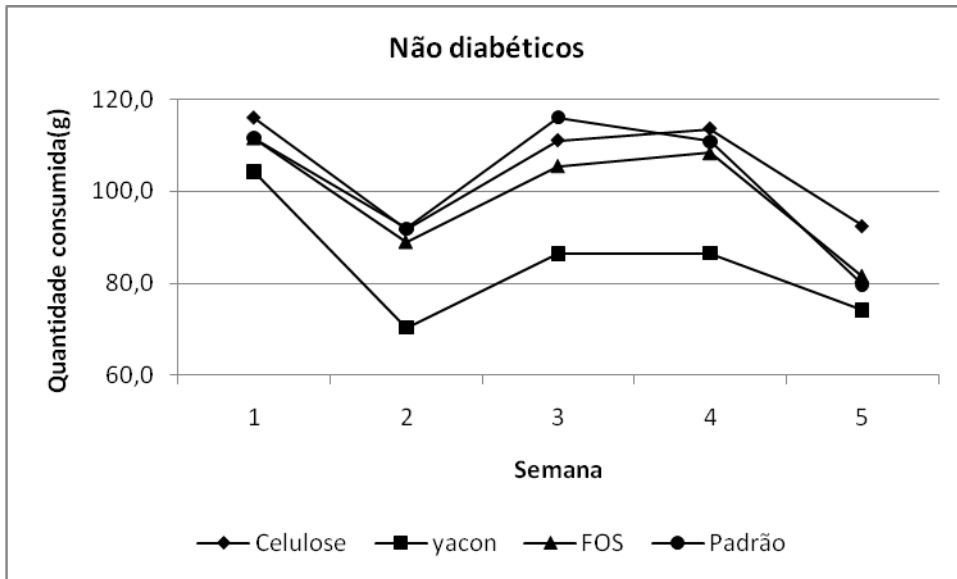


Figura 9. Curva das médias de consumo de ração em ratos não diabéticos com $p < 0,0001$ entre a dieta com batata yacon e as demais.

CAPÍTULO 3

1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo teve limitações tais como a falta de equipamento (HPLC) para determinação da quantidade de frutooligossacarídeos na farinha da batata yacon. No entanto foi feito um levantamento bibliográfico para tentar uma aproximação da realidade.

O protocolo elaborado para a indução do diabetes foi de extrema importância já que nos artigos publicados, dissertações e teses existem falhas no detalhamento da metodologia, das quantidades necessárias da droga e outros dados. Sugere-se com essa dificuldade que é necessário uma padronização nos modelos animais de diabetes para possibilitar uma reprodução adequada do método e ainda uma comparação de resultados mais fidedigna.

A análise da composição centesimal foi uma avaliação muito interessante para praticar a nutrição em química e bioquímica dos alimentos com uma formação profissional diferenciada.

O escurecimento enzimático da batata yacon é rápido e exigiu um cuidado na escolha do método adequado para inibir essa alteração. Foram feitas análises com diversos inibidores tais como ácido cítrico, ácido ascórbico, cloreto de cálcio, bissulfito de sódio e ainda métodos como branqueamento. Foi adotado o bissulfito de sódio com dosagens permitidas pela legislação. O resultado foi uma farinha com cor clara, com uma umidade aceita pela legislação de farináceos e sem resíduo.

Em relação à análise estatística realizada foram necessárias várias tentativas que fossem capazes de avaliar os tempos intermediários do experimento e após buscas pelo melhor método utilizaram-se medidas repetidas. Esse método ainda é pouco conhecido e pouco utilizado nos estudos. O que também dificulta a comparação de resultados com as demais pesquisas desenvolvidas com yacon em modelos animais.

Por fim o estudo realizado proporcionou uma vivência em áreas desconhecidas (análise de alimentos e nutrição experimental) e um crescimento pessoal e profissional grandioso.

APÊNDICES

Apêndice A - Protocolo de diabetes

PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE DIABETES

1. DROGAS

As drogas mais utilizadas para a indução do diabetes em roedores são a aloxana e a estreptozocina por reproduzirem nos animais o quadro de alterações metabólicas e sinais clínicos semelhantes aos que ocorrem na enfermidade naturalmente adquirida (MENDES; RAMOS, 1994).

No entanto, o aloxano apresenta instabilidade química, e é metabolizada muito rápida e alguns fatores tais como dieta e idade dos animais, não permitem estabelecer uma relação clara entre as doses de aloxano e sua concentração efetiva no pâncreas (MARLES; FARNSWORTH, 1995).

A STZ (2-deoxi-2-(3-metil-3-nitrosoureído)-D-glicopirranose) é um antibiótico de amplo espectro de ação, produzida a partir de microorganismos *streptomyces achromogenes* (HERR, 1960).

Existe também outro método de indução de resistência a insulina e diabetes por administração de FRUTOSE, porém é pouco sensível para ratos (CESARETTI; KOLHLMANN JÚNIOR, 2006).

Estudos que utilizaram a estreptozotocina como drogas de indução obtiveram resultados satisfatórios da doença na maioria das vezes associados a sinais clínicos (BRONI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; PESSONI et al., 2004; VOLPATO et al., 2007).

Adotou-se, portanto a estreptozotocina como a droga indicada para o modelo.

2. DOSE

Experiências demonstram que doses de STZ na faixa de 50 a 100mg/kg de peso corporal causam necrose das células β com desenvolvimento do DM tipo I, um ou dois dias após a aplicação da droga (HOUNSOM, 1998).

SCHNEDL et al., (1994) demonstraram que a toxicidade dirigida para as células β é devida à similaridade da molécula da STZ com a glicose, o que permite que a mesma seja internalizada via transportadores GLUT-2.

Delfino et al. (2002), afirmam que a dose de 60mg/kg para indução de diabetes tipo I/severa, é considerada de alta toxicidade. E em torno de 45mg/kg para diabetes mais leve/ tipo II é o ideal porém é uma diabetes mais instável e menos duradouro.

Estudos realizados com a administração da estreptozotocina a 40mg/kg obtiveram sucesso na indução do diabetes sem maiores intercorrências (OLIVEIRA et al., 2009; PESSONI et al., 2004; VOLPATO et al., 2007).

Para possíveis perdas (ratos que não se tornam diabéticos, ou que morrem após a utilização da droga), estudos sugerem o acréscimo de no mínimo 40% sobre a amostra inicial (LERCO et al., 2003).

Portanto para o modelo de diabetes ficou definido a dose de 40mg/kg de peso corporal do animal.

E para a administração foi necessário a diluição da mesma em solução tampão de citrato de sódio 0,01M com pH de 4,5 para evitar possíveis alterações do pH sanguíneo do animal (OLIVEIRA et al., 2009).

A droga foi diluída em 0,1ml de solução para cada 100g de peso do animal. Ou seja, foi determinada a dose de 40mg/kg, a diluição adequada é de 4mg de droga em 0,1ml de solução tampão.

Ressalta-se que segundo o *Guidelines for Collection of Blood from Experimental Animals* (RESEARCH ANIMAL RESOURCES, 2010) a dose máxima de administração endovenosa de qualquer solução em ratos é de 0,5ml.

3. VIA DE INDUÇÃO E JEJUM PARA ADMINISTRAÇÃO

A injeção da streptozotocina em uma das veias da cauda é mais efetiva para a indução do diabetes comparada as demais vias de administração (DELFINO et al., 2002).

Delfino et al. (2002) indicam que a indução da diabetes pela via intraperitoneal é mais fácil porem existe mais perda e deve-se esperar mais tempo para obtenção da diabetes (2 semanas após a indução), portanto afirmam que a via da veia caudal é a melhor.

Lerco et al. (2003) relatam que quando a via de administração da droga é a endovenosa/caudal, a velocidade de infusão da droga é importante. Doses efetivas não produzem diabetes se as mesmas são injetadas muito lentamente. O jejum também tem um papel importante na indução. Quanto maior o jejum antes da administração maior a chance de se tornarem diabéticos.

Oliveira et al, (2009) utilizaram o jejum de 24 horas para a indução do diabetes com obtenção dos valores de glicemia desejados em todos os animais induzidos.

No modelo do estudo utilizou-se o jejum de 24 horas para indução e a droga foi administrada pela veia da cauda.

4. CONFIRMAÇÃO DO DIABETES

A glicemia foi determinada pelo aparelho Accu-Check Advantage II com fitas glicotestes. Determinou-se essa metodologia, pois o volume do sangue necessário para a leitura do aparelho é muito pequeno possibilitando várias coletas se necessário. Utiliza-se apenas uma gota que é coletada com uma picada de agulha na cauda sem a necessidade de anestesia do animal, apenas local se necessário.

Delfino et al.(2002) afirmam também que o teste por glicosímetro (Accu Check e ou BeckmannII) são sensíveis para a variação de glicemia dos ratos.

A confirmação foi realizada após três dias da indução após 12 horas de jejum (VOLPATO et al. 2007; PESSONI et al.,2004). Para as demais glicemias de jejum foi determinado o tempo de 8 horas para evitar hipoglicemia de rebote.

Os animais com glicemia acima de 200mg/dL foram considerados diabéticos (OLIVEIRA, 2004).

Todos os procedimentos com os animais foram realizados de acordo com os princípios éticos preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (DE LUCA et al., 1996).

5. PROCEDIMENTOS

5.1 Indução

- Prepara a droga em solução tampão de citrato 0,01M, com pH:4,5 e diluir a droga na concentração de 4mg/0,1ml de solução.

- Jejum de 24 horas
- Pesar o animal: calcular a quantidade da droga a ser administrada em relação ao peso do animal
- Colocar a quantidade da droga necessária na seringa de insulina (tuberculina)
- Colocar o animal em potes com algodão molhados com éter etílico para anestesia
- Colocar a cauda do animal na água quente para dilatação do vaso
- Administrar a droga na veia da cauda do animal

5.2 Glicemia de jejum

- Após o jejum de 12 horas, com oferta apenas de água, coletar uma gota de sangue da cauda do animal
- Usar uma agulha fina (tuberculina) para a picada na cauda
- Massagear a cauda para sair a gota de sangue
- Fazer a leitura no aparelho de glicemia



REFERÊNCIAS

BRONI, S.; SUZUKI-KEMMELMEIER, F.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) on glycemia in diabetic rats. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.44, n.3, p.521-530, 2008.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. Modelos experimentais de Resistência a insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e metabolismo**, São Paulo, v.50, n.2, 2006.

DELFINO, V. D. A.; FIGUEIREDO, J. F.; MATSUO, T.; FAVERO, M. E.; MATNI, A. M.; MOCELIN, A.J. Diabetes mellitus induzido por estreptozotocina: comparação em longo prazo entre duas vias de administração, São Paulo, **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.24, n.1, p.31-36, 2002.

DE LUCA, R. R.; ALEXANDRE, S. R.; MARQUES, T.; SOUZA, N. L.; MERUSSE, J. L. B.; NEVES, S. P. (Ed.). **Manual para técnicos em bioterismo**. 2. ed. São Paulo: Winner Graph, 1996.

HERR, R.R.; EBLE, T.E.; BERGY, M.E.; JAHNKE, H.K. Isolation and characterization of streptozotocin. **Antibiotics annual**, v. 7, p.1959-1960, 1960.

HOUNSOM, L.; HORROBIN, D.F; TRITSCHLER, H.; CORDER, R. A lipoic acidgamma linolenic acid conjugate is effective against multiple indices of experimental diabetic neuropathy. **Diabetologia**, Berlim, v. 41, n.7, p.50 -57, 1998.

LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.; PADOVANI, C. R. Caracterização de um modelo experimental de diabetes mellitus, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.18, n.2, 2003.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Phytomedicine**, München, v.2, n.1, p.137-189, 1995.

MENDES, J.D.; RAMOS, H.G. Animal models in diabetes research. **Archives of Medical Research**, México, v. 25, n. 4, p. 367-375, 1994.

OLIVEIRA, C. A. M. Características do diabetes Mellitus. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v.20, n.2, p.93-102, 2004.

OLIVEIRA, L. A.; COSTA, T. M. B.; OLIVEIRA, L. R. A.; FERREIRA, J. F.; NAVARRO, A. M. Resposta glicêmica de ratos diabéticos recebendo solução aquosa de yacon. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.20, n.1, p.61-67, 2009.

PESSONI, R. A.; OLMEDO, P. M. O; CLEMENTE FILHA, A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Produção de concentrados de frutose por inulinases de *Penicillium janczewskii* e atividade sobre o nível de glicose plasmática em ratos diabéticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.3, p.373-377, 2004.

RESEARCH ANIMAL RESOURCES. **Guidelines for Collection of Blood from Experimental Animals**. Disponível em: <http://www.ahc.umn.edu/rar/blood.html>. Acessado em: 21/11/2010.

SCHNEDL, W.J.; FERBER, S.; JOHNSON, J.H; NEWGARD, C.B. STZ transport and cytotoxicity: specific enhancement in GLUT2- expressing cells. **Diabetes**, New York, v. 43, n.2, p.1326-33, 1994.

VOLPATO, G. T.; VIEIRA, F. L.; DAMASCENO, D. C.; CÂMARA, F. L. A.; DI STASI, L. C.; LEMONICA, I. P. Efeitos do extrato aquoso de folhas de Polymnia sonchifolia (yacon) em ratas diabéticas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.2, p.88-93, 2007.

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética

ANEXO B – Termo de acordo de pesquisa

TERMO DE ACORDO DE PATROCÍNIO DE PESQUISA CIENTÍFICA

PARTES:

SKL FUNCTIONAL NUTRITION LTDA, estabelecida na cidade de São Paulo, nesta capital, na Av. Gabriela Mistral, 464 – Penha, CEP: 03701-000, com Inscrição Estadual 116.518.992.110, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 05.335.056/0001-10 e inscrita na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no n. 1.05.691-8 pelo seu representante legal, JOSÉ VALDIR DA SILVA, CPF 075.437.338-03, abaixo assinado, doravante denominada **PATROCINADORA**, e Lorena Pereira de Souza Rosa, brasileira, solteira, nutricionista – pesquisadora, inscrita no CRN/M, sob o nº 4801 e inscrita no CPF sob o número 01144738113, com endereço profissional na Rua 227, Quadra 68, s/nº - Setor Leste Universitário – Goiânia/Goiás - CEP: 74.605 - 08, onde desenvolve a pesquisa objeto do presente patrocínio, doravante denominada **PATROCINADA**.

CONSIDERANDO QUE:

- 1) A PATROCINADORA é a empresa responsável pela fabricação do(s) produto(s) nutricional(is) FOS® – Fibra dietética solúvel prebiótica, devidamente aprovado pela ANVISA e registrado no Ministério da Saúde, a ser(em) utilizado(s) na pesquisa a ser realizada pela PATROCINADA.
- 2) As PARTES têm interesse em conhecer o desempenho do(s) produto(s) quando aplicados em ensaio biológico com ratos diabéticos e não diabéticos sob observação para controle glicêmico.
- 3) A PATROCINADA pretende desenvolver pesquisa sobre efeito da farinha da batata yacon (*smallanthus sonchifolius*), que é rica em frutooligossacarídeos, sobre o perfil glicêmico de ratos diabéticos comparado a oferta isolada dessa fibra solúvel, em que serão verificados os efeitos da aplicação dos frutooligossacarídeos sobre o perfil glicêmico dos ratos, o ganho de peso desses ratos, sobre a composição das fezes e ainda teste de tolerância a insulina após o consumo dos frutooligossacarídeos.
- 4) A PATROCINADORA reconhece que o fornecimento do(s) produto(s) é fundamental para o sucesso desta pesquisa.
- 5) A PATROCINADORA tem interesse em conhecer e divulgar os resultados desta pesquisa.
- 6) A PATROCINADA necessita de quantidade determinada de 3 780g de FOS® – Fibra Solúvel Prebiótica para desenvolver a pesquisa.

Pelo presente instrumento particular as PARTES acima qualificadas estabelecem acordo, mediante as cláusulas abaixo.

CLÁUSULA PRIMEIRA: DO PATROCÍNIO

A PATROCINADORA se compromete a fornecer a quantidade de 630 envelopes do(s) produto(s) denominado(s) FOS®, fornecido(s) em uma vez, o(s) qual (is) será (ao) utilizado(s) exclusivamente para a pesquisa ora patrocinada. Esta quantidade

considera uma pesquisa envolvendo dois subgrupos de ratos, sendo um deles diabéticos (com 13 ratos) e o outro não diabético (com oito ratos) sendo um total de 21 ratos, que venham a consumir 6g de FOS®/dia, sendo um envelope por dia, durante cerca de 30 dias.

Parágrafo Único: Se, por motivo devidamente comprovado pela PATROCINADA, for necessário um maior número de envelopes de FOS®, a PATROCINADORA se compromete e fornecê-lo de modo a não prejudicar a pesquisa.

CLÁUSULA SEGUNDA: DA PESQUISA

A PATROCINADA se compromete a seguir a todas as determinações legais e éticas referentes à pesquisa com animais, seguindo estritamente os princípios éticos da experimentação animal regulamentados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

Parágrafo Único: A PATROCINADA compromete-se, também, a enviar cópia dos documentos emitidos pelos órgãos de Ética em Pesquisa, referente à aprovação do projeto, bem como todos os outros documentos e informações que lhe forem solicitadas pela PATROCINADORA, que digam respeito à pesquisa. Por outro lado, a PATROCINADORA coloca-se à disposição, por meio de seu Departamento Científico, para fornecer informações não-confidenciais e referências bibliográficas, necessárias ao desenvolvimento da pesquisa, a PATROCINADA.

CLÁUSULA TERCEIRA: DA DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS DA PESQUISA

Todas as matérias referentes ao resultado da pesquisa devem ser fornecidas à PATROCINADORA, a qual fica proibido modificar tais resultados.

Parágrafo Primeiro: A PATROCINADORA compromete-se a informar a PATROCINADA sempre que desejar retransmitir os resultados da pesquisa, mencionando o nome da PATROCINADA e instituição de filiação, toda vez que fizer tal retransmissão.

Parágrafo Segundo: A divulgação dos resultados da pesquisa e o artigo científico, como um todo, somente poderá ocorrer por meio de revista científica indexada, eventos e literaturas científicas e propaganda médica, sendo que a escolha do veículo de divulgação deverá ocorrer mediante pré-acordo entre as PARTES.

CLÁUSULA QUARTA: DAS RESPONSABILIDADES

Tendo em vista que a PATROCINADA é autora do estudo, esta deverá ser a única responsável pelo conteúdo divulgado, perante as autoridades responsáveis.

Parágrafo Único: A PATROCINADA se compromete a dedicar-se ao estudo até a sua completa conclusão, ou seja, até que o artigo científico referente à pesquisa esteja publicado, de acordo com o que determina a CLÁUSULA TERCEIRA.

CLÁUSULA QUINTA: DAS PENALIDADES

No caso da PATROCINADA não cumprir com o estabelecido na CLÁUSULA QUARTA, esta deverá devolver a PATROCINADORA todas as amostras de produto

ainda não utilizadas, bem como ressarcir os valores referentes às amostras já utilizadas, fornecidas pela PATROCINADA, para o desenvolvimento do estudo.
São Paulo, 14 de Junho de 2010

SKL FUNCTIONAL NUTRITION LTDA
PATROCINADORA

Lorena Pereira de Souza Rosa
PATROCINADA

Testemunhas:

Nome:
CPF/MF:

Nome:
CPF/MF:

ANEXO C – Normas de publicação dos Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- Objetivo e política editorial

Objetivo e política editorial

A revista **ABE&M** (Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia) aceita contribuições em Endocrinologia Clínica e Básica e ciências afins, nas seguintes categorias: (1) Artigo Original, (2) Artigo de Revisão, (3) Apresentação de Caso Clínico, (4) Caso Especial, (5) Perspectiva, (6) Controvérsias, (7) Memórias, (8) Editoriais e (8) Cartas ao Editor.

Os manuscritos (MS) devem ser redigidos em português ou inglês e estar de acordo com as instruções do Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas – International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), também conhecido como Normas de Vancouver.

Autoria

Todas as pessoas designadas como autores devem responder pela autoria do MS e ter participado suficientemente do trabalho para assumir responsabilidade pública pelo seu conteúdo. O crédito de autoria deve ser baseado apenas por contribuições substanciais durante: (i) concepção, planejamento, execução, análise e interpretação dos resultados, (ii) redação ou revisão do MS de forma intelectualmente importante, e (iii) aprovação final da versão a ser publicada. A participação limitada à obtenção de fundos, coleta de dados, supervisão geral ou chefia de um grupo de pesquisa não justifica autoria.

Os Editores podem solicitar justificativa para a inclusão de autores durante o processo de revisão, especialmente se o total de autores exceder a seis. Os autores devem explicitar se há ou não potencial conflito de interesse, informação que deve ser incluída na seção Agradecimentos.

Os conceitos e os fundamentos epistemológicos, os dados, as experiências, as fontes de pesquisa e as conclusões emitidos nos trabalhos assinados são da inteira responsabilidade do(s) seu(s) autor(es). Os trabalhos submetidos ao ABE&M serão passíveis de revisão lingüística por revisores e relatores qualificados pelo Conselho Editorial, sem perda do crédito de autoria e do vínculo de responsabilidade do autor em relação à obra de criação intelectual.

Submissão dos artigos

A partir de 1 de janeiro de 2009, toda submissão de manuscrito (MS) deverá ser realizada por meio eletrônico através do endereço <http://www.abem-sbem.org.br>. O MS deve estar em formato Word (arquivo.doc) com opção de inclusão de arquivos suplementares. Todo artigo deve destinar-se exclusivamente para a revista ABE&M.

Processo de avaliação

Todos os MS submetidos aos ABE&M que estiverem de acordo com as “Instruções para Autores” e com a política editorial da revista, são analisados pelo Conselho Editorial para

avaliar seu mérito e adequação científica. Aprovados nesta fase, o MS é encaminhado aos avaliadores de reconhecida competência no assunto para seu parecer (*peer review*), cujo anonimato é garantido durante todo o processo de julgamento. A decisão final sobre a aceitação ou rejeição do MS é tomada pelos Editores

Manuscritos aceitos

Todo o MS publicado torna-se propriedade da revista "Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia" e não poderá ser reproduzido, republicado ou divulgado por meio eletrônico sem autorização. Os autores após a aceitação do seu artigo para publicação, transferem implicitamente seus direitos aos ABE&M.

Por razões editoriais, os Editores reservam-se o direito de proceder a pequenas modificações gráficas ou redacionais no texto, sem interferir em seu conteúdo.

Elaboração dos Manuscritos

1. ARTIGO ORIGINAL

É uma contribuição científica destinada a divulgar resultados de pesquisa original que não tenha sido publicada ou submetida em outros meios de divulgação. O MS deve ser digitado em espaço duplo, formatado em papel carta (216 x 279 mm) ou A4 (212 x 297 mm) com pelo menos 2,5 cm de margens de cada lado. Cada uma das seguintes seções deve ser iniciada em uma nova página: (A) Página título, (B) Resumo e Descritores, (C) Abstract (resumo em inglês) e Keywords, (D) Texto completo, (E) Agradecimentos, (F) Referências, (G) Tabelas (cada uma com título e rodapé), (H) Legendas das figuras e (I) Figuras. As páginas devem ser numeradas consecutivamente começando com a página título.

A. Página Título

Deve conter: (a) título do MS (em português e inglês), (b) nome e filiação institucional de todos os autores, (c) nome do(s) Serviço(s) e/ou Departamento(s) e Instituição(ões) onde o trabalho foi realizado, (d) nome e endereço completo (incluindo e-mail) do(a) autor(a) responsável pela correspondência, (e) "título abreviado", com até 40 caracteres (incluindo espaços entre palavras).

B/C. Resumo e Abstract

A segunda página deve conter um Resumo semi-estruturado do trabalho (contendo: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões), com até 150 palavras.

Em página separada, apresentar o *Abstract*, que deve ser a tradução fiel do resumo para o idioma inglês.

Ao final do Resumo e do *Abstract* devem ser fornecidos 4 a 6 descritores do MS (e *keywords* correspondentes), para facilitar sua indexação posterior.

Estes descritores devem estar de acordo com os padrões do Index Medicus, que podem ser consultados no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br/>.

D. Texto

Deve ser dividido nas seguintes seções: (I) Introdução, (II) Métodos, (III) Resultados e (IV) Discussão.

I. Introdução: deve conter o propósito do trabalho, resumizando os motivos do estudo e relevância científica. A revisão do assunto deve ser sucinta e evitar a inclusão de resultados ou conclusões do estudo a ser apresentado.

II. Métodos: deve conter uma descrição do modelo experimental empregado (pacientes ou animais de laboratório) com indicação de que o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital ou Instituição de Pesquisa onde o estudo foi realizado, seguindo a Declaração de Helsinque e os Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea).

Descrição dos métodos empregados citando os principais aparelhos e equipamentos utilizados (nome do fabricante e/ou origem do material entre parênteses) com detalhes técnicos suficientes dos procedimentos que possam permitir a reprodução do estudo apresentado. Métodos amplamente estabelecidos podem ser citados através de referências. Os métodos estatísticos devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a verificação dos resultados àqueles que tiverem acesso.

III. Resultados: devem ser apresentados em seqüência lógica no texto, evitando repetir dados apresentados em tabelas ou figuras; somente as observações importantes devem ser enfatizadas.

Unidades de Medidas – As medidas e as respectivas abreviaturas devem obedecer a Unidade do Sistema Internacional (SI, <http://physics.nist.gov/cuu/Units>). As medidas de comprimento, altura, peso e volume devem ser relatadas em unidades do sistema métrico (metro, quilograma, litro) ou seus múltiplos decimais; temperaturas em graus centígrados (°C); pressão arterial em milímetro de mercúrio (mmHg) e os valores hematimétricos e químicos devem ser fornecidos no sistema métrico tradicional.

IV. Discussão: deve comentar os aspectos novos e importantes obtidos do estudo em relação ao acervo da literatura disponível. Ainda nessa seção devem-se focalizar as conclusões obtidas. Evitar repetir resultados ou informações já apresentadas em outras seções. Deve-se ressaltar as implicações dos achados, suas limitações e mesmo recomendações para estudos futuros.

E. Agradecimentos

Em nova página, incluir: (i) contribuições que necessitem agradecimentos, mas não justifiquem autoria, (ii) agradecimentos a auxílio técnico, financeiro e material, incluindo auxílio governamental e/ou de laboratórios farmacêuticos, e (iii) Conflito de Interesse (inclusão obrigatória): descrever as colaborações financeiras que possam representar potencial conflito de interesse e/ou declarar a inexistência de conflito de interesse que possa interferir na imparcialidade do trabalho científico.

F. Referências (máximo de 40 para artigo original)

Devem ser numeradas consecutivamente em ordem de aparecimento no texto e identificadas por numerais arábicos entre parênteses, conforme o exemplo: "Houve uma atualização da medicina molecular (3), seguida de avanços na área de genética aplicada (4-6), que ...".

Quando houver referências em tabelas e figuras deverá obedecer à ordem correspondente à localização onde as tabelas e figuras estão mencionadas no texto.

Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus e seguindo o formato de citação recomendado pelo ICMJE.

A exatidão das referências constantes da listagem e a correta citação no texto são de responsabilidade do autor.

Trabalhos aceitos, mas ainda não publicados, podem ser incluídos, fornecendo-se o nome do periódico seguido do ano e da informação: (no prelo). Deve-se evitar a citação de resumos apresentados em congressos.

Recomendamos a utilização de programas de editoração de referências bibliográfica (por exemplo, EndNote, Reference Manager) selecionando-se a opção de estilo Vancouver.

Alguns exemplos:

Artigo em Revistas (listar todos os autores, mas se o número exceder seis, acrescentar: et al.):

Suszko MI, Lo DJ, Suh H, Camper SA, Woodruff TK. Regulation of the rat follicle-stimulating hormone beta-subunit promoter by activin. *Mol Endocrinol*. 2003;17(3):318-32.

Thomas TZ, Wang H, Niclasen P, O'Bryan MK, Evans LW, Groome NP, et al. Expression and localization of activin subunits and follistatins in tissues from men with high grade prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(11):3851-8.

Artigo eletrônico na Internet publicado antes da versão impressa:

Yu WM, Hawley TS, Hawley RG, Qu CK. Immortalization of yolk sac-derived precursor cells. *Blood*. 2002;100(10):3828-31. Epub 2002 Jul 5.

Artigo eletrônico na Internet sem versão impressa:

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs*. [serial on the Internet]. 2002 [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Capítulo de Livro:

Conte FA, Grumbach MM. Abnormalities of sexual determination and differentiation. In: Greenspan FS, Gardner DG, editors. *Basic & clinical endocrinology*. 6th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.p.509-46.

Livro:

Leder P, Clayton DA, Rubenstein E. *Introduction to molecular medicine*. New York: Scientific American; 1994.

Base de dados na Internet:

Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). c1999 [updated 2001 Nov 20; cited 2002 Aug 12]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/archive//20061212/mesh/jablonski/syndrome_title.html

MeSH Browser [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2002 - [cited 2003 Jun 10]. Meta-analysis; unique ID: D015201; [about 3 p.]. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Files updated weekly

G. Tabelas

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, digitada em espaço duplo e numerada em arábico, conforme seu aparecimento no texto; deve conter um título breve na parte superior e as explicações, legenda e estatística indicadas adequadamente no rodapé.

H/I. Figuras e Legendas

As figuras deverão ser preparadas originalmente em arquivo TIFF (*Tagged Image File Format*) ou EPS (*Encapsulated PostScript*) ou GIF (*Graphics Interchange Format*). As letras, os números e os símbolos inseridos nas figuras devem ser claros e de tamanho suficiente para serem legíveis, mesmo após redução substancial para publicação. Os títulos e legendas das figuras devem ser fornecidos em folha separada, e nunca na própria figura.

Por ocasião da submissão inicial, as figuras poderão estar inseridas no arquivo Word ou PowerPoint, no entanto, quando aceito o MS, deverão ser enviadas as figuras nos arquivos originais com resolução mínima de 300 dpi. A publicação padrão contempla somente duas cores (preto - vermelho) por isso devem ser evitadas figuras multicoloridas. A inclusão de figura colorida implicará no encargo financeiro (R\$ 900,00/cada figura) que será custeado pelo autor, oportunamente solicitada pelo editor.