

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS
ALIMENTOS

Alice de Souza Ribeiro

**ESTUDO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E
APLICAÇÃO EM PRODUTOS LÁCTEOS**

Santa Maria, RS
2019

Alice de Souza Ribeiro

**ESTUDO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E APLICAÇÃO
EM PRODUTOS LÁCTEOS**

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientador: Prof^ª Dr^ª Neila Sílvia Pereira dos Santos Richards

Santa Maria, RS
2019

Ribeiro, Alice de Souza

Estudo de plantas alimentícias não convencionais e aplicação em produtos lácteos / Alice de Souza Ribeiro.- 2019.

96 p.; 30 cm

Orientadora: Neila Sílvia Pereira dos Santos Richards
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2019

1. Alimentos funcionais 2. Prebiótico 3. Helianthus tuberosus 4. Moringa oleifera 5. Pereskia sp I.
Richards, Neila Sílvia Pereira dos Santos II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2019

Todos os direitos autorais reservados a Alice de Souza Ribeiro. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: alicecta@gmail.com

Alice de Souza Ribeiro

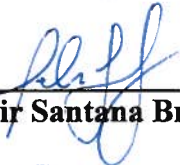
**ESTUDO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E
APLICAÇÃO EM PRODUTOS LÁCTEOS**

Tese apresentada ao curso de Doutorado
do Programa de Pós Graduação em
Ciência e Tecnologia dos Alimentos da
Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM, RS), como requisito parcial para
obtenção do grau de **Doutor em Ciência
e Tecnologia dos Alimentos**

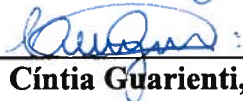
Aprovado em 15 de março de 2019:



Neila Sílvia Pereira dos Santos Richards, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Aelson Aloir Santana Brum, Dr. (IFFar)



Cíntia Guarienti, Dra. (IFFar)



Celso Gabriel Vinderola, Dr. (UNL)
(Via videoconferência)



Gilberti Helena Hübscher Lopes, Dra. (UFSM)

Santa Maria, RS
2019

*“Quanto mais aumenta nosso conhecimento,
mais evidente fica nossa ignorância”.*

(John F. Kennedy)

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, prof^a Neila, por ser além de uma excelente profissional, uma grande pessoa. Obrigada.

À minha família, que está sempre torcendo por mim e mandando energias positivas.

Ao meu marido, por seu incansável e absoluto apoio e amor.

Aos colegas do grupo de pesquisa “Leites especiais e funcionais”, especialmente a minha amiga Cíntia, que esteve junto comigo, compartilhando momentos bons e outros nem tanto, mas sempre com muita amizade, companheirismo e sobre tudo muito bom humor. De forma especial também agradeço a amiga Maritiele, que sempre esteve disposta a ajudar, em todos os momentos.

A todos os meus amigos, que sempre estiveram me apoiando e vibrando comigo à cada conquista, a cada final de experimento, aos artigos concluídos e aceitos para publicação!

Aos colegas, funcionários e professores do PPGCTA-UFSM. Ao departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFSM, especialmente a professora Liliane Bauermann.

Ao Instituto Federal Farroupilha, que possibilitou a realização desse trabalho.

RESUMO

ESTUDO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E APLICAÇÃO EM PRODUTOS LÁCTEOS

AUTORA: Alice De Souza Ribeiro

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Neila Sílvia Pereira Dos Santos Richards

Os alimentos funcionais são encontrados praticamente em todas as categorias de alimentos, no entanto esses produtos não estão uniformemente espalhados por todos os segmentos do mercado. Como ingrediente utilizado em formulações de alimentos funcionais destacam-se os chamados prebióticos, que segundo a legislação brasileira são definidos como todo o ingrediente alimentar não digerível que afeta de maneira benéfica o organismo por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias do cólon. Muitos ingredientes têm sido estudados para sua aplicação como prebióticos em alimentos, entre eles os vegetais *Helianthus tuberosus*, *Moringa oleifera* e *Pereskia sp.* Esses vegetais ainda são pouco estudados como ingrediente prebiótico e apresentam grande potencialidade para desempenhar tal função. Desta forma, o presente projeto teve por objetivo o desenvolvimento de um iogurte simbiótico utilizando o vegetal com maior teor de inulina como fonte prebiótica. Os iogurtes desenvolvidos foram avaliados quanto às suas propriedades funcionais através de testes *in vitro* e *in vivo*. Análises para caracterização físico-química dos produtos assim como as microbiológicas e avaliação da vida de prateleira também foram realizadas. Os resultados médios obtidos da caracterização físico-química das farinhas de *Pereskia aculeata*, *Moringa oleifera* e *Helianthus tuberosus* foram: umidade (0,88, 0,88 e 0,86 g 100 g⁻¹), cinzas (16,34, 7,75 e 5,07 g 100 g⁻¹), lipídios (3,27, 5,57 e 0,48 g 100 g⁻¹), proteínas (22,41, 24,79 e 6,53 g 100 g⁻¹), carboidratos (1,71, 13,83 e 67,38 g 100 g⁻¹) e fibra alimentar (55,39, 48,21 e 19,68 g 100 g⁻¹), em relação à composição mineral as farinhas avaliadas são consideradas fontes de minerais, sendo a farinha de tупinambor fonte de Ca e Mg, a farinha de ora-pro-nobis de P, Ca e Mg e a farinha de moringa de Ca e P. Ao avaliar o perfil cromatográfico dos açúcares da farinha de *Helianthus tuberosus*, identificamos a inulina com 44,44% e ao utilizarmos essa farinha como ingrediente prebiótico em iogurte simbiótico obtivemos uma formulação preferida (F1), esses iogurtes se mantiveram estáveis nos 30 dias de vida de prateleira, em relação à acidez, pH e contagem bacteriana. Essa formulação preferida foi inserida na alimentação de coelhos nova Zelândia brancos exercendo potencial simbiótico através de avaliação sorológica e microbiologia cecal, com níveis menores de colesterol total, triglicerídios e glicose nos animais que consumiram o produto simbiótico quando comparados ao controle. O desenvolvimento de novos produtos que proporcionem algum benefício à saúde além de ser economicamente viável é cada vez mais investigado pelas indústrias de alimentos e pesquisadores da área, assim, *Helianthus tuberosus*, *Moringa oleifera* e *Pereskia sp.* podem destacar-se como importantes ingredientes funcionais, sendo que o *Helianthus tuberosus L.* se destaca como ingrediente prebiótico para a indústria alimentícia.

Palavras-Chave: Alimentos funcionais. Iogurte. Prebiótico. *Helianthus tuberosus*. *Moringa oleifera*. *Pereskia sp.*

ABSTRACT

ESTUDO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E APLICAÇÃO EM PRODUTOS LÁCTEOS

AUTHOR: Alice de Souza Ribeiro

ADVISOR: Prof^a. Dr^a. Neila Sílvia Pereira dos Santos Richards

Functional foods are found in virtually all food categories, however these products are not homogeneously spread across all segments of the market. As an ingredient used in formulations of functional foods, the so-called prebiotics, which according to Brazilian legislation are defined as any nondigestible food ingredient that beneficially affects the organism by selectively stimulating the growth and / or activity of colon bacteria, stand out. Many ingredients have been studied for their application as prebiotics in foods, among them the vegetables *Helianthus tuberosus* L., *Moringa oleifera* and *Pereskia aculeata* Mill. These vegetables are still little studied as a prebiotic ingredient and present great potential to perform such function. Thus, the present project aimed at the development of a symbiotic yogurt using the vegetable with higher inulin content as a prebiotic source. The developed yoghurts were evaluated as to their functional properties by *in vitro* and *in vivo* tests. Analyzes for physico-chemical characterization of products as well as microbiological and shelf life evaluation will also be performed. The average results of the physicochemical characterization of the flour of *Pereskia aculeata* Mill, *Moringa oleifera* and *Helianthus tuberosus* were: moisture (0.88, 0.88 and 0.86 g, 100 g⁻¹), ashes (16,34,7, 75 and 5.07 g 100 g⁻¹), lipids (3.27, 5.57 and 0.48 g 100 g⁻¹), proteins (22.41, 24.79 and 6.53 g 100 g⁻¹), carbohydrates (1.71, 13.83 and 67.38 g 100 g⁻¹) and dietary fiber (55.39, 48.21 and 19.68 g 100 g⁻¹), in relation to the mineral composition flours evaluated are considered mineral sources, being the tupinambor flour source of Ca and Mg, the flour of ora-pro-nobis of P, Ca and Mg and the moringa flour of Ca and P. When evaluating the chromatographic profile of sugars *Helianthus tuberosus* flour, we identified the inulin with 44.44% and when we used this flour as a prebiotic ingredient in symbiotic igurte we obtained a preferred formulation (F1), these yoghurts remained stable in the 30 days shelf life, in relation to the acidity, pH and bacterial counts. This preferred formulation was inserted into the feed of New Zealand white rabbits exerting symbiotic potential through serological evaluation and cecal microbiology, with lower levels of total cholesterol, triglycerides and glucose in the animals that consumed the symbiotic product when compared to the control. The development of new products that provide some health benefit in addition to being economically feasible is increasingly investigated by food industries and researchers in the area, such as *Helianthus tuberosus*, *Moringa oleifera* and *Pereskia aculeata* Mill. can stand out as important functional ingredients, and *Helianthus tuberosus* L. stands out as a prebiotic ingredient for the food industry.

Key-words: Functional foods. Yogurt. Prebiotic. *Helianthus tuberosus* L.. *Moringa oleifera*. *Pereskia aculeata* Mill.

LISTA DE FIGURAS

APRESENTAÇÃO

Figura 1 – <i>Helianthus tuberosus</i> L.	18
Figura 2 – <i>Moringa oleifera</i>	20
Figura 3 – <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	21

MANUSCRITO 2

Figure 1 – Cecal microbiota from rabbits in different treatments.	57
--	----

MANUSCRITO 3

Figura 1 – Separação cromatográfica de polifenóis extraídos da farinha do tubérculo de tupinambor (<i>Helianthus tuberosus</i> L.).....	70
---	----

LISTA DE TABELAS

APRESENTAÇÃO

Tabela 1 – Importantes tipos de alimentos funcionais	14
--	----

MANUSCRITO 1

Tabela 1 – Composição centesimal de farinhas de ora-pro-nobis, moringa e tupinambor.	28
Tabela 2 – Concentrações médias (mg g ⁻¹) e desvios padrões para Fe, Cu, Zn, P, K, Ca e Mg nas amostras de farinhas de ora-pro-nobis, moringa e tupinambor.	32

MANUSCRITO 2

Table 1. Identification and quantification of fructans in the <i>Helianthus tuberosus</i> L. flour.	48
Table 2. Centesimal composition of symbiotic yogurt formulations.	49
Table 3. pH and titratable acidity values of the yogurt formulations during storage.	51
Table 4. Microbial counts values measured on days 1, 15 and 30 of storage at 5°C.	52
Table 5. Results of the sensorial evaluation regarding the acceptance test of five yogurt formulations.	54
Table 6. Results of serological evaluation of rabbits in different groups.	55

MANUSCRITO 3

Tabela 1 – Composição de compostos fenólicos e atividade antioxidante da farinha de <i>Helianthus tuberosus</i> L.	69
Tabela 2 – Identificação e quantificação dos compostos fenólicos extraídos da farinha do tubérculo de tupinambor (<i>Helianthus tuberosus</i> L.).	71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	PREBIÓTICOS	15
2.2	PROBIÓTICOS	16
2.3	PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS	17
2.4	<i>Helianthus tuberosus L.</i>	17
2.5	<i>Moringa oleífera</i>	19
2.6	<i>Pereskia aculeata Mill</i>	20
3	MANUSCRITOS	22
3.1	MANUSCRITO 1 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E MINERAL DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS COMERCIALIZADAS EM PORTO BELO, SANTA CATARINA, BRASIL	22
3.2	MANUSCRITO 2 – DEVELOPMENT OF SYMBIOTIC YOGURT AND BIOLOGICAL EVALUATION (NEW ZEALAND WHITE RABBITS) OF ITS FUNCTIONAL PROPERTIES.....	40
3.3	MANUSCRITO 3 – COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FARINHA DE TUPINAMBOR (<i>Helianthus tuberosus L.</i>)	66
4	CONCLUSÕES GERAIS	76
	REFERÊNCIAS	77
	ANEXO A – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE PLANTAS MEDICINAIS	80
	ANEXO B – NORMAS DA REVISTA FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY	84
	ANEXO C – CARTA DE ACEITE DA REVISTA FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY	92
	ANEXO D – NORMAS DA REVISTA CURRENT CHEMICAL BIOLOGY	93

1 INTRODUÇÃO

Uma alimentação equilibrada nutricionalmente tem sido apontada como um fator de manutenção da saúde e prevenção de doenças, o que têm despertado interesse da comunidade científica em produzir estudos objetivando a comprovação da atuação dos alimentos na prevenção de doenças (PADILHA; PINHEIRO, 2004). No ano de 1991 foi regulamentada uma categoria de alimentos chamada “*Foods for Specified Health Use*” (FOSHU), cuja tradução para o português é “Alimentos Funcionais ou Nutracêuticos” (SANTOS et al., 2006).

Os alimentos funcionais são encontrados praticamente em todas as categorias de alimentos, no entanto esses produtos não estão homogeneamente espalhados por todos os segmentos do mercado. O desenvolvimento e comércio dos alimentos funcionais é bastante complexo, caro e arriscado, uma vez que alegações especiais devem ser comprovados. Além disso, existem obstáculos tecnológicos, aspectos legislativos, e as exigências dos consumidores que precisam ser levadas em consideração no desenvolvimento destes alimentos funcionais. Em particular, a aceitação do consumidor tem sido reconhecida como um fator chave para negociar com sucesso as oportunidades de mercado (SIRÓ et al., 2008).

Nesse contexto de alimentação saudável iogurtes, manteigas, cereais, leites fermentados e outros produtos são uma tendência no mercado alimentício funcional. Isso se deve aos benefícios que esses alimentos trazem à saúde humana, (como por exemplo, às pessoas portadoras de doenças cardiovasculares, alergias e problemas intestinais, entre outros), à preocupação crescente da população pela saúde e bem estar e pela crescente comprovação científica das relações existentes entre dieta e saúde (RAUD, 2008).

Como ingrediente utilizado em formulações de alimentos funcionais destacam-se os chamados prebióticos, que são definidos segundo a RDC 2/02 da ANVISA, como todo ingrediente alimentar não digerível que afeta de maneira benéfica o organismo por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias do cólon. São substâncias que modifica a composição da microbiota colônica de tal forma que as bactérias com potencial de promoção de saúde tornam-se a maioria predominante (CAPRILES; SILVA; FISBERG, 2005).

Além dos prebióticos existem aqueles alimentos com propriedades probióticas, que são micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades e frequência adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2001; ROBERFROID et al., 2010).

Um produto no qual um probiótico e um prebiótico estão combinados é chamado de simbiótico. A interação entre o probiótico e o prebiótico pode ser favorecida *in vivo* pela adaptação prévia do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo, porém a bactéria deve sobreviver no alimento em quantidades suficientes para proporcionar o benefício alegado (MOROTI et al., 2014).

Atualmente muitas pesquisas têm buscado fontes alternativas de ingredientes prebióticos, nesse contexto o presente estudo caracterizou as plantas *Helianthus tuberosus*, *Moringa oleifera* e *Pereskia sp.* apontadas como fontes de diversos compostos bioativos e sua aplicação em iogurte simbiótico.

Desta forma, este trabalho teve os seguintes objetivos:

- Caracterizar físico-quimicamente as seguintes plantas: *Heliantuhs tuberosus* L., *Moringa oleifera* e *Pereskia aculeata* Mill;
- Escolher a planta que se destaca como substrato prebiótico e aplicá-la em iogurtes, produzindo assim iogurtes simbióticos com cultura de *Bifidobacterium animailis* subsp. *B. lactis* (BLC 1) como micro-organismo probiótico;
- Determinar as características físico-químicas e microbiológicas dos iogurtes produzidos;
- Avaliar a aceitabilidade e preferência dos iogurtes simbióticos;
- Acompanhar o *shelf-life* dos iogurtes produzidos;
- Avaliar o potencial simbiótico desses iogurtes através de experimento *in vivo* e avaliações sorológicas de colesterol total, HDL (*hight density lipoprotein*), LDL (*low density lipoprotein*), triglicerídios e glicose e avaliação da microbiota cecal dos animais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nas últimas décadas a exigência dos consumidores em relação à produção de alimentos mudou consideravelmente. Os consumidores cada vez mais acreditam que os alimentos contribuem diretamente para a sua saúde. Os alimentos de hoje não se destinam unicamente a satisfazer a fome e fornecer nutrientes necessários para os seres humanos, mas também para prevenir doenças relacionadas com a nutrição e melhorar a saúde física e bem-estar mental dos consumidores. A procura crescente por tais alimentos pode ser explicada pelo aumento dos custos com os cuidados de saúde, o aumento constante da expectativa de vida, e o desejo das pessoas mais longevas de ter uma melhor qualidade de vida (SIRÓ et al., 2008).

O termo "alimento funcional" em si foi usado pela primeira vez no Japão, em 1980, para os produtos alimentares enriquecidos com componentes especiais que possuem efeitos fisiológicos vantajosos (FDA, 2004). Os alimentos funcionais, podem melhorar as condições gerais do corpo, diminuir o risco de algumas doenças (por exemplo, produtos para reduzir os níveis de colesterol) e poderiam até serem usados como coadjuvante no tratamento de algumas doenças (MARK-HERBERT, 2004; MENRAD, 2003; SIDE, 2006).

De acordo com a ANVISA, o alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais deve, "além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica" (BRASIL, 1999).

Na maioria dos países não existe uma definição legislativa que delimite uma fronteira entre alimentos convencionais e alimentos funcionais, o que é um desafio até mesmo para nutrição e especialistas em alimentos. Até o presente momento, autoridades nacionais e internacionais, órgãos acadêmicos e da indústria têm proposto definições para alimentos funcionais, como por exemplo: "Os alimentos que podem fornecer benefícios de saúde além da nutrição básica" e "Produto alimentício similar na aparência ao alimento convencional que se destina a ser consumida como parte de uma dieta normal, mas foi modificado para favorecer papéis fisiológicos além da prestação de necessidades de nutrientes simples" são bons exemplos para as duas abordagens (BECH-LARSEN; GRUNERT, 2003; NIVA, 2007).

Um alimento funcional pode ser elaborado através do aumento da concentração, adição ou melhoramento da biodisponibilidade de um determinado componente em um produto tradicionalmente consumido, permanecendo este, na mesma categoria (SANGWAN et al., 2011; SIRÓ, 2008).

Segundo Mäkinen-Aakula (2006), os produtos funcionais têm sido desenvolvidos em praticamente todas as categorias de alimentos, como podemos observar na Tabela 1. Deve ser enfatizado, no entanto, que esta é apenas uma das classificações possíveis. De acordo com a classificação alternativa alguns produtos funcionais são (KOTILAINEN, 2006; SPENCE, 2006):

- 1- “Bom para sua vida”: por exemplo, melhorar o estômago, regular as funções do cólon (pré e probióticos) ou “melhorar a vida das crianças”, melhorando a sua capacidade de aprendizagem e comportamento. É difícil, no entanto, encontrar bons biomarcadores para propriedades cognitivas, comportamentais e funções psicológicas.
- 2- Reduzir problema de risco existente: por exemplo, colesterol ou pressão arterial elevados.
- 3- “Facilita a sua vida”: por exemplo, produtos sem glúten e sem lactose.

Tabela 1 – Importantes tipos de alimentos funcionais

Tipo de alimento funcional	Definição	Exemplo
Produtos fortificados	Alimentos fortificados com adição de nutrientes.	Sucos de frutas fortificados com vitamina C.
Produtos enriquecidos	Alimentos com adição de um novo nutriente ou composto não encontrado normalmente no produto.	Margarina com éster esterol, prebióticos e probióticos.
Produtos modificados	Alimentos a partir dos quais um componente deletério é removido, reduzido ou substituído por uma outra substância com efeitos benéficos.	Fibras como substitutos de gordura na carne ou produtos de sorvete
Produtos melhorados	Um alimento em que um dos componentes tenha sido naturalmente reforçado através de circunstâncias de cultivo especial, por uma nova composição na alimentação, manipulação genética ou de outras maneiras.	Ovos com teor aumentado de ômega 3 pela alteração na alimentação de galinhas.

Fonte: Kotilainen et al. (2006); Spence (2006).

2.1 PREBIÓTICOS

Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que afetam de forma benéfica o hospedeiro ao estimular o crescimento e / ou atividade de um ou um número limitado de bactérias no cólon, melhorando assim a saúde do hospedeiro. Entre eles estão os fruto-oligossacarídeos (FOS), inulina, isomalto oligossacáridos (IMO), povidexose, lactulose e amido resistente são considerados como os principais componentes prebióticos. Principalmente oligossacarídeos, tais como oligossacarídeos de soja (SOS), galacto-oligosacidos (GOS) e xilo-oligossacarídeos (XOS) (OUWEHAND, 2007; SIRÓ, 2008).

A diferença entre os ingredientes prebióticos e as demais fibras alimentares é a fermentação seletiva pelo grupo de bactérias colônicas benéficas, em especial lactobacilos e bifidobactérias. Os prebióticos têm sido incorporados com êxito em uma grande variedade de alimentos como pães, iogurtes, barras de cereais, sucos e *shakes* substitutos de refeição (SANGWAN et al., 2011). Estima-se que uma ingestão adequada de prebióticos, para conferir benefícios à saúde do consumidor, oscile entre 5 e 15 g/dia (ROBERFROID, 2002), inferior à ingestão de fibras alimentares totais (25 g/dia) (JACOB; PRAPULLA, 2012). Alegações de funcionalidade em alimentos prebióticos podem ser utilizadas desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3 g do ingrediente prebiótico se o alimento for sólido ou 1,5 g se o alimento for líquido (BRASIL, 2008).

Inulina e oligofrutose, frutanos fermentáveis não digeríveis, estão entre os prebióticos mais estudados (GIBSON, 2004). Além de serem prebióticos, estes compostos têm mostrado aumentar a absorção de cálcio, assim, melhorando tanto o conteúdo mineral ósseo como a densidade mineral óssea. Além disso, influenciam a formação de glicose no sangue e reduzem os níveis de colesterol e ácidos graxos (LOPEZ-MOLINA et al., 2005).

Entre os efeitos atribuídos aos prebióticos estão: a modulação da microbiota gastrointestinal, melhora das funções intestinais (trânsito intestinal, regularidade e consistência das fezes), aumento da absorção de alguns minerais, como o cálcio, por exemplo, regulação/modulação da função imune, modulação da saciedade e redução do risco de infecções intestinais, diabetes tipo 2, obesidade e síndrome do intestino irritado (HOLZAPFEL, 2006; ROBERFROID, 2010).

2.2 PROBIÓTICOS

O termo probiótico é de origem grega e significa “para a vida”. Esse termo foi inicialmente proposto para descrever compostos ou extratos de tecidos biológicos capazes de estimular o crescimento microbiano. Posteriormente, os probióticos foram relacionados a organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal (GOMES; MALCATA, 2009).

Diversas definições de probióticos já foram publicadas. Entretanto, a definição atualmente aceita internacionalmente é a de que micro-organismos vivos, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2001; SANDERS, 2003). Dentre os probióticos mais estudados e amplamente empregados como ingredientes funcionais, destacam-se as bactérias lácticas, particularmente do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (KARIMI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012; ROBERFROID, 2007; WANG, 2009).

De acordo com a Legislação Brasileira, probiótico é definido como um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta de maneira benéfica o organismo, pela melhora no seu balanço microbiano (BRASIL, 2003). Dentre os probióticos mais estudados e amplamente empregados como ingredientes funcionais, destacam-se as bactérias lácticas, particularmente os lactobacilos e as bifidobactérias (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

As exigências que um micro-organismo probiótico deve atender são: resistência ao ambiente ácido estomacal, à bile e às enzimas pancreáticas; adesão às células da mucosa intestinal; capacidade de colonização; produção de substâncias antimicrobianas contra as bactérias patogênicas e ausência de translocação (CAPRILES; SILVA; FISBERG, 2005).

Dentre os benefícios que são atribuídos à saúde do hospedeiro pela ingestão de culturas probióticas, os que mais se destacam são a diminuição da população de patógenos (KOTZAMPASSI; GIAMARELLOS-BOURBOULIS, 2012), a estabilização da microbiota intestinal (SAAD et al., 2013), o aumento da absorção de minerais (NITSCHKE; UMBELINO, 2002), o alívio da constipação (WEICHSELBAUM, 2009), a estimulação do sistema imune (AURELI et al., 2011), a prevenção de infecções urogenitais (ANUKAM et al., 2006), os efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade (COMMANE et al., 2005), a diminuição do risco de doença cardiovascular, a redução dos níveis séricos de colesterol e os efeitos anti-hipertensivos (NAGPAL et al., 2012).

Na produção de um alimento probiótico é fundamental que o micro-organismo possa ser cultivado em escala industrial, sendo que o produto final deve ter vida média satisfatória,

propriedades sensoriais aceitáveis e um número de células viáveis presentes no produto maior do que seis \log_{10} UFC mL⁻¹ ou g⁻¹ durante toda a sua validade (FARIA; BENEDET; GUERROUE, 2006). Segundo a ANVISA (BRASIL, 2008) a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de 10⁸ a 10⁹ unidades formadoras de colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante. Valores menores podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia.

2.3 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS

As Plantas Alimentícias não Convencionais – PANCs, são alimentos que se desenvolvem naturalmente sem a necessidade de insumos e novas áreas para plantio (BRESSAN et al., 2011). No entanto, muitas dessas plantas, embora disponíveis a baixo custo, ainda não são conhecidas e são subutilizadas pela maior parte da população (LUIZZA et al., 2013).

O uso de plantas na alimentação humana ocorre desde os tempos pré-históricos, e além da finalidade alimentícia, são utilizadas para fins medicinais, de construção e combustão (NASCIMENTO et al., 2013). A utilização das plantas para fins alimentícios representa uma alternativa de subsistência para comunidades rurais e podem contribuir com a economia local e regional. A utilização de plantas alimentícias, em especial as PANCs, é parte da cultura, identidade e práticas agrícolas em muitas regiões do planeta (BARREIRA et al., 2015).

2.4 *Helianthus tuberosus* L.

Helianthus tuberosus L. (tupinambor), pertencente à família *Asteraceae*, é uma erva perene originária do leste do Norte América. Foi introduzida e cultivada amplamente em áreas temperadas como tubérculos comestíveis. *H. tuberosus* tem haste alta, folhas grandes, flores amarelas brilhantes que se assemelham as de girassóis, e tubérculos de batata. Como fonte de inulina, os tubérculos têm sido utilizados na medicina popular para o tratamento de diabetes e artrite reumatóide com uma variedade de atividades farmacológicas, como laxante, diurético, espermatogênica, estomacal e tônica (PAN et al., 2009). Além disso, as folhas de *H. tuberosus* têm sido utilizadas como remédio popular para o tratamento de fraturas ósseas, lesões cutâneas, inchaço e dor com propriedades antipirética, analgésica, anti-inflamatória, e efeitos antiespasmódicos (AHMED, 2005; STANGE et al., 2001; YUAN et al., 2012). Além disso, os caules dessa planta são fontes alternativas para a extração de inulina, uma vez que

acumulam altos níveis de frutanos, em vez de amido durante o seu crescimento. Em base seca, os tubérculos contêm 68-83% inulina, 15-16% de proteínas, 13% de fibra insolúvel e 5% de cinzas (BALDINI et al., 2004).

A inulina é um hidrato de carbono presente como reserva nas raízes e tubérculos de plantas como a *H. tuberosus*, chicória, dália, e yacon e é considerado um importante carboidrato prebiótico. A inulina consiste em cadeias lineares de β -2,1-ligadas D-fructofuranos e moléculas terminadas por um resíduo de glucose através de um tipo de ligação de sacarose na extremidade redutora (RAKHIMOV et al., 2011)

Ao longo dos séculos, *H. tuberosus* ganhou grande popularidade como uma cultura cultivada em toda a Europa, tanto para consumo humano ou como alimento para o gado. No entanto, a importância económica desta espécie diminuiu notavelmente nos últimos anos, principalmente devido ao aumento da popularidade de tubérculos alternativos tais como a batata yacon (TESIO; WESTON; FERRERO, 2011). Infelizmente a fácil propagação vegetativa da *H. tuberosus* por meio de tubérculos, resultou que essa espécie se tornasse invasiva em ambientes variados e em alguns locais da Europa é considerada uma planta daninha (TOROK et al., 2003).

Figura 1 – *Helianthus tuberosus* L.



2.5 *Moringa oleifera*

A moringa, planta pertencente à família das *Moringaceae*, é nativa da Índia e amplamente cultivada nos trópicos de todo o mundo (MADRONA, 2009). No Brasil, foi introduzida como planta ornamental por volta de 1950, e, desde então, tem sido difundida devido ao seu alto valor nutricional, principalmente em relação às folhas, que são importantes fontes de vitamina A, C e ferro (BARRETO et al., 2009).

A versatilidade da árvore é notável, possuindo significativa importância econômica na indústria e medicina, pois todas as partes podem ser consumidas de alguma forma pelo homem. Alguns dos usos para a moringa incluem: a produção de biomassa, forragem para animais, agente de limpeza doméstica, fertilizantes, nutriente foliar, goma, biogás, medicina, plantas ornamentais, biopesticida, celulose, tanino para curtir couros, purificação da água, entre outros (FIGLIE et al., 1999).

As folhas são boas fontes de aminoácidos e minerais, como ferro, potássio, cálcio e zinco. As flores apresentam propriedades melíferas sendo, portanto aproveitadas na apicultura (ALVES et al., 2005; BECKER, 2001; NAMBIAR; SESHADRI, 2001).

As sementes são ricas em proteínas (33,9%) e lipídios (37,2%). O óleo extraído das sementes de moringa apresenta alta resistência à oxidação pela presença de elevados teores de ácidos graxos insaturados, sendo o palmítico e o docosanoico, os ácidos graxos saturados dominantes (LALAS et al., 2002; MACHADO et al., 1988). As vagens verdes cozidas e sementes maduras (torradas) podem ser consumidas como verdura além de apresentar leucina livre (CHAWLA et al., 1988; HERDES, 1994).

Diferentes partes da *Moringa oleifera* são relatadas por possuírem várias ações farmacológicas. Nas folhas e frutos são encontradas substâncias que possuem atividade hipocolesterolêmica em ratos e coelhos (GHASI et al., 2000; MEHTA et al., 2003). As folhas assim como as flores, raízes, gomas e frutas são amplamente utilizadas para tratar processos inflamatórios (EZEAMUZLE et al., 1996) e doenças cardiovasculares utilizando ratos como modelo biológico (LIMAYE et al., 1995). O potencial terapêutico contra o câncer, diabetes, artrite reumatóide e outras doenças atribuíram a esta planta o nome de "árvore de maravilha" na Tailândia (RUKUMNUAYKIT, 2004).

Figura 2 – *Moringa oleifera*.



2.6 *Pereskia aculeata* Mill

Pereskia aculeata Mill, popularmente conhecida como ora-pro-nóbis (do latim “rogai por nós”), carne de pobre, carne de negro ou ainda trepadeira-limão, lobrobó, lobrodo, guaiapá, groselha-da-américa, cereja-de-barbados, cipó-santo, mata-velha, espinho-preto, jumbeba, espinho-de-santo-antônio e rosa-madeira. É uma planta da família *Cactacea*, uma das únicas com folhas desenvolvidas. É originária das américas, sendo nativa desde a Flórida até o Brasil (BRASIL, 2010; QUEIROZ, 2011).

A ora-pro-nóbis é uma planta considerada não endêmica, ou seja, não sofreu interferência humana para ser cultivada em determinado local. Ela é usada na alimentação humana e como medicamento. A ora-pro-nóbis (OPN) está presente no comércio e na alimentação como potencial fonte de substâncias bioativas, com folhas tenras, grossas e de alto valor proteico, equiparado ao do caruru, da couve e do espinafre (QUEIROZ, 2011).

A ora-pro-nóbis figura como hortaliça não convencional nos documentos oficiais brasileiros desde 2002 (BRASIL, 2002, 2004a, 2010) e é considerada importante na diversificação da produção agrícola, principalmente familiar, cujo estudo e cultivo devem ser incentivados (ALMEIDA; CORRÊA, 2013; SOUZA, 2009). Por ser rica em nutrientes recomendados para a dieta alimentar diária, como sais minerais, vitaminas e proteínas, pode ser utilizada tanto na forma crua quanto processada (BRASIL, 2010; ROSA et al., 2011). Além disso, é uma planta que produz frutos comestíveis em abundância, dos quais é possível obter sucos, geleias, licores e gelados comestíveis, entre outros produtos (OLIVEIRA et al., 2011; RIBEIRO et al., 2012; SANTOS et al., 2011).

Silva Júnior et al. (2010) consideram-na espécie nutracêutica, com características de alimento funcional com propriedades protetoras e medicinais. Esta hortaliça possui folhas suculentas e comestíveis, podendo ser usada em várias preparações, como farinhas, saladas, refogados, tortas e massas alimentícias como o macarrão (ROCHA et al., 2008).

A exploração comercial da OPN é restrita, sendo encontrada na forma de concentrados proteicos obtidos a partir de suas folhas secas. Ela é cultivada quase que exclusivamente como planta doméstica e por alguns poucos produtores de mudas (MADEIRA; SILVEIRA, 2010; SILVA JÚNIOR et al., 2010).

Figura 3 – *Pereskia aculeata* Mill.



3 MANUSCRITOS

3.1 MANUSCRITO 1 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E MINERAL DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS COMERCIALIZADAS EM PORTO BELO, SANTA CATARINA, BRASIL

Manuscrito submetido em julho de 2017 para Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. Estruturação conforme normas da revista (Anexo A).

Composição centesimal e mineral de plantas alimentícias não convencionais comercializadas em Porto Belo, Santa Catarina, Brasil

RIBEIRO, A.S.^{*1}; UGALDE, M.L.²; STEFANELLO, L.¹; RICHARDS, N.S.S.P.¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Santa Maria-RS, CEP 97105-900. ² Instituto Federal Farroupilha – Campus Júlio de Castilhos, RS 527, São João do Barro Preto, Júlio de Castilhos-RS, CEP 98130-000. *Autor para correspondência: alicecta@gmail.com.

RESUMO: Esse trabalho teve como objetivo determinar a composição centesimal e mineral das plantas alimentícias não convencionais tupinambor (*Helianthus tuberosus*), ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) e moringa (*Moringa oleifera* Lam), comercializadas na forma de farinha no município de Porto Belo – SC. A composição centesimal foi realizada de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists* e a concentração dos minerais Fe, Cu, Zn, P, Ca e Mg por espectrometria de absorção atômica e de K por fotometria de chama. Os resultados médios obtidos foram: umidade (0,88, 0,88 e 0,86 g 100 g⁻¹), cinzas (16,34, 7,75 e 5,07 g 100 g⁻¹), lipídios (3,27, 5,57 e 0,48 g 100 g⁻¹), proteínas (22,41, 24,79 e 6,53 g 100 g⁻¹), carboidratos (1,71, 13,83 e 67,38 g 100 g⁻¹) e fibra alimentar (55,39, 48,21 e

19,68 g 100 g⁻¹). Segundo a Portaria nº 27 da ANVISA de 1998, as farinhas de moringa e ora-pro-nobis têm alto teor de proteína. Os resultados médios obtidos indicam que exceto para ferro, todas as amostras apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação à concentração de minerais. Com exceção da farinha de ora-pro-nobis que obteve maior teor de cálcio, o potássio foi o mineral que obteve maiores concentrações nas farinhas analisadas. Todas as farinhas analisadas apresentaram alto teor de fibra alimentar. Segundo a RDC nº269 de 2005 da ANVISA, as farinhas avaliadas são consideradas fontes de minerais, sendo a farinha de tupinambor fonte de Ca e Mg, a farinha de ora-pro-nobis de P, Ca e Mg e a farinha de moringa de Ca e P. De acordo com a *Dietary Reference Intakes* (DRIs) todas as farinhas avaliadas são fontes de K.

Palavras-chave: *Helianthus tuberosus*, *Pereskia aculeata* Miller, *Moringa oleifera* Lam., Minerais, Bromatologia.

ABSTRACT: This study aimed to determine the proximal and mineral composition of the unconventional food plants tupinambor (*Helianthus tuberosus*), ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) and moringa (*Moringa oleifera* Lam), commercialized as flour in the city of Porto Belo – SC. Proximal composition was determined according to the Association of Official Analytical Chemists and the concentration of minerals Fe, Cu, Zn, P, Ca and Mg by atomic absorption spectrometry and K by flame photometry. The results obtained were: moisture (0.88, 0.88 and 0.86 g 100 g⁻¹), ash (16.34, 7.75 and 5.07 g 100 g⁻¹), lipids (3.27, 5.57 and 0.48 g 100 g⁻¹), protein (22.41, 24.79 and 6.53 g 100 g⁻¹), carbohydrates (57.10, 62.02 and 87.06 g 100 g⁻¹) e food fiber (55.39, 48.21 and 19.68 g 100 g⁻¹). According to ANVISA Ordinance nº27, moringa and ora-pro-nobis flours present high protein content and all evaluated flours

have high food fiber content. The average results obtained indicate that, except for iron, all samples show significant differences ($p < 0.05$) in relation to the minerals concentration and with the exception of ora-pro-nobis flour that obtained higher calcium content, potassium was the mineral that obtained higher concentrations in the evaluated flours. According the RDC n°269 from ANVISA, the evaluated flours can be considered minerals sources; thus tupinambor flour a source of Ca and Mg, ora-pro-nobis flour of P, Ca and Mg and moringa flour of Ca and P. Finally, according to the Dietary Reference Intakes (DRIs), all the evaluated flours are K sources.

Keywords: *Helianthus tuberosus*. *Pereskia aculeata* Miller. *Moringa oleifera* Lam. Minerals. Bromatology.

INTRODUÇÃO

Uma alimentação equilibrada nutricionalmente tem sido apontada como um fator de manutenção da saúde e prevenção de doenças, o que têm despertado interesse da comunidade científica produzindo estudos que objetivam a comprovação da atuação dos alimentos na prevenção de doenças (Padilha & Pinheiro, 2004). No ano de 1991 foi regulamentada uma categoria de alimentos chamada “Foods for Specified Health Use” (FOSHU), cuja tradução para o português é “Alimentos Funcionais ou Nutracêuticos” (Santos et al., 2006).

Vivencia-se um período chamado de transição nutricional, com um aumento na ingestão de alimentos gordurosos, refinados e ricos em açúcares e um baixo consumo de frutas e hortaliças, principalmente as não convencionais. As plantas alimentícias não convencionais (PANCs) são uma alternativa alimentar e uma opção de diversificação cultural na atividade agropecuária, sobretudo na agricultura familiar, para populações rurais e urbanas de baixa renda (Rocha et al., 2008).

O *Helianthus tuberosus*, da família *Asteraceae*, conhecido popularmente no Brasil como tupinambor e mundialmente como alcachofra de Jerusalém é uma planta perene originária do leste da América do Norte. O tupinambor tem haste alta, folhas grandes, flores amarelas brilhantes semelhantes aos girassóis e tubérculos de batata. Como fonte de inulina, os tubérculos têm sido utilizados na medicina popular para o tratamento de diabetes e artrite reumatóide e uma variedade de atividades farmacológicas, tais como laxante, diurético, espermato gênico, estomacal e tônico (Pan et al., 2009).

A *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nobis) é uma planta cactácea classificada como nativa não endêmica. No Brasil, é mais conhecida como ora-pro-nobis, carne-de-pobre e carne-de-negro embora possam ser sinônimas as designações lobrobó, lobrodo, guaiapá, groselha-da-américa, cereja-de-barbados, cipó-santo, mata-velha, trepadeira-limão, espinho-preto, jumbeba, espinho-de-santo-antônio e rosa-madeira, sendo utilizada como alimento humano e também como medicamento fitoterápico popular (Brasil, 2010; Duarte & Hayashi, 2005; Silva Júnior et al., 2010).

A *Moringa oleifera* Lam, da família *Moringaceae* é uma hortaliça perene e arbórea, e seu cultivo se deve à capacidade elevada de adaptação a condições climáticas e a solos áridos, juntamente com a possibilidade de aproveitamento das folhas, frutos verdes, flores e sementes torradas, com quantidades representativas de nutrientes (Ou et al., 2001). A farinha da folha de moringa tem sido utilizada como fonte de alimentação alternativa no combate a desnutrição, especialmente entre crianças e lactantes, e ainda para humanos e animais em curto prazo de profilaxia no desenvolvimento de doença de origem bacteriana através de medicamentos (Anwar et al., 2007).

No Brasil, diversas plantas alimentícias não convencionais – PANCs, são utilizadas para consumo alimentar de muitas famílias, sendo as mesmas consumidas *in natura*, refogadas, em formas de doces, cocadas, dentre outros; porém, ainda são poucos os estudos sobre o uso destas plantas (Bertol et al., 2015).

As PANCs são ricas em minerais(Mendez et al. (2003) ,Franco (2004) e NEA/UNICAMP (2006)). E, em geral, são mais ricas em fibras e compostos com funções antioxidantes (Schmeda-Hirschmann et al., 2005) e muitas são fontes de proteínas superiores às fontes vegetais convencionais (Aletor et al., 2002; Fasuyi, 2006; Fasuyi, 2007). Em relação às proteínas, é sabido que as de origem animal têm maior valor biológico em comparação com as proteínas vegetais. No entanto, populações de baixo poder aquisitivo têm acesso limitado a proteínas de origem animais. Assim, identificar espécies vegetais ricas em proteínas e incentivar o cultivo e consumo destas espécies podem contribuir para diminuir as deficiências nutricionais destas populações e fornecer alternativas nutricionais para a população em geral, especialmente àquelas com hábitos e dietas alimentares diferenciadas.

Desta forma, o objetivo deste trabalho é trazer informações sobre o conteúdo nutricional de plantas alimentícias não convencionais, através da avaliação das farinhas do tubérculo de tупinambor (*Helianthus tuberosus*), e das folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) e moringa (*Moringa oleifera* Lam) pela sua composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos totais e fibra alimentar) e mineral (Fe, Cu, Zn, P, Ca, Mg e K).

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

As farinhas foram adquiridas na cidade de Porto Belo, Santa Catarina – Brasil.

Composição centesimal

O teor de umidade foi avaliado pelo método nº 925.09 (AOAC, 2007). As cinzas foram obtidas por processo gravimétrico, método nº 923.03 (AOAC, 2007), o extrato etéreo conforme metodologia nº 920.85 (AOAC, 2007) e a proteína total, segundo o método nº 984.13^a (AOAC, 2007), sendo o teor proteico calculado multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25. Para a determinação dos teores de fibra alimentar total (FT) e insolúvel (FI) foi realizado método enzimico-gravimétrico nº 991.43 (AOAC, 2007). O conteúdo de fibra solúvel (FS) foi determinado pela diferença entre a fibra total e a fibra insolúvel. Os carboidratos foram determinados por diferença, subtraindo de 100 a soma dos teores obtidos de umidade, proteína, lipídios e cinzas.

Perfil mineral

A composição mineral da farinha foi obtida da seguinte forma: o teor de fósforo (P) determinado por espectrometria a 882 nm, de acordo com Murphy & Riley (1962). Os minerais, ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), foram quantificados por espectrometria de absorção atômica. O potássio (K) foi determinado por fotômetro de chama. Para estes minerais foi adotada a metodologia proposta por Tedesco et al. (1995).

Análise estatística

Os resultados foram expressos através de medidas descritivas (média e desvio padrão) e comparados estatisticamente pela ANOVA não paramétrica (Kruskal-Wallis) e as diferenças significativas pelo Teste de Dunn. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na determinação da composição centesimal das farinhas analisadas estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1 – Composição centesimal de farinhas de ora-pro-nobis, moringa e tupinambor.

Fração (g 100 g ⁻¹)	Ora-pro-nobis	Moringa	Tupinambor	C.V. (%)
Umidade	0,88 ^a ± 0,002	0,88 ^a ± 0,003	0,86 ^a ± 0,001	0,15
Cinzas	16,34 ^a ± 0,03	7,75 ^b ± 0,07	5,07 ^c ± 0,20	1,29
Lipídios	3,27 ^b ± 0,05	4,54 ^a ± 0,14	0,48 ^c ± 0,04	3,14
Proteína	22,41 ^b ± 0,23	24,79 ^a ± 0,67	6,53 ^c ± 0,13	2,32
Carboidratos	1,71 ^c ± 0,22	13,83 ^b ± 0,48	67,38 ^a ± 0,29	0,51
Fibra Alimentar	55,39 ^a ± 0,00	48,21 ^b ± 0,00	19,68 ^c ± 0,00	1,29

*Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$) (Kruskal-Wallis) confirmado pelo teste de Dunn.

As amostras não apresentaram diferença significativa em relação ao teor de umidade ($p > 0,05$). As farinhas de ora-pro-nobis, moringa e tupinambor apresentaram teores de umidade de 0,88 g 100 g⁻¹, 0,88 g 100 g⁻¹ e 0,86 g 100 g⁻¹, respectivamente, e estão de acordo com a RDC nº 263 da ANVISA (Brasil, 2005), que determina que as farinhas devem apresentar umidade máxima de 15 g 100 g⁻¹.

Os teores de cinzas quantificados foram de 16,34 g 100 g⁻¹ para a farinha de ora-pro-nobis, 7,75 g 100 g⁻¹ para a moringa e 5,07 g 100 g⁻¹ para a tupinambor, onde todas apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$). Segundo avaliação comparativa através do método de Dunn, as farinhas de ora-pro-nobis e

tupinambor são as que mais se diferenciam entre si em relação aos teores de cinzas.

Viana et al. (2015), determinaram os teores de cinzas de nove plantas alimentícias não convencionais, dentre elas a ora-pro-nobis que apresentou teor de cinzas de 20,15 g 100 g⁻¹, valor aproximado ao apresentado neste trabalho. Em estudo similar, Moyo (2011) obteve teor de cinzas de 7,64 g 100 g⁻¹ para a farinha de moringa, o que corrobora com o encontrado neste estudo. Em estudos realizados por diferentes pesquisadores (Mullin et al., 1994; Kays & Nottingham, 2008 e Afoakwah, 2015) foram encontrados teores de cinzas entre 5,97 e 6,65 g 100 g⁻¹ na farinha de tupinambor, valores similares ao encontrados neste estudo.

Todas as amostras apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação aos teores de lipídios, os quais foram 3,27, 4,54 e 0,48 g 100 g⁻¹, para as farinhas de ora-pro-nobis, moringa e tupinambor, respectivamente. Através da avaliação comparativa pelo método de Dunn, pode-se afirmar que as farinhas de moringa e tupinambor são as que mais se diferenciam entre si em relação aos teores de lipídios.

Os teores de proteínas das amostras apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), onde a farinha de moringa apresentou um teor de 24,79 g 100 g⁻¹, a farinha de ora-pro-nobis 22,41 g 100 g⁻¹ e a farinha de tupinambor 6,53 g 100 g⁻¹. Através da avaliação comparativa pelo método de Dunn, pode-se afirmar que as farinhas de moringa e tupinambor foram as que apresentaram teores de proteínas diferenciados.

Estudos similares apresentam teores de proteína para farinha de ora-pro-nobis entre 15,91 a 30 g 100 g⁻¹ (Rodrigues et al., 2014; Viana, 2015; Almeida & Corrêa, 2012), teores aproximados ao encontrado neste estudo. Nos mesmos estudos, os autores ao avaliarem o teor de proteína da farinha de moringa obtiveram

valores entre 22,85 a 30,29 g 100 g⁻¹ (Gopalakrishnani et al., 2016; Passos et al., 2012; Pedral et al., 2015; Moyo et al., 2011). O teor de proteína da farinha de tupinambor do presente trabalho foi 6,53 g 100 g⁻¹, teores maiores de proteína foram encontrados nos trabalhos de Mullin et al. (1994), Radovanovic et al., (2014) e Afoakwah et al., (2015) sendo de 11,1, 11,73 e 10,74 g 100 g⁻¹, respectivamente.

De acordo com a Portaria nº 27 da Secretaria de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998), para um alimento ser considerado de alto teor de proteína, o mesmo deve possuir uma composição desta fração acima de 20 g 100 g⁻¹ de sólidos, o que classifica as farinhas de moringa e ora-pro-nobis como alimentos de alto teor de proteína, uma vez que apresentam 24,79 e 22,41 g 100 g⁻¹ dessa fração respectivamente.

Todas as farinhas avaliadas apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para a fração de carboidratos, e através da aplicação do teste comparativo pelo método de Dunn, observa-se que as farinhas de ora-pro-nobis e tupinambor são as que mais se diferenciaram nesse parâmetro.

A farinha que apresentou maior teor em carboidratos foi a farinha de tupinambor com 67,38 g 100 g⁻¹, valor este semelhante ao encontrado no estudo de Radovanovic et al. (2014), cujo valor foi de 72,9 g 100 g⁻¹. A farinha de moringa também apresentou um alto valor em carboidratos com 62,04 g 100 g⁻¹, onde 48,21 g 100 g⁻¹ é representado por fibra alimentar, estudos similares em pesquisas recentes apontam que o teor de carboidrato da farinha de folhas de moringa pode variar de 30% a 60% (Gopalakrishnani et al., 2016; Passos et al., 2012; Pedral et al., 2015). Almeida & Corrêa (2012) e Rodrigues et al. (2014) encontraram teor de carboidrato da farinha de ora-pro-nobis variando de 20 a 50 g 100 g⁻¹, sendo estes

teores próximos ao encontrado neste estudo (57,10 g 100 g⁻¹, sendo que 55,39 g 100 g⁻¹ é composto por fibra alimentar).

Em relação aos teores de fibra alimentar todas as amostras apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), onde através da aplicação do método de Dunn pode-se observar que as amostras que mais diferiram entre si foram as farinhas de ora-pro-nobis e de tupinambor. A farinha de ora-pro-nobis apresenta um maior teor em fibras que as demais com 55,39 g 100 g⁻¹. Estudos realizados por diferentes autores sugerem que este valor pode variar de acordo com as partes da planta a serem utilizadas, porém se encontram numa faixa entre 20 a 60 g 100 g⁻¹ (Rodrigues, 2014; Gonçalves et al., 2014; Viana et al., 2015; Almeida & Corrêa, 2012). O teor de fibra alimentar da farinha de moringa encontrado nesta pesquisa foi de 48,21 g 100 g⁻¹, sendo que este teor varia de acordo com as partes da planta a serem utilizadas, porém se encontram numa faixa entre 10 a 50 g 100 g⁻¹ (Pedral et al., 2015; Moyo et al., 2011). A farinha de tupinambor apresentou teor de fibra alimentar inferior ao das demais farinhas, sendo de 19,68 g 100 g⁻¹.

De acordo com a Portaria nº 27 da Secretaria de Vigilância Sanitária (Brasil, 1998), para um alimento ser considerado de alto teor em fibras, o mesmo deve conter 6 g 100 g⁻¹ de sólido, o que caracteriza a farinha de ora-pro-nobis, moringa e tupinambor com alto teor em fibras.

O perfil mineral das amostras de farinhas pesquisadas está descrito na Tabela 2. Os resultados médios obtidos indicam que exceto para ferro, todas as amostras apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação à concentração de minerais.

TABELA 2 – Concentrações médias (mg g⁻¹) e desvios padrões para Fe, Cu, Zn, P, K, Ca e Mg nas amostras de farinhas de ora-pro-nobis, moringa e tupinambor.

Mineral (mg g ⁻¹)	Ora-pro-nobis	Moringa	Tupinambor	C.V. (%)
Ferro (Fe)	0,214 ^{a*} ± 1,08	0,23 ^a ± 2,88	0,235 ^a ± 2,57	9,86
Cobre (Cu)	0,14 ^a ± 0,21	0,008 ^c ± 0,30	0,013 ^b ± 0,21	2,04
Zinco (Zn)	0,53 ^a ± 1,23	0,39 ^b ± 4,99	0,030 ^c ± 1,16	7,37
Fósforo (P)	0,95 ^b ± 1,11	1,27 ^a ± 0,92	1,24 ^a ± 2,13	7,30
Potássio (K)	14,95 ^a ± 2,47	9,25 ^b ± 1,13	9,7 ^b ± 7,54	14,44
Cálcio (Ca)	18,64 ^a ± 1,20	8,30 ^b ± 5,11	0,814 ^c ± 1,16	8,18
Magnésio (Mg)	1,56 ^b ± 2,54	2,59 ^a ± 3,89	0,859 ^c ± 4,86	4,25

*Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ao nível de 5% (p<0,05) (Kruskal-Wallis) confirmado pelo teste de Dunn.

Entre os minerais pesquisados, com exceção da farinha de ora-pro-nobis que obteve maior teor de cálcio, o potássio foi o que obteve maiores concentrações nas farinhas analisadas. Fato este também observado na maior parte dos trabalhos da literatura referentes à análise de minerais de plantas alternativas com fins medicinais/alimentícios, uma vez que é o mineral mais abundante em vegetais (Pedro et al., 2016 e Silveira et al., 2009).

A heterogeneidade observada no perfil mineral das farinhas avaliadas, da mesma forma que na composição centesimal pode estar associada à origem, aos tipos de planta, às estruturas vegetais analisadas, bem como aos tipos de solo e cultivo, uso de fertilizantes e agroquímicos (Bertol et al., 2015).

De acordo com a Portaria nº 27 da Secretaria de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998), um alimento pode ser considerado fonte de determinado nutriente, quando contém no mínimo 15% da ingestão diária recomendada (IDR) por 100 g sólidos. As recomendações da RDC nº 269 da ANVISA (Brasil, 2005) para os minerais P, Ca, Mg e Mn são 700, 1000, 260 e 2,3 mg. Já segundo a USDA – *United States*

Department of Agriculture, as recomendações de ingestão para os mesmos minerais são de 1000, 1000, 400 e 2 mg, para o P, Ca, Mg e Mn (USDA, 2001).

Seguindo essas orientações, os minerais P, Ca e Mg contribuem com 20, 279 e 90 g 100 g⁻¹ respectivamente da IDR, dessa forma, a farinha de ora-pro-nobis pode ser considerada fonte desses minerais, da mesma forma, a farinha de moringa contribui com a ingestão de 80 e 26 g 100 g⁻¹ de cálcio e fósforo respectivamente, sendo considerada fonte desses minerais. A farinha de tупinambor apresenta 70 g 100 g⁻¹ (P), 81 g 100 g⁻¹ (Ca), e 40 g 100 g⁻¹ (Mg) da IDR, dessa forma, a farinha de tупinambor também pode ser considerada fonte desses minerais.

A RDC 269 (Brasil, 2005) não apresenta valores de ingestão diária para o potássio, contudo, a Biblioteca Agrícola Nacional do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos recomenda através da *Dietary Reference Intakes* (DRIs), uma ingestão de 4,7 mg/dia desse mineral. Sendo assim, as farinhas analisadas podem ser consideradas fontes desse mineral, onde a farinha de ora-pro-nobis contribui com 47 g 100 g⁻¹ da ingestão diária recomendada por 100 g, a farinha de moringa contribui com 93 g 100 g⁻¹ e a farinha de tупinambor contribui com 97 g 100 g⁻¹ da ingestão diária recomendada por 100 g (USDA, 2001).

CONCLUSÃO

Plantas alimentícias não convencionais apresentam grande potencial para consumo e sua utilização vem sendo cada vez mais discutida na sociedade atual. O estudo evidencia que as farinhas de ora-pro-nóbis, moringa e tупinambor avaliadas são fonte de fibras com 55,39, 48,21 e 19,68% respectivamente, as farinhas de ora-pro-nóbis e moringa são fontes de proteínas com 22,41 e 24,79% respectivaente e as farinhas de tупinambor e ora-pro-nóbis são fontes de P, Ca, Mg e K e a farinha

de moringa é fonte de Ca, P e K. Além disso, são fonte potencial de importantes minerais, trazendo não somente o benefício nutricional como também o aspecto agroecológico, podendo através dos dados obtidos neste trabalho, utilizar esses vegetais como fonte alternativa de alimentação.

REFERÊNCIAS

AFOAKWAH, N.A.; DONG, Y.; ZHAO, Y.; XIONG, Z.; OWUSU, J.; WANG, Y.; ZHANG, J. Characterization of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) powder and its application in emulsion-type sausage. **FWT – Food Science and Technology**, v.64, p.74-81, 2015.

ALETOR, V. A. et al. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. **Food Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 63-68, 2002.

ALMEIDA, M. E. F.; CORRÊA, A. D. Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 751-756, 2012.

ANWAR, F.; SAJID, L.; MUHAMMAD, A.; ANWARUL, H.G. *Moringa oleifera* : A Food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v. 21, p.17- 25. 2007.

AOAC. **Association Of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC**. 18 th ed., 2005. Current though revision 2, 2007.

BERTOL, A. et al. Determinação de minerais em algumas plantas medicinais utilizadas em Xanxerê oeste catarinense. **Unoesc & Ciência**, v.6, n.1, p.53-58, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes)**, constantes do anexo desta Portaria. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos**. Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos**. Resolução nº 263, de 22 de setembro de 2005.

CHAROENSIN, S. Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. **Journal of Medicinal Plant Research**. v.8, n.7, p. 318 – 325, 2014.

DUARTE, M. R.; HAYASHI, S. S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacologia**, João Pessoa, v. 15, n. 4, p. 103-109, 2005.

FASUYI, A. O. Nutritional potentials of some tropical vegetable leaf meals: Chemical characterization and functional properties. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 49-53, 2006.

FASUYI, A. O. Bio-nutritional evaluations of three tropical leaf vegetables (*Telfairia occidentalis*, *Amaranthus cruentus* and *Talinum triangulare*) a sole dietary protein sources in rat assay. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 757-765, 2007.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9 ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 307 p.

GOPALAKRISHNANI, L.; DORIYA, K.; KUMAR, D.S. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**. v. 5, p. 49 – 56, 2016.

GONÇALVES, J.P.Z.; SERAGLIO, J.; SILVA, L.L.; FERNANDES, S.C.; COSTELLI1, M.C.; SAVIO, J. Quantificação de proteínas e análise de cinzas encontradas nas folhas e caule da ora-pronóbis (*Pereskia aculeata* Miller) **XX Congresso de engenharia química**. Florianópolis – SC, 2014.

KAYS, S.J. & NOTTINGHAM, S.F. Biology and chemistry of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), **CRC Press**, Florida, 2008.

MENDEZ, M. H. M. et al. **Tabela de composição de alimentos**. Niterói: Ed. UFF, 2003. 41 p.

MOYO, B.; MASIKA, P.J.; HUGO, A.; MUCHENJE, V. Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **African Journal of Biotechnology**. n. 10, p. 12925-12933, 2011.

MULLIN, W.J.; MODLER, H.W.; FARWORTH, E.R.; PAYNE, A. The macronutrient content of fractions from Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus*). **Food Chem.** v. 51, n. 31, p. 263 – 269, 1994.

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Anal Chim Acta**, Oxford, v.27, p.31-36, 1962.

NEPA/UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO. Versão 2. 2006.

PADILHA, P.C.; PINHEIRO, R.L. O papel dos alimentos funcionais na prevenção e controle de câncer de mama. **Revista Brasileira de Carcinologia**, Rio de Janeiro, v.3, nº 50, p. 251 – 260, 2004.

PAN, L.; SINDEN, M. R.; KENNEDY, A. H. “Bioactive constituents of *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke),” **Phytochemistry Letters**, vol.2, no.1, pp.15–18, 2009.

PASSOS, R. M.; SANTOS, D. M. C.; SANTOS, B. S.; SOUZA, D. C. L.; SANTOS, J. A. B.; SILVA, G. F. Qualidade pós-colheita da moringa (*Moringa oleifera* Lam) utilizada na forma in natura e seca. **Revista Geintec**. v.3, n.1, p. 113-120, 2012.

PEDRAL, A.L.; BARBOS, J.S.; SANTOS, G.R.; XAVIER, A.C.R.; ARIMATÉA, C.C.; FONTES, A.S.; SILVA, G. F.; BARRETO, L.C.O. Caracterização físico-química de folhas da *Moringa oleífera* desidratadas por secagem convectiva e liofilização, **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.1, p.33-39, 2015.

PEDRO, F.G.G.; ARRUDA, G.L; OLIVEIRA, J.C; SANTOS, A.D.; SIGARIN, K.S.; HERNANDES, T.; VILLA, R.D.; OLIVEIRA, A.P. Composição centesimal e mineral de plantas medicinais comercializadas no Mercado do Porto de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 18, n.1, supl. I, p. 297-306, 2016.

RADOVANOVIC, A., STOJCESKA, V., PLUNKETT, A., JANKOVIC, S., MILOVANOVIC, D., CUPARA, S., The use of dry Jerusalem artichoke as a functional nutrient in developing extruded food with low glycaemic index, **Food Chemistry**, 2014.

ROCHA, D. R. C.; PEREIRA-JÚNIOR, G. A.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANATOS, A. S.; PINTO, N. A. V. D. Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 459-465, 2008.

RODRIGUES, S.; MARINELLI, P.S.; OITOBONI, A. M. M. B.; TANAKA, A. Y.; OLIVEIRA, A. S. Caracterização química e nutricional da farinha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill). **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v.01, p. 15-25, 2014.

SANTOS, E.F. et al. Alimentos funcionais. **Revista de Pesquisas Biológicas da UNIFEV**, São Paulo, nº 1, p. 13 – 19, 2006.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. et al. Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentina Yungas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 8, p. 1357-1364, ²⁰⁰⁵.

SILVA JÚNIOR, A. A. et al. Pão de ora-pro-nóbis: um novo conceito de alimentação funcional. **Agropecuária Catarinense**, Santa Catarina, v. 23, n. 1, p. 35-37, 2010.

SILVEIRA, L.M.S. et al. Extração de Minerais em Planta de uso medicinal através da Infusão e Digestão por Microondas, **Revista Brasileira de Farmácia**, v.90, v.2, p. 144 - 147, 2009.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, 1995.

USDA – United States Department of Agriculture. **Agricultural research service - Nutrient Database for Standard Reference**, 2001.

VIANA, M.M.S.; CARLOS, L.A.; SILVA, E.C.; PEREIRA, S.M.F.; OLIVEIRA, D.B.; ASSIS, M.L.V. Composição fitoquímica e potencial antioxidante em hortaliças não convencionais. **Horticultura Brasileira**. v.33, p.504-509, 2015.

3.2 MANUSCRITO 2 – DEVELOPMENT OF SYMBIOTIC YOGURT AND BIOLOGICAL EVALUATION (NEW ZEALAND WHITE RABBITS) OF ITS FUNCTIONAL PROPERTIES.

Manuscrito submetido à revista Food Science and Technology, enviado em 13 de junho de 2018 e aceito em 19 de novembro de 2018.

Estruturação conforme normas da revista (Anexo B).

Relevance of the theme: Functional foods have been increasingly studied and used in diets worldwide. Among the functional foods, we find the prebiotics, probiotics and symbiotics, which are widely studied by the scientific community. In this work, we studied a potential prebiotic ingredient, the *Helianthus tuberosus L.* plant, and evaluated its technological aspects as well as the benefits as a functional food in vivo study. The relevance of the present work is to prove the prebiotic/functional potentiality of this tuber.

DEVELOPMENT OF SYMBIOTIC YOGURT AND BIOLOGICAL EVALUATION (NEW ZEALAND WHITE RABBITS) OF ITS FUNCTIONAL PROPERTIES.

ABSTRACT: Functional foods are those that bring benefits to human health beyond nutrition such as the prevention of cardiovascular diseases, allergies and intestinal problems. Among the functional foods highly consumed worldwide, yogurt is highlighted, especially in the probiotic and symbiotic versions. The aim of this study was to use the Jerusalem artichoke tuber flour (*Helianthus tuberosus L.*) as a new prebiotic source for the development of functional yogurt. The identification and quantification of the fructans of the Jerusalem artichoke flour was performed and later yoghurt formulations were elaborated. These yogurts were submitted to analyses of centesimal composition, shelf life and sensorial evaluation. For

the biological evaluation, a symbiotic yogurt formulation was chosen and included in the feed of New Zealand white rabbits, in the growth and final phase. The *in vivo* experiment had three distinct groups (control group, probiotic group and symbiotic group). At the end of 50 days of experiment, the animals were euthanized and submitted to the serological and cecal microbiota evaluation. Through this study, the prebiotic/bifidogenic capacity of Jerusalem artichoke flour was evidenced.

Practical application: New prebiotic/ functional ingredient alternative for application in fermented dairy products.

Keywords: Functional foods; biological evaluation; *Helianthus tuberosus* L.; symbiotic yogurt.

1. Introduction

Since 1991, there has been food regulation called "Foods for Specified Health Use" (FOSHU). In this context, it is possible to observe a growing consumer demand for food that offers health benefits, such as disease prevention and, consequently, an improvement in their quality of life (Santos et al., 2006).

In order to meet this food profile, the food industry, science and technology have advanced in the use of functional ingredients (Pinto & Paiva, 2010). Functional foods are found virtually in all food categories, however products are not homogeneously scattered over all segments of the market. The development and commerce of these products is rather complex, expensive and risky, as special requirements should be answered. Besides potential technological obstacles, legislative aspects, as well as consumer demands need to be taken into consideration when developing functional food. In particular, consumer acceptance has been recognized as a key factor to successfully negotiate market opportunities (Siró et al., 2008).

Yogurts, cereals, fermented milk and other functional products are trend in this niche market. This is due to the benefits these foods bring to human health. For instance, aid in curing or prevention of diseases such as those affecting the cardiovascular system, certain types of allergies and intestinal problems, as well as the growing concern with health and well-being, and the growing scientific evidence of the relationships existing between diet and health (Raud, 2008).

Moreover, as an ingredient used in functional food formulations, the so-called prebiotics stand out. They are defined as nondigestible food ingredients that beneficially affect the organism by selectively stimulating the growth and/or activity of bacteria in the colon. This is a substance that modifies the composition of the colonic microbiota in such a way that the bacteria with health promotion potential become the predominant majority (Capriles; Silva; Fisberg, 2005).

Prebiotics promote the survival or persistence of probiotic strains, enhance defense mechanisms of the host, increase resistance to various health disorders, and modify human gastrointestinal tract troubles (Singh, 2010; Bañuelos, 2008; Mountzouris et al., 2006).

On the other hand, probiotics are live microorganisms which when administered in adequate amounts and frequency confer a health benefit on the host (FAO, 2001; Roberfroid et al., 2010). The beneficial influence of probiotics on the human intestinal microbiota includes factors such as antagonistic effects, competition and immunological effects, resulting in increased resistance against pathogens (Uyeda et al., 2016).

A product in which a probiotic and a prebiotic are combined is called symbiotic. Interaction between the probiotic and the prebiotic *in vivo* might be favored by an adaptation of the probiotic to the prebiotic substrate prior to consumption, but the bacteria should be able to survive in the food (Moroti et al., 2014).

Among probiotic and symbiotic functional foods, dairy products, especially fermented milks, are market leaders and are considered research priorities in many countries. The growing appreciation of functional foods around the world is promoting innovations in food products and stimulating the consumption of foods with nutritional and therapeutic value (Kumar et al., 2015).

Helianthus tuberosus L. (*Asteraceae*), popularly known in Brazil as *tupinambor* and worldwide as Jerusalem artichoke, is a perennial herb originating from eastern North America. It was introduced and extensively cultivated in temperate areas for edible tubers. *Helianthus Tuberosus* L. has high stem, large leaves, bright yellow flowers similar to sunflowers and potato tubers. As a source of inulin, tubers have been used as a popular medicine for the treatment of diabetes and rheumatism as well as for a variety of pharmacological activities such as laxative, diuretic, spermatogenic, stomach and tonic (Pan et al., 2009).

The Jerusalem artichoke accumulates similar levels of fructan to the roots of chicory (16-20%) and is one of the most interesting plants for the industrial production of inulin, since it is possible to cultivate it at low cost, with low application of fertilizers in any type of soil and conditions cold weather (Franck, 2000). The fructans, considered prebiotics, are able to resist the hydrolysis of digestive enzymes in the part of the human gastrointestinal tract and, therefore, they have a low caloric value for humans (1.5 kcal g^{-1}) and perform similar functions to dietary fiber (Genta et al., 2009).

The fructans are the main storage carbohydrate of *H. tuberosus* L., representing between 70 and 80% of the dry matter of the tubers, which ranges from 18 to 25% (Losavio et al., 1997). This species is considered as one of the most important candidates for use as a raw material for the industrial production of biological fructose and inulin (Baldini et al., 2004; Kays & Kultur, 2005).

Fructans of the inulin type (fructooligosaccharides, oligofructose and inulin) are considered prebiotics, composed of β -linked fructosyl units (2-1) with or without terminal D-glucose at the reducing end. They have different degrees of polymerization (DP) and can originate naturally as native components in many plants or derive by biochemical/enzymatic techniques (Bañuelos, 2008; Genta, 2009).

In view of the above, the aim of this work was to elaborate symbiotic yogurt, using as a prebiotic ingredient the tuber of “Tupinambor” (*Helianthus tuberosus* L.), and as probiotic the culture of *Bifidobacterium lactis* HN019. Furthermore, this study also identifies and quantifies the fructans in the prebiotic flour, characterises physicochemically, perform the shelf-life of the yogurt and analyse the sensory acceptance and then evaluate its symbiotic efficiency by means of biological assay in vivo.

2. Materials and Methods

2.1 Obtaining Jerusalem artichoke flour

The Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) was commercially purchased in the form of flour.

2.2 Identification and quantification of fructans in Jerusalem artichoke flour

The chromatographic profile of sugars was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) in a VARIAN chromatograph model Pro Satr 410. The following chromatographic conditions were used: chromatographic column Bio Rad no. 125-0128; column Bio Rad AMINEX HPX-87P (300 x 7.8 mm); column temperature at 80 °C; refractive index detector (RID); eluent deionized water purified on ion-exchange column, filtered on a 0.22 μ m pore polyethylene filter and then degassed in an ultrasonic bath; volume of the injected sample 20 μ L. The samples were filtered through a membrane filter (Durapore)

in PVDF, with 0.22 μm pore and 13 mm diameter. The results were compared to Sigma standards, analysed under the same conditions described above. The determination of the sugar concentration was calculated in relation to standard solutions at 1%.

2.3 Production of yogurts

The raw material used for the preparation of the yogurts was ultra high temperature (U.H.T.) whole milk, the lyophilized commercial starter cultures were: *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (traditional culture) and the probiotic culture was *Bifidobacterium lactis* HN019, both from Danisco®.

A completely randomized experimental design with factorial 2^2 was used to evaluate the effect of the different components used to prepare the yogurts on the characteristics of the same, with two independent variables and a control treatment, totaling five treatments and three replicates. The independent variables were the amount of sugar and Jerusalem artichoke flour.

2.4 Centesimal composition and shelf life

The determination of the centesimal composition (moisture, ashes, lipids, protein, carbohydrates and dietary fiber) of yogurts was performed according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005) and Adolfo Lutz Institute (IAL, 2005). The total dietary fiber and its soluble and insoluble fractions were determined by the enzymatic-gravimetric method 991.43 (AOAC, 2005). For the evaluation of shelf life of the yogurts, the microbial count of bifidobacteria in the modified MRS culture medium was performed with the addition of 0.2% (m/v) lithium and 0.3% (m/v) dicloxacillin, besides monitoring the titratable acidity and pH. Serial dilutions of the samples were performed, plating in triplicate

in depth, using 0.1 mL aliquots. The plates were incubated in anaerobiosis at 37 °C for 72 hours (Vinderola; Reinheimer, 2000).

2.5 Sensory analysis

A total number of 76 untrained judges, consisting of yogurt consumers, of both genders and aged between 18 and 50, participated in the study. The analyses were performed in a sensory analysis laboratory, in individual booths and with white lighting. Acceptance testing was applied through a structured hedonic scale of nine points, (1- I greatly disliked to 9- I greatly liked), as described by Lawless and Heymann (2010). A preference testing by ordering from the most preferred to the least preferred, as suggested by Dutcosky (2011), was also performed.

The untrained judges received a portion of each sample (approximately 20 mL) in white plastic cups encoded with three-digit numbers, in a balanced and randomized manner, accompanied by a glass of water to make the blank between samples.

The project was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Santa Maria (UFSM), under the Certificate of Presentation for Ethical Appreciation (CAAE) - 56769116.9.0000.5346.

2.6 *In vivo* experiment

A number of 40 New Zealand white rabbits with initial age of 35 days and weighing on average 917g were used. The rabbits were housed in individual cages with semi-automatic feeder and automatic nipple drinking fountain. From 35 to 40 days of age, the animals went through the adaptation period. The rabbits were obtained through the Laboratory of Teaching, Research, Extension and Production (LEPEP) – Cuniculture of the Federal Institute

Farroupilha - Júlio de Castilhos. The experiment was conducted with the approval of the Committee on Ethics in the Use of Animals under protocol number 9412161017.

Subsequently, the animals were distributed in a completely randomized experimental design with three treatments of 10 replicates each, for a total of 30 experimental units. The treatments were composed by different experimental groups: control group (CG) - commercial feed only, probiotic group (PG) - commercial feed + probiotic yogurt and symbiotic group (SG) - commercial feed + symbiotic yogurt. The yogurts were given to the animals through gavage, and 10 mL were administered per animal per day.

At the end of the 50-day experiment, the animals were euthanized through cranial concussion followed by exsanguination, where blood collection was performed for centrifugation and separation of serum and blood plasma for serological analysis and the collection of cecal material for microbiological evaluation.

Furthermore, serological analysis of total cholesterol, HDL cholesterol (High Density Lipoproteins), LDL cholesterol (Low Density Lipoproteins), triacylglycerols, and glucose were determined using colorimetric enzyme kits and the reading was performed in a spectrophotometer. On the other hand, for the microbiological determination of the cecal content, 1.0g of the intestinal content was weighed and transferred aseptically with a sterile spatula into a test tube containing 9.0 mL of diluent. Then, the necessary, decimal dilutions were performed for the plating in depth using MRS agar medium plus lithium chloride and dicloxacillin, according to the methodology proposed by Castele et al. (2006).

2.7 Statistical Analysis

The data will be submitted to the univariate analysis of variance and its averages compared by the Tukey test at 5% of significance, using Statistica software version 9.1 (Statsoft, Inc., Tulsa - OK, USA).

3. Results and Discussion

3.1 Identification and quantification of fructans in the *Helianthus tuberosus* L. flour

Table 1. Identification and quantification of fructans in the *Helianthus tuberosus* L. flour.

Components	Results (g 100 g ⁻¹)
Fructose	0,67±0,01
Glucose	1,66±0,01
Sucrose	9,24±0,01
Fructooligosaccharide	0,38±0,01
Inulin	44,44±0,01

* Values are the mean of the triplicate, followed \pm standard deviation.

According to the fructan chromatographic profile of the *Helianthus tuberosus* L. flour (Table 1), it can be observed that it has a considerable content of inulin (44.44%), when compared to the yacon potato, for instance, which has in general terms from 60 to 70% of inulin and fructooligosaccharides (Vilhena et al., 2000). Inulin is a fructooligosaccharide which, unlike most others, is not digested in the stomach. Its caloric contribution is rather small: about 1.5 kilocalories per gram, against 4 kcal/g of sugar and 9 kcal/g of fat (Rensis, 2008).

According to Hua et al. (2007), the values of inulin found in the tubers of *Helianthus tuberosus* can often exceed 50% of their composition, reaching values of 50,20% and 78,16 as

already presented by other authors (Tiendtan et al., 2015; Afoakwah et al., 2015). Inulin values may vary according to plant variety. Petkova et al. (2014) found values between 40.5 and 68.7% of inulin for different varieties of Jerusalem artichoke.

3.2 Centesimal composition and shelf life

Table 2 shows the values of the centesimal composition and dietary fiber of the standard yoghurt and the different symbiotic yogurt formulations.

Table 2. Centesimal composition of symbiotic yogurt formulations.

Fraction(g/100g)	Standard	F1	F2	F3	F4	V.C. (%)
Moisture	85,03 ^{a*} ± 0,00	84,56 ^a ± 0,03	82,66 ^c ± 0,00	82,36 ^c ± 0,11	83,03 ^b ± 0,04	1,80
Ashes	0,74 ^{ab} ± 0,45	0,73 ^{ab} ± 0,02	0,72 ^b ± 0,05	0,76 ^{ab} ± 0,03	0,77 ^a ± 0,04	2,63
Lipids	3,09 ^a ± 1,57	3,19 ^a ± 1,59	3,16 ^a ± 0,10	3,48 ^a ± 0,21	3,44 ^a ± 0,08	1,32
Protein	2,96 ^c ± 0,26	3,45 ^b ± 0,04	3,59 ^{ab} ± 0,19	4,15 ^a ± 0,27	4,10 ^a ± 0,19	5,78
Carbohydrates	8,81 ^a ± 0,00	8,23 ^b ± 0,00	8,36 ^b ± 0,00	9,11 ^a ± 0,00	9,39 ^a ± 0,00	1,51
Dietary fiber	1,93 ^a ± 0,00	1,81 ^b ± 0,00	1,83 ^b ± 0,00	2,00 ^a ± 0,00	2,06 ^a ± 0,00	1,51

*Different letters in the same line present significant difference at the level of 5% ($p < 0.05$).

Reading: Standard (probiotic yogurt – 1% probiotic culture), F1 (simbiotic yogurt 5% tupinambor flour/ 10% sugar), F2 (simbiotic yogurt 5% tupinambor flour / 8% sugar), F3 (simbiotic yogurt 7% tupinambor flour / 8% sugar) e F4 (simbiotic yogurt 7% tupinambor flour / 10% sugar).

The moisture, ash, lipids, protein, carbohydrate and dietary fiber contents presented little difference between the formulations, since the variation of sugar and flour ingredients of Jerusalem artichoke had little influence on the bromatological composition of the formulations. The similar contents of ashes, proteins and lipids of the formulations can be

explained because sugar and inulin (Jerusalem artichoke flour) are exempt of these nutrients in their physicochemical composition (TACO, 2011), without altering the nutritional status of the products. Santos et al. (2014) found similar data by adding inulin in yogurt formulations. All yogurt formulations meet Brazilian legislation in force (BRASIL, 2000) and according to resolution GMC 47/97 yogurts are classified as whole given its fat content (BRASIL, 1997).

Moreover, in relation to functional properties, it is possible to emphasise the dietary fiber fraction, in which dietary recommendations for daily fiber consumption are 20-40 g per day (World Health Organization, 1998). The Brazil National Health Surveillance Agency (ANVISA) recommends that the product registered in the category of functional foods and/or health must present the claim according to the list of approved claims. Food fiber source should contain in the portion of the product ready for consumption a minimum of 3g of fiber if the food is solid and 1.5g if it is liquid (BRASIL, 2002). Therefore, the Jerusalem artichoke flour may have the functional claim (fiber source), when added to the food products, provided it is in accordance with its respective portion established by the RDC no. 359 of ANVISA (BRASIL, 2003).

The stability of the yogurts during their refrigeration storage was evaluated by the parameters of pH, acidity and microbial counts for 30 days (Tables 3 and 4), where measurements were performed every 15 days.

Table 3. pH and titratable acidity values of the yogurt formulations during storage.

Product	pH			Titratable acidity		
	Day 01	Day 15	Day 30	Day 01	Day 15	Day 30
P	4,93 ^a ±0,01	4,85 ^b ±0,00	4,78 ^a ±0,00	0,6 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00
F1	4,92 ^a ±0,01	4,87 ^{ab} ±0,00	4,78 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00
F2	4,93 ^a ±0,01	4,87 ^{ab} ±0,01	4,77 ^a ±0,01	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00
F3	4,94 ^a ±0,01	4,87 ^{ab} ±0,01	4,77 ^a ±0,01	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00
F4	4,92 ^a ±0,01	4,87 ^a ±0,01	4,77 ^a ±0,01	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00	0,7 ^a ±0,00

*Same letters in the column indicate that there was no significant difference at the level of 5% ($p < 0.05$) by the Tukey test among the yogurts evaluated.

The average initial pH of the yogurts was 4.93 but by the end of the 30 days of storage, it dropped to 4.77. The pH reduction during storage can be explained by the lactose consumption by the lactic bacteria present in yogurts. Moreover, it is also possible to affirm that the Jerusalem artichoke flour had no influence on this parameter. On the other hand, acidity had stable values throughout the storage period.

When evaluating the results of Table 4, it can be observed that the yoghurts presented counts of lactic bacteria and bifidobacteria compatible with the Technical Regulation of Identity and Quality of Fermented Milks during the storage period. The regulation recommends the total lactic acid bacteria count of 10^7 colony forming units per gram (CFU/g) of the product and 10^6 CFU/g for bifidobacteria (BRASIL, 2007).

Table 4. Microbial counts values measured on days 1, 15 and 30 of storage at 5°C.

Counts (Log CFU/g)*				
Product	Determinations	Day 1	Day 15	Day 30
S	Lactic acid bacteria	9,15	8,20	6,51
	Bifidobacteria	8,0	7,93	6,06
F1	Lactic acid bacteria	9,53	8,32	7,53
	Bifidobacteria	9,20	9,00	8,06
F2	Lactic acid bacteria	9,52	9,10	7,08
	Bifidobacteria	8,83	8,00	7,00
F3	Lactic acid bacteria	9,20	8,83	7,52
	Bifidobacteria	9,0	8,16	8,03
F4	Lactic acid bacteria	9,22	9,05	7,07
	Bifidobacteria	9,50	8,86	8,23

*CFU/g – Colony Forming Unit per gram of product.

Reading: Standard (probiotic yogurt – 1% probiotic culture), F1 (simbiotic yogurt 5% tupinambor flour/ 10% sugar), F2 (simbiotic yogurt 5% tupinambor flour / 8% sugar), F3 (simbiotic yogurt 7% tupinambor flour / 8% sugar) e F4 (simbiotic yogurt 7% tupinambor flour / 10% sugar).

In the case of functional foods, the minimum viable quantity for probiotics should be in the range of 10^8 to 10^9 CFU/g in the daily recommendation of the product ready for

consumption. This corresponds to the consumption of 100g of a product containing 10^6 to 10^7 CFU/g, i.e. from 6 to 7 log CFU/g. This result is also in accordance with the amount recommended by several authors so that the probiotic microorganisms produce the desired physiological effect (Jelen & Lutz, 1998).

According to the results, the prebiotic effect of the Jerusalem artichoke flour is evidenced, where at the end of the 30 days of refrigerated storage ($5\pm 1^\circ\text{C}$) the symbiotic yogurt presented one logarithmic cycle more than the probiotic yogurt. This result matches with data obtained from previous research in which bifidobacteria counts were evaluated in fermented milks with and without inulin addition (Gallina et al., 2011; Trento et al., 2009). In the yogurts added with Jerusalem artichoke flour, the bifidobacteria count remained constant throughout 30 days of refrigerated storage ($5\pm 1^\circ\text{C}$), whereas in the standard yogurt without the presence of Jerusalem artichoke flour there was a decrease of one logarithmic cycle after 30 days of storage.

3.3 Sensorial Evaluation

The sensorial evaluation of this work had the aim to reach the ideal formulation of symbiotic yogurt for subsequent experiment in vivo. All the yoghurts evaluated presented average acceptance allocated between the hedonic terms "greatly disliked" and "greatly liked".

According to Table 5, for all attributes the standard formulation (probiotic, without Jerusalem artichoke flour) was the one that obtained the highest scores. However, for the other formulations added of Jerusalem artichoke flour, no significant difference was observed, but in the preference test between the yogurts added of Jerusalem artichoke flour, the yogurt F1, with 5% of flour and 10% of sugar, was preferred by the untrained judges and, therefore, was the formulation defined to be used in the biological assay.

Table 5. Results of the sensorial evaluation regarding the acceptance test of five yogurt formulations.

Samples	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall Appearance
S	8,17 ^a	7,91 ^a	8,20 ^a	8,09 ^a	8,25 ^a
F1	6,74 ^b	7,02 ^b	6,81 ^b	6,77 ^b	6,93 ^b
F2	6,81 ^b	7,10 ^b	6,68 ^b	6,90 ^b	6,75 ^b
F3	6,75 ^b	6,66 ^b	6,40 ^b	6,74 ^b	6,74 ^b
F4	7,02 ^b	6,93 ^b	6,58 ^b	7,08 ^b	7,13 ^b
VC (%)	23,32	23,21	26,38	23,64	23,64

* Averages in the same column with different envelopes differ significantly ($p < 0.05$); V.C. - coefficient of variation. 1 = I really disliked it, 2 = I really disliked it, 3 = I disliked it, 4 = indifferent, 5 = I liked it, 6 = I liked it a lot and 7 = I liked it a lot.

Reading: Standard (probiotic yogurt – 1% probiotic culture), F1 (simbiotic yogurt 5% tupinambor flour/ 10% sugar), F2 (simbiotic yogurt 5% tupinambor flour / 8% sugar), F3 (simbiotic yogurt 7% tupinambor flour / 8% sugar) e F4 (simbiotic yogurt 7% tupinambor flour / 10% sugar).

3.4 In vivo evaluation

3.4.1 Weight gain

At the beginning of the experiment, the animals weighed an average of 0.917 kg and at the end 2.348 kg, representing an average gain of 1.431 kg. The groups submitted to the consumption of probiotic and symbiotic yogurts presented an increase in weight gain, whereas the control group obtained a final average weight of 2.170 kg, compared to 2.470 and 2.403 kg of the probiotic and symbiotic groups, respectively. Nonetheless, this difference may

have been a consequence of the increase in caloric intake by the groups that consumed yogurt and commercial feed in relation to those who consumed commercial feed only.

3.4.2 Serological evaluation

Table 6 shows the values of total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides and glucose of the different animal groups. These results indicate a reduction in total cholesterol levels in relation to the control where the symbiotic yogurt group obtained a value of 40.33 mg/dL against 50.66 mg/dL from the control group. There was no significant difference for the HDL levels, however for the LDL levels the group fed with probiotic yogurt presented lower levels when compared to the control and symbiotic groups.

Table 6. Results of serological evaluation of rabbits in different groups.

Group	Cholesterol (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglycerides (mg/dL)	Glucose (mg/dL)
Control	50,66 ^{a*} ±4,16	28,0 ^a ±1,52	26,0 ^a ±1,73	55,66 ^a ±2,30	136,66 ^a ±0,57
Probiotic	45,33 ^{ab} ±4,04	27,33 ^a ±0,57	18,66 ^b ±2,08	46,66 ^b ±2,23	114,33 ^b ±4,16
Simbiotic	40,33 ^b ±2,08	29,66 ^a ±4,05	27,33 ^a ±2,88	42,0 ^b ±3,46	88,0 ^c ±1,00
VC (%)	7,83	11,10	8,89	5,59	3,09

* Averages in the same column with different envelopes differ significantly ($p < 0.05$); V.C. - coefficient of variation.

The simultaneous use of probiotics and prebiotics has been studied as a way to improve the viability of probiotic microorganisms and to potentiate the control of individual cholesterol levels attributed to probiotics and prebiotics (Liong & Shah, 2006).

The prebiotic action of inulin using yogurt-fed rabbits as a biological model is not usual in the literature, but studies such as Maertens et al. (2004) analysed this process by

adding 2% of inulin or oligofructose to the feeding of nine week old rabbits. After ten days submitted to this, the rabbits were euthanized for further evaluation of their intestinal content. However, the presence of β -fructan (2-1) at the level of the small intestine (ileum) was not detected in rabbits that were fed with control feed. On the other hand, rabbits fed with feed added with inulin or phospholigosaccharides (POS) presented lower degradation rates - 49.2% and 35.3%, respectively. Yet, at the level of the large intestine (cecum) and fecal matter of all rabbits, including those fed with inulin and POS, no type of fructan was detected, which confirms its complete fermentation by the microbial flora located therein and consequently its prebiotic effect.

In addition, other studies, such as the one conducted by Rossi et al. (2008), who used probiotic cultures in soybean water extract and obtained a lipid-lowering effect, that is, a control of cholesterol levels in rabbits (total cholesterol = - 18.4%; HDL-C= + 17.8%) and mice (non-HDL cholesterol = - 23.2%).

From the results presented in Table 6, we can observe that there was a significant difference ($p < 0.05$) in the triglycerides where the control group obtained a value of 55.66 mg/dL, in comparison to 42 mg/dL of the symbiotic yogurt group. The control value is quite similar to the one found by Torres et al. (2009), who evaluated this parameter in 42 day old rabbits and obtained the value of 59.7 mg/dL. This difference in triglyceride contents in both control and symbiotic groups may indicate an influence of the symbiotic product also in triglyceride levels.

Rodrigues et al. (2004), by verifying glucose in New Zealand white rabbits at 31 days of age fed exclusively with feed obtained levels of 130.64 mg/dL. In the present study, under the same dietary conditions, the glucose value of the control group was 136.66 mg/dL, whereas the symbiotic yogurt group had significantly lower levels (88.0 mg/dL).

Overall, the decrease in the levels of cholesterol, LDL, triglycerides and serological glucose in animals receiving symbiotic yogurt when compared to the control animals is due to the presence of inulin, which being a soluble fiber that cannot be digested by the intestine, causes a reduction in glycaemia and in the concentration of free fatty acids and plasma cholesterol levels. In addition, soluble fibers also “steal” bile salts and thus contribute to lowering cholesterol levels (Capriles et al., 2005; Stefe et al.,2008; Uyeda et al.,2016).

3.4.3 Evaluation of the cecal microbiota

As can be observed in Figure 1, animals receiving symbiotic yogurt had a higher bifidobacteria count ($9.93 \log_{10} \text{ mL}^{-1}$) when compared to animals receiving only probiotic yogurt ($8.49 \log_{10} \text{ mL}^{-1}$) and with the control group ($7.41 \log_{10} \text{ mL}^{-1}$), which is accordance with the bifidogenic potential of the Jerusalem artichoke tuber flour.

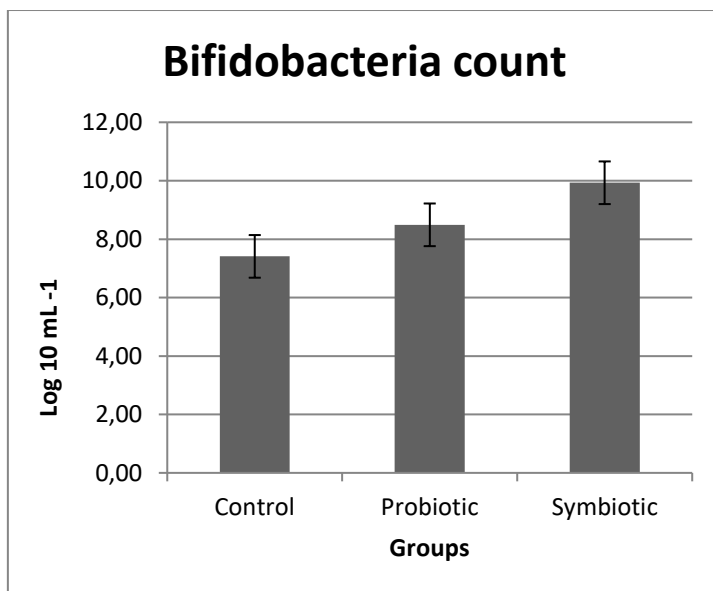


Figure 1 – Cecal microbiota from habbits in differents treatments.

Lima et al. (2017), when studying supplementation with oligosaccharides and fructooligosaccharides in mice obtained values of bifidobacteria in the contents of the ascending colon of $9.0 \log_{10} \text{ mL}^{-1}$. Similarly, Lemos et al. (2010) by adding prebiotics in the

diet of the mice found values of $10.0 \log 10 \text{ mL}^{-1}$ of bifidobacteria in the intestinal contents. However, Rodrigues et al. (2012) used yacon flour as a prebiotic source in yogurts and obtained a higher bifidobacteria count when purchased with the probiotic product. As previously discussed, there are no studies with prebiotic yoghurt supplementation in rabbits in the literature, yet, the comparison with the biological model most used in research is valid.

4. Conclusion

Through this study, it can be concluded that the use of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) flour as a prebiotic ingredient in yogurt performs a bifidogenic function, modulating the microbial flora and conferring health benefits according to the serological and microbiological parameters evaluated.

5. References

- Afoakwa, N.A.; Dong, Y.; Zhao, Y.; Xiong, Z.; Owusu, J.; Wang, Y.; Zhang, J. (2015). Characterization of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) powder and its application in emulsion-type sausage. *FWT – Food Science and Technology*, v.64, p.74-81. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.030>
- Aoac. *Association Of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Aoac.* 18 th ed., 2005. Current through revision 2, 2007.
- Baldini, M.; Danuso, F.; Turi, M. & Vannozzi, G.P. (2004). Evaluation of new clones of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for inulin and sugar yield from stalks and tubers. *Industrial crops and products*, v.19, p. 25-40. [http://DOI:10.1016/s0926-6690\(03\)00078-5](http://DOI:10.1016/s0926-6690(03)00078-5)

Bañuelos, O.; Fernández, L.; Corral, J.M.; Valdivieso-ugarte, M.; Adrio, J.L.; Velasco, J. (2008). Metabolism of prebiotic products containing beta (2-1) fructan mixtures by two *Lactobacillus* strains. *Anaerobe*, v.14, p.184-9. <http://doi:10.1016/j.anaerobe.2008.02.002>

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2007). Portaria nº 46, de 23 de novembro de 2007: *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2003). *Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional* (Resolução nº 359, de 23 de dezembro de 2003). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2002). *Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas para alimentos com alegações de propriedades funcionais e / ou de saúde, novos alimentos / ingredientes, substâncias bioativas e probióticos*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento. (2000). Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados* (Resolução nº5, 13 de Novembro de 2000). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento. (1997). *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados*. Brasília, DIPOA.

Capriles, V.D.; Silva, K.E.A.; Fisberg, M. (2005). Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. *Nutrição Brasil*, (v.4, n.6, p. 327-335). http://atlanticaeditora.com.br/nutricao_brasil

Castele, A. et al. (2006). Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters. *International Dairy Journal*, v.16, p.1470–1476. doi:10.1016/j.idairyj.2005.12.002

- Dutcosky, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. 3ª ed. Curitiba, P.R.: Champagnat, 426 p., 2011.
- Fao - Food and Agriculture Organization Of The United Nations/World Health organization. *Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria*. Córdoba, 2001.
- Franck, A.M.E. (2000). Inulin and oligofructose. In: Gibson G, Angus F, editors. *LFRA ingredient handbook: Prebiotics and probiotics*. Surrey: Leatherhead Publishing. p 1-18.
- Gallina, D.A; Alves, A.T.S.; Trento, F.K.H.S.; Carusi, J. (2011). Caracterização de Leites Fermentados Com e Sem adição de Probióticos e Prebióticos e Avaliação da Viabilidade de Bactérias Láticas e Probióticas Durante a Vida de Prateleira. *UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde*, v.13, n.4, p. 239-244.
http://www.ital.org.br/tecnolat/arquivos/artigos/caracterizacao_de_leites_fermentados.pdf
- Genta, S. et al. (2009). Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clinical Nutrition*, v. 28, p. 182-187. [http:// doi: 10.1016/j.clnu.2009.01.013](http://doi:10.1016/j.clnu.2009.01.013).
- Hua, Y.; Liu, B.; Zhao, Z. (2007). Biological production of fuels. China, Patent WO/2008/011811.
- Ial - Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos* (4 ed.), São Paulo, Brasil, 2005.
- Jelen, P.; Lutz, S. (1998). Functional milk and dairy products. In: Mazza G. Functional foods: biochemical and processing aspects. *Lancaster: Technomic Publishing Company*.
- Kays, S.J. & Kultur, F. (2005). Genetic variation in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Flowering date and duration. *Hort Science*, v. 40, p. 1675-1678.
<http://hortsci.ashspublications.org/content/40/6/1675.full.pdf>

- Kumar, H., Salminen, S., Verhagen, H., Rowland, I., Heimbach, J., Bañares, S., Young, T., Nomoto, K., & Lalonde, M. (2015). Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Current Opinion in Biotechnology*, n. 32, p. 99-103. <http://doi:10.1016/j.copbio.2015.11.021>
- Lawless, H. T.; Heymann, H. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*, 2010. (2nd ed). London:Springer.
- Lemos, A.C.G.; Capaldi, M.L.P.; Santos, R.; Pastore, G.M. (2010). Morphometric Study of Intestinal Mucosa in Rats Supplemented with Prebiotics. *In: 8º Simpósio Latino Americano de Ciência dos Alimentos*.
- Lima, G. C.; Vieira, V. C. C.; Cazarin, C. B. B.; Ribeiro, R. R. ; Junior, S. B.; A., C. L. ; Vidal, R. O. ; Netto, C. C.; Yamada, A.T. ; Augusto, F. ; Maróstica, J. M. R. (2017). Fructooligosaccharide intake promotes epigenetic changes in the intestinal mucosa in growing and ageing rats. *European Journal of Nutrition*, v. 1, p. 1-12. <http://doi: 10.1007/s00394-017-1435-x>.
- Liong, M.T.; Shah, N.P. (2006). Effects of a *Lactobacillus casei* Synbiotic on Serum Lipoprotein, Intestinal Microflora, and Organic Acids in Rats. *Journal of Dairy Science*. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72207-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72207-X)
- Losavio, N.; Lamascese, N.; Vonella, A.V. (1997). Water requirements and nitrogen fertilization in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) grown under Mediterranean conditions. *Acta Hort*. v. 449, p. 205-209. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.449.28>
- Maertens, L.; Aerts, J.M.; De Boever, J. (2004). “Degradation of dietary oligofructose and inulin in the gastro-intestinal tract of the rabbit and the effects on caecal pH and volatile fatty acids”, *World Rabbit Science*, 12, p.235 – 246. <https://doi.org/10.4995/wrs.2004.569>
- Moroti, C. et al. (2014). Potencial da Utilização de Alimentos Probióticos, Prebióticos e Simbióticos na Redução de Colesterol Sanguíneo e Glicemia. *UNOPAR Científica Ciências*

Biológicas e da Saúde, v. 11, n. 4.

<http://pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/viewFile/1444/1383>

Mountzouris, K.C.; Balaskas, C.; Fava, F.; Tuohy, K.M.; Gibson, G.R.; Fegeros, K. (2006). Profiling of composition and metabolic activities of the colonic microflora of growing pigs fed diets supplemented with prebiotic oligosaccharides. *Anaerobe*, v. 12, p. 178-185. <http://doi:10.1016/j.anaerobe.2006.04.001>

Pan, L.; Sinden, M. R.; Kennedy, A. H. et al. (2009). “Bioactive constituents of *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke),” *Phytochemistry Letters*, v. 2, n. 1, p. 15–18. <http://doi:10.1016/j.phytol.2008.10.003>

Petkova, N.; Ivanov, I.; Denev, P.; Pavlov, A. (2014). Bioactive Substance and Free Radical Scavenging Activities of Flour from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tubers – a Comparative Study. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue: 2*. <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ttdb/article/viewFile/5000091057/5000084458>

Pinto, A. L. D., Paiva, C. L. (2010). Desenvolvimento de uma massa funcional pronta para tortas utilizando o método de Desdobramento da Função Qualidade (QFD). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. 1, pp. 36-43. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940103007>>ISSN 0101-2061

Raud, C. (2008). Functional foods: the new frontier of the food industry-Danone and Nestlé strategies for the brazilian yogurt market. *Revista de Sociologia e Política*, v. 16, n. 31, p. 85-100. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-44782008000200008>

Rensis, C.M.V.B.; Souza, P.F.F. (2008). Análise sensorial de iogurtes light elaborados com adição de fibras de inulina e oligofrutose, *Revista Uberaba*, n. 5, p.68-72. <http://www.fazu.br/ojs/index.php/fazuemrevista/article/viewFile/46/40>

Roberfroid, M. et al. (2010). Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, v.104, Suppl 2:S1-63. <http://doi:10.1017/S0007114510003363>.

Rodrigues, F. C.; Castro, A. S. B. ; Rodrigues, V. C. ; Fernandes, S. A. ; Fontes, E. A. F. ; Oliveira, T. T. ; Martino, H . S. D. ; Ferreira, C. L. L. F. (2012). Yacon flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone health in rats. *Journal of Medicinal Food*, v. 15, p. 664-670. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0296>

Rodrigues, F. C.; Oliveira, T. T.; Nagem, T. J. ; Stringheta, P. C.; D B, F. J. (2004). Efeito de naringenina associada com leite de cabra sobre o metabolismo lipídico de coelhos. *Revista Chilena de Nutrición* (Impresa), v. 21, n.1, p. 177-182. <https://scielo.conicyt.cl/cgi-bin/wxis.exe/iah/> ISSN 0717-7518

Rossi, E.A.; Cavallini, D.C.U.; Carlos, I.Z.; Vendramini, R.C.; Dâmaso, A.R.; Valdez, G.F. (2008). Intake of isoflavone-supplemented soy yogurt fermented with *Enterococcus faecium* lowers serum total cholesterol and non-HDL cholesterol of hypercholesterolemic rats. *European Food Research and Technology*. v.228, p.275-282. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0932-9>

Santos, K.A.; Santos, E.F.; Manhani, M.R.; Sanches, F.L.F.Z.; Ballard, C.R.; Novello, D. (2014). Avaliação das Características Sensoriais e Físico-Químicas de Iogurte Adicionado de Inulina. *Rev. UNIABEU Belford Roxo*, v.7, n.15. http://revista.uniabeu.edu.br/index.php/RU/article/view/1390/pdf_58/ ISSN 2179-5037

Santos, E.F. et al. (2006). Alimentos funcionais. *Revista de Pesquisas Biológicas da UNIFEV*, São Paulo, n° 1, p. 13 – 19.

Singh, R.S.; Singh, R.P. (2010). Production of fructooligosaccharides from inulin by endoinulinases and their prebiotic potential. *Food Technol Biotechnol*, v. 48, p. 435-450. http://www.ftb.com.hr/images/pdfarticles/2010/October-December/ftb_48_435.pdf

Siró, I.; Kápolna, E.; Kápolna, B.; Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. *Appetite*, n° 51, p. 456 – 467. <http://doi:10.1016/j.appet.2008.05.060>

Stefe, C.A.; Alves, M.A.R.; Ribeiro, R.L. (2008). Probióticos, prebióticos e simbióticos – Artigo de revisão. *Saúde e Ambiente em Revista*, v.3, n.1, p. 16-33. http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/artigos_teses/Biologia/Artigos/alimentos.pdf

Taco (2011). *Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos*. Campinas, SP: NEPA. 161 p.

Tiendtan, N.; Khempaka,S.; Paengkoum, P.; Boonanuntasarn, S. (2015). Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Feed Science and Technology*, v. 207, p. 120-129. <http://10.1016/j.anifeedsci.2015.05.008>

Torres, R.J.A.; Maia, M.; Noronha, L.; Farah, M.E.; Luchini, A.; Brik, D.; Muccioli, C.; Precoma, D.B. (2009). Evaluation of choroid and sclera early alterations in the hypercholesterolemic rabbits. Histologic and histomorphometric study. *Arq. Bras. Oftalmol.* v.72, n.1, p.68-74. <http://www.scielo.br/pdf/abo/v72n1/v72n1a14.pdf>

Trento, F.K.H.S.; Moreno, I.; Gallina, D.A.; Silva, A.T.; Zacarchenco, P.B.; Liserre, A.M. (2009) Contagem de bactérias lácticas e probióticas em diferentes formulações de leites fermentados contendo ou não probióticos, após o processamento e durante a estocagem. *Anais do 26º Congresso Nacional de Laticínios*.

Uyeda, M.; Del Buonom, H.C.; Gonzaga, M.F.N.; Carvalho, F.L.O. (2016). Probióticos e prebióticos: benefícios acerca da literatura. *Revista de Saúde UniAGES*, v.1, n.1, p. 33-57. <http://npu.faculdadeages.com.br/index.php/revistadesaude/article/view/8/4>

World Health Organization. *Obesity preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO Consultation of Obesity*. Geneva; 1998. 275 p.

Vilhena, S.M.C. et al. (2000). O cultivo do yacon no Brasil. *Horticultura Brasileira*, v.18, p.5-8.

http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/biblioteca/hb_18_1.pdf

Vinderola, C. G.; Reinheimer, J. A. (2000). Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, Barking, v. 10, n. 4, p. 271-275.
[https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00045-5)

3.3 MANUSCRITO 3 – COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FARINHA DE TUPINAMBOR (*Helianthus tuberosus* L.)

Artigo em fase de conclusão, complementação e revisão pelos autores para ser submetido à revista *Current Chemical Biology*.

Estruturação conforme normas da revista (Anexo D).

Compostos fenólicos e Atividade antioxidante de farinha de tupinambor (*Helianthus tuberosus* L.)

RESUMO: Foi realizada a avaliação da atividade antioxidante, identificação e quantificação de compostos fenólicos do tubérculo da planta *Helianthus tuberosus* L. (tupinambor). Os resultados indicaram uma boa atividade antioxidante com valores de 179,08 mg EAG g⁻¹ de fenólicos totais, 69,96 mg EQ g⁻¹ de flavonóis totais, 2,64 μmol trolox TEAC g⁻¹ de DPPH, 8,22 mg mL⁻¹ de EC⁵⁰, 4,46 μmol trolox TEAC g⁻¹ de FRAP e 7,37 μmol trolox TEAC g⁻¹ de índice de ORAC. O principal composto fenólico identificado foi o ácido clorogênico, seguido de ácido caféico e derivados de hidroxicinamatos e hidroxibenzoatos.

Palavras-chave: tupinambor, tubérculo, compostos fenólicos, antioxidantes, compostos bioativos, cromatografia líquida de alta eficiência.

ABSTRACT: The antioxidant activity, identification and quantification of phenolic compounds of the tuber of *Helianthus tuberosus* L. (tupinambor) were evaluated. The results indicated a good antioxidant activity with values of 179.08 mg EAG g⁻¹ total phenolics, 69.96 mg EQ g⁻¹ total flavonols, 2.64 μmol trolox TEAC g⁻¹ DPPH, 8.22 mg mL⁻¹ of EC₅₀, 4.46 μmol trolox TEAC g⁻¹ of FRAP and 7.37 μmol trolox TEAC g⁻¹ of ORAC index. The main phenolic compound identified was chlorogenic acid, followed by caffeic acid and derivatives of hydroxycinnamates and hydroxybenzoates.

Key words: tupinambor, tuber, phenolic compounds, antioxidants, bioactive compounds, High performance liquid chromatography.

1. INTRODUÇÃO

O *Helianthus tuberosus* L., da família *Asteraceae*, conhecido popularmente no Brasil como tupinambor e mundialmente como Alcachofra de Jerusalém é uma erva perene originária do leste da América do Norte. Foi introduzida e cultivada amplamente nas áreas temperadas para os tubérculos comestíveis. *H. Tuberosus* L. tem haste alta, folhas grandes, flores amarelas brilhantes semelhantes aos girassóis e tubérculos de batata. Como

fonte de inulina, os tubérculos têm sido utilizados na medicina popular para o tratamento de diabetes e artrite reumatóide e uma variedade de atividades farmacológicas, como laxante, diurético e espermato gênico [20].

O tubérculo do tupinambor contém metabólitos secundários tais como os compostos fenólicos, estudos evidenciam que esses compostos podem exercer funções biológicas positivas, como atividades antioxidante, antimutagênica e antitumoral [2]. Tchone et al. (2006) identificaram 22 compostos fenólicos em tubérculos de tupinambor, sendo o perfil fenólico predominante em ácidos fenólicos, especialmente salicílico e ácido clorogênico. Estudos recentes apontam que as características farmacológicas do tupinambor estão relacionadas aos seus compostos fenólicos e sua capacidade antioxidante de eliminação de espécies reativas, sendo o ácido clorogênico, o principal fenólico encontrado nesse vegetal [30].

Classicamente, os ácidos clorogênicos são uma família de ésteres formados entre o ácido quínico e certos ácidos trans-cinâmicos, a maioria ácido caféico, p-cumárico e felúrico [6,7,10], bem como ácido sinápico e ácido dimetoxicinâmico [11]. Os ácidos clorogênicos apresentam várias atividades biológicas como antioxidante, anti-inflamatória, anti-HIV (vírus da imunodeficiência humana), anti-HBV (vírus da hepatite B), eliminação de radicais e inibição da mutagênese e carcinogênese, sendo considerados benéficos para a saúde [11].

O objetivo desse trabalho foi a determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante da farinha do tubérculo da tupinambor (*Helianthus tuberosus* L) através da determinação da atividade antioxidante in vitro pelas metodologias de fenólicos totais, flavonóis totais, captura do radical livre - DPPH, capacidade reutora do ferro (FRAP), índice de ORAC e identificação, separação e quantificação de compostos fenólicos através de *High Performance Liquid Chromatography* – HPLC.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostra

A amostra foi adquirida comercialmente em forma de farinha, da propriedade Sítio Flora Bioativa, cidade de Porto Belo no estado de Santa Catarina – Brasil. A farinha do *Helianthus tuberosus* L. foi produzida a partir de seu tubérculo.

2.2 Extração

O extrato da farinha foi obtido segundo metodologia proposta por Kim et al. (2013) e preparado em solução de etanol 70%. O etanol 70% foi adicionado ao béquer contendo as farinhas na proporção 1:20 (m/v) e a mistura ficou sob agitação (Solab, modelo SL-152/10) por 15 minutos à temperatura ambiente. O filtrado foi submetido a mais 2 extrações nas mesmas condições. Posteriormente, o filtrado final obtido após as extrações, foi concentrado em rotavaporador (10 min, 38°C, Rotavaporador® R-300, Buchi Brasil Ltda), para eliminação do etanol e adicionado água destilada para completar o volume estabelecido de 20 mL.

2.3 Fenólicos Totais e Flavonóides

Para a determinação do teor de fenólicos totais utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999) modificado por Roesler (2007). O resultado foi expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de farinha (mg EAG g⁻¹). A determinação do teor de compostos flavonóis totais foi

realizada de acordo com o método proposto por Zhishen et al. (1999), sendo este resultado expresso em miligramas equivalentes de quercetina por grama de farinha (mg EQ g⁻¹).

2.4 Atividade Antioxidante

Os testes utilizados para determinação da atividade antioxidante *in vitro* foram o método de captura do radical livre - DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) e concentração eficiente EC⁵⁰, metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995) e a capacidade redutora de ferro - FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) pela metodologia descrita por Benzie e Strain (1996) e adaptada por Rockembach et al. (2011). Os resultados de ambas as análises foram expressos em μmol equivalentes de trolox/g de amostra ($\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$).

A determinação da atividade antioxidante ORAC – do inglês *Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay*, foi realizada como descrito por OU et al. (2001). Esta análise é baseada na medida da atividade de eliminação de radicais de extratos de plantas contra radicais peróxido produzidos pela adição de indutor de radical AAPH. Adicionou-se 25 μL de amostra diluída ou padrão Trolox em tampão de fosfato de potássio 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (pH 7,4) numa microplaca preta incubada durante 10 min a 37 ° C, a seguir foram adicionados 150 μL de solução de fluoresceína (81 nmol L^{-1}) utilizado como indicador e adicionado 25 μL de AAPH (2,2'-azo-bis (2-amidinopropano -152 mmol L^{-1}) como gerador de radical peróxido. A fluorescência foi então medida a cada minuto (comprimentos de onda de 485 nm e 528 nm para excitação e emissão, respectivamente) a 37 ° C durante 60 min. A atividade antioxidante foi determinada utilizando área sob a curva e os resultados foram comparados com uma curva de referência de Trolox (0 - 96 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e expressos como equivalentes de Trolox por grama de farinha.

2.5 Tratamento das amostras e análises em *High Performance Liquid Chromatography* -HPLC

2.5.1 Solventes e padrões cromatográficos

Os padrões cromatográficos utilizados neste trabalho foram: ácido gálico (97,5%), catequina (98%), ácido clorogênico (95%), ácido vanílico (97%), ácido cafeico (98%), ácido siríngico (95%), ácido p-cumárico (98%), ácido trans-ferúlico (99%), kaempferol-3DGlP (97%), todos adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, Estados Unidos). O metanol de grau HPLC utilizado para fase móvel foi obtido da Merck (Darmstadt, Alemanha). A acetonitrila de grau HPLC e o ácido fórmico utilizados para a fase móvel foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, E.U.A.). A água utilizada para fase móvel foi obtida a partir de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, Massachusetts, E.U.A.). O filtro de seringa de politetrafluoretileno (PTFE) e a membrana de nylon utilizados eram da Allcrom (São Paulo, Brasil).

2.5.2 Preparo das amostras

Os extratos obtidos provenientes da metodologia de extração exaustiva foram submetidos a uma extração líquido-líquido conforme Ross, Beta, e Arntfield (2009) com modificações, usando uma mistura de éter dietílico / acetato de etila (ED/AE 1: 1, v/ v). A camada orgânica ED/AE (sobrenadante) contendo os analitos foi recolhida e evaporada sob vácuo com rotação (10 min, 38°C, Rotavaporador® R-300, Buchi Brasil Ltda). O resíduo foi redissolvido em metanol: ácido fórmico (99,9: 0,1 v/v) a um volume conhecido (2 mL). Anteriormente à injeção, as amostras foram filtradas (PTFE, 0,22 μm , 25 mm, filtros de seringa simples e puros).

2.5.3 Condições do método

O HPLC (LC-20A Prominence, Shimadzu, Japan) era equipado com uma bomba quaternária (LC-20AD), injeção manual, forno de coluna (CTA-20A) e detector de arranjo de diodos (SPDM20A). O software LC Solutions (Version 3, Shimadzu, Columbia, U.S.A.) foi utilizado para o processamento dos dados obtidos. O volume de 20 μL tanto para as amostras diluídas como para os padrões foi injetado em coluna de fase reversa (C-18, 150 mm x 4.6 mm, tamanho de partícula 5 μm , Kinetix Core-Shell Technology). A fase móvel A para este método consistiu em água ultrapura (Milli-Q Gradient System, Millipore Corporation, Massachusetts, EUA) com metanol acidificado com ácido fórmico (95: 5: 0,1 v/v); já a fase móvel B era de acetonitrila e ácido fórmico (99,9: 0,1 v/v). O método cromatográfico utilizado neste trabalho foi anteriormente desenvolvido e validado em nosso grupo de trabalho (Franco et al., 2018) e os resultados encontram-se em fase final de redação e publicação pelos autores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Compostos fenólicos e atividade antioxidante

A Tabela 1 traz os dados dos compostos fenólicos e atividade antioxidante da farinha de tupinambor.

Tabela 1 – Composição de compostos fenólicos e atividade antioxidante da farinha de *Helianthus tuberosus* L.

Análises	Resultados
Fenólicos totais	179,08 \pm 3,81 (mg EAG g ⁻¹)
Flavonóis totais	69,96 \pm 3,94 (mg EQ g ⁻¹)
Atividade antioxidante DPPH	2,64 \pm 0,26 (μmol trolox TEAC g ⁻¹)
Atividade antioxidante EC ⁵⁰	8,22 \pm 0,44 mg mL ⁻¹
Atividade antioxidante FRAP	4,46 \pm 0,43 (μmol trolox TEAC g ⁻¹)
ORAC	7,37 \pm 0,37 (μmol trolox TEAC g ⁻¹)

Os valores são as médias \pm desvio padrão (n=3).

O valor obtido de compostos fenólicos totais na farinha de tupinambor foi de 179,08 mg EAG g⁻¹, em estudos apresentados por distintos autores há uma grande variação na concentração desse composto, justificada principalmente pela espécie do tubérculo e fatores como clima [19]. Desta forma encontra-se valores de fenólicos totais de farinha de tupinambor na faixa de 16 até 170 mg EAG g⁻¹ [13,19,24].

A farinha de tupinambor apresentou o valor de 69,96 mg g⁻¹ de conteúdo de flavonóis, valor consideravelmente maior do que o encontrado no estudo de Motahari et al. (2014), cujo valor de flavonóis obtido foi de 50,07 mg g⁻¹. Também foram realizadas as técnicas de DPPH e FRAP para inferir, com maior segurança, se a farinha apresentaria atividade antioxidante, já que não há uma metodologia oficial para determinação deste quesito em alimentos de origem vegetal e seus subprodutos. Para o DPPH a farinha de tupinambor apresentou valor de 2,64 μmol trolox TEAC g⁻¹ e para FRAP 4,46 μmol trolox TEAC g⁻¹. Os valores para as referidas determinações vão ao encontro aos estudos de Motahari et al. (2014) que obtiveram 2,46 μmol trolox TEAC g⁻¹

para a atividade em DPPH e Johanson et al. (2015) ao avaliar a atividade em FRAP encontrou valores entre 5 e 10 $\mu\text{mol trolox TEAC g}^{-1}$ em diferentes cultivares estudadas.

A atividade antioxidante (%) corresponde à quantidade de DDPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade necessária deste para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (EC^{50}), ou concentração inibitória (IC^{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua IC^{50} e maior a sua atividade antioxidante [26]. A quantidade de amostra que inibe 50% da formação de radicais livres formados na farinha de tupinambor é 8,22 mg mL^{-1} . Poucos estudos foram realizados avaliando o tubérculo da *H. tuberosus* L., no entanto o principal composto antioxidante encontrado são as cumarinas 5].

Também foi determinado o índice ORAC, que se trata de um ensaio de capacidade de absorção de radical de oxigênio, sendo o método mais efetivo biologicamente para avaliar o potencial antioxidante de produtos alimentícios [18, 29]. O método ORAC é baseado na reação de transferência de átomos de hidrogênio entre um oxidante e um radical livre [18]. Utiliza um iniciador de radical (AAPH) para gerar radical peroxilo, que abstrai o átomo de hidrogênio do antioxidante, inibindo assim reações adicionais. O valor do índice ORAC encontrado no presente estudo para a farinha de tupinambor foi de 7,37 $\mu\text{mol trolox TEAC g}^{-1}$ e atualmente não há na literatura dados comparativos que utilizem essa metodologia para a planta avaliada nesse estudo, no entanto valores de ORAC de alguns vegetais com alto potencial antioxidante podem variar entre 39 $\mu\text{mol trolox TEAC g}^{-1}$ a 126 $\mu\text{mol trolox TEAC g}^{-1}$ de acordo com *United States Department of Agriculture – USDA*, o que indica que a farinha de tupinambor não se destaca em relação ao índice ORAC comparado a outros vegetais (cravo-da-índia, cacau e goji berry) cujo valor se encontra estabelecido e classificado como potencial antioxidante [28].

3.2 Caracterização de polifenóis por *High Performance Liquid Chromatography* - HPLC

A figura 1 e a tabela 2, mostram os compostos identificados pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato da farinha de tupinambor (*Helianthus tuberosus* L.).

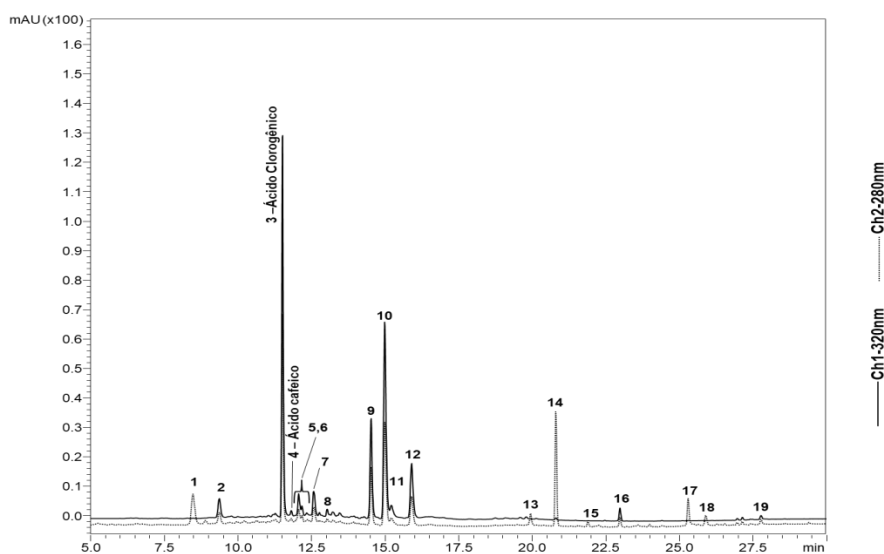


Figura 1 – Separação cromatográfica de polifenóis extraídos da farinha do tubérculo de tupinambor (*Helianthus tuberosus* L.).

Os tubérculos de tupinambor são fontes de substâncias biologicamente ativas, incluindo a ocorrência natural de isômeros do ácido clorogênico, Alguns estudos fitoquímicos relatam a presença de cumarinas, ácidos graxos insaturados derivados de poliacetilênicos e sesquiterpenos [19].

De acordo com a figura 1, ao avaliar os cromatogramas, observa-se a presença de vários compostos, os quais foram identificados de acordo com os padrões disponíveis. Dessa forma, foi possível a identificação do ácido clorogênico, ácido caféico e derivados de hidroxicinamatos e hidroxidobenzoatos. O ácido clorogênico é um composto que vem sendo estudado em relação às suas propriedades anti-virais, especialmente encontradas no café, erva-mate e alcachofras [9, 11], já o ácido cafeico possui ações anti-bacterianas e anti-microbianas, os hidroxicinamatos e hidroxibenzoatos são ácidos fenólicos relacionados com propriedades antioxidantes em relação ao seu potencial preventivo contra o câncer e doenças do aparelho digestivo, bem como pela sua abundância e diversidade estrutural [11, 15].

Classicamente, os ácidos clorogênicos, são uma família de ésteres formados entre o ácido quínico e alguns ácidos trans-cinâmicos, mais comumente os ácido caféico, p-cumárico e felúrico [7, 10].

Entre os picos apresentados no cromatograma (Figura 1), o pico 3 foi bastante proeminente, indicando o ácido clorogênico como composto fenólico predominante na farinha do tubérculo de tupinambor. Os compostos identificados no presente estudo vêm ao encontro de resultados em estudos similares, onde Tchomé et al. (2006) identificaram 22 compostos fenólicos em tubérculos de tupinambor e descobriu que o perfil fenólico foi dominado por ácidos fenólicos, especialmente salicílico e clorogênico. Mattila e Hellström (2007) relataram os ácidos clorogênico, ácido caféico e um não identificado ácido fenólico como os principais compostos fenólicos em tubérculo de tupinambor. Já Bach et al. (2013) identificaram o ácido clorogênico e o ácido gálico como principais compostos.

Tabela 2 – Identificação e quantificação dos compostos fenólicos extraídos da farinha do tubérculo de tupinambor (*Helianthus tuberosus* L.).

Nº Pico	Tr*	λ máx	% relativo**	mg/L de extrato	Identificação/classificação proposta***
1	8,43±0,03	218, 278	17,30±11,62	n.i.	Der. Hidroxibenzoatos
2	9,34±0,03	212, 323	2,96±0,17	n.i.	Der. Hidroxicinamatos
3	11,50±0,02	218, 326	35,20±1,76	29,59±2,07	Ácido Clorogênico
4	11,81±0,02	218, 318	0,64±0,01	0,25±0,02	Ácido cafeico
5	12,05±0,03	218, 322	2,72±0,10	n.i.	
6	12,17±0,01	218, 317	0,72±0,08	n.i.	
7	12,56±0,01	218, 318	3,27±0,17	n.i.	
8	13,02±0,02	219, 324	0,60±0,03	n.i.	Der. Hidroxicinamatos
9	14,51±0,02	219, 324	12,25±0,34	n.i.	
10	14,97±0,02	219, 327	29,32±0,24	n.i.	
11	15,20±0,01	219, 324	2,12±0,25	n.i.	

12	15,87 \pm 0,03	219, 327	8,90 \pm 0,12	n.i.	
13	19,93 \pm 0,02	220, 275	3,80 \pm 0,92	n.i.	
14	20,79 \pm 0,01	221, 280	62,18 \pm 15,63	n.i.	Der. Hidroxibenzoatos
15	21,88 \pm 0,02	221, 277	2,54 \pm 0,36	n.i.	
16	22,97 \pm 0,02	222, 328	1,74 \pm 0,23	n.i.	Der. Hidroxicinamatos
17	25,30 \pm 0,02	228, 286	10,59 \pm 1,31	n.i.	
18	25,90 \pm 0,03	224, 275	1,96 \pm 1,93	n.i.	Der. Hidroxibenzoatos
19	27,78 \pm 0,37	225, 286	1,63 \pm 0,79	n.i.	

*Tr: tempo de retenção, **percentual relativo da área do pico em relação a área total dos cromatogramas obtidos a 280 nm e 320 nm. A área relativa dos picos com máximos de absorção de 310-330nm no espectro eletromagnético não foram considerados na área total do cromatograma obtido à 280nm, somente à 320 nm. ***Identificação proposta por comparação de tempo de retenção e espectros de absorção de radiação eletromagnética do ultravioleta ao visível. Os compostos não identificados (n.i.) foram classificados como compostos fenólicos com espectros compatíveis com derivados de hidroxicinamatos e hidroxibenzoatos. Os resultados são médias \pm desvio padrão (n=3). Der: derivados.

4. CONCLUSÃO

Esse estudo trouxe um relatório sobre a capacidade de eliminação de espécies reativas e composição de ácidos fenólicos do tubérculo de tupinambor. Os resultados indicam que o extrato do tubérculo apresenta boa atividade antioxidante para fenólicos totais, flavonóis totais, DPPH, EC⁵⁰ e FRAP, no entanto não se destaca pelo índice de ORAC. Os compostos fenólicos identificados pela cromatografia líquida de alta eficiência foram o ácido clorogênico como composto majoritário, seguido do ácido caféico e derivados de hidroxicinamatos e hidroxibenzoatos.

5. REFERÊNCIAS

- 1- Bach, V.; Jensen, S.; Clausen, M.R.; Bertram, H.C.; Edelenbos, M. Enzymatic browning and after-cooking darkening of Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.). food chemistry, n 141, p. 1445 – 1450, 2013.
- 2- Bach, V.; Clausen, M.R.; Edelenbos, M. Processing and Impact on Active Components in Food: Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and Impact on Inulin and Phenolic Compounds. Ed. 1. Reino Unido: Elsevier, 724 p, 2015.

- 3- Benzie, I. F.; Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *analytical biochemistry*, v. 239, n.1, p. 70–76, 1996.
- 4- Brand-willians, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- 5- Cabello-Hurtado, F.; Durst, F.; Jorrint, J. V.; Werck-Reichhart, D. Coumarins in *Helianthus tuberosus*: characterization, induced, accumulation and biosynthesis. *phytochemistry*. v. 49, n. 4, p. 1029 – 1036, 1998.
- 6- Clifford, M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric*. 79: 362–372, 1999.
- 7- Clifford, M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *J Sci Food Agric* 80: 1033–1042, 2000.
- 8- Franco, F.W. Potencial enológico de madeiras nativas brasileiras no envelhecimento de vinhos. 2018.61 f. Qualificação de Doutorado (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria,2018.
- 9- Freedman, N.D.; Everhart, J.E.; Lindsay, K.L.; Ghany, M.G.; Curto, T.M.; Shiffman, M.L.; Lee, W.M.; Lok, A.S; DI Biscegli, A.M.; Bonkovsky, H.L.; Hoesfs, J.C.; Dienstag, J.L.; Morishima, C.; Abnet, C.C.; Sinha, R.; Grp, H.C.T. Coffee intake is associated with lower rates of liver disease progression in chronic hepatitis. *C. hepatology*. v. 50, p. 1360 – 1369, 2009.
- 10- IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature of cyclitols. *biochem j* 153: 23–31, 1976.
- 11- Jaiswal, R.; Deshpande, S.; Kuhnert, N. Profiling the chlorogenic acids of *Rudbeckia hirta*, *Helianthus tuberosus*, *Carlina acaulis* and *Symphotrichum novae-angliae* leaves by LC-MSⁿ. *phytochemical analysis*. n. 22, p. 432-441, 2011.
- 12- Johansson, E.; Prade, T.; Angelidaki, I.; Svensson, S. E.; Newson, W. R.; Gunnarsson I. B.; Hovmalm, H. P. Economically Viable Components from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) in a Biorefinery Concept. *international journal of molecular sciences*. v.16, p. 8997- 9016, 2015.
- 13- Kapusta, I.; Krok, E.; Jamro, D.; Cebulak, T.; Kasuba, J.; Salach, R. Identification and quantification of phenolic compounds from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Journal od Food, Agricultures and Environment*, v. 11, p. 601 – 606, 2013.

- 14- Kim, S.J.; Min, S.C.; Schin, H.J.; Lee, Y.J.; Cho, A.R.; Kim, S.Y.; Han, J. Evaluation of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant extracts and their application to fresh ground beef. *Meat science*, n. 93, p. 715-722, 2013.
- 15- Luthria, D.L.; Mukhopadhyay, S.; Krizek, D.T. Content of total phenolics and phenolic acid in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar radiation. **Journal of Food Composition and Analysis**, n.19, p. 771-777, 2006.
- 16- Mattila, P.; Hellström, J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *J. Food Comp. Anal.*, n. 20, p. 152 – 160, 2007.
- 17- Motahari, S. M.; Asadi, M.; Serpooshan, F. Determination of antioxidant activity and flavonoids and phenolic contents of *Helianthus tuberosus* L. leaves, flower and root extracts. *International Journal of Advanced Life Sciences*. v.7, n.3, p. 438 – 441, 2014.
- 18- Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R.L. Development and validation of a microplate oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. v. 49, p. 4619-4926, 2001.
- 19- Petkova, N.; Ivanov, I.; Denev, P.; Pavlov, A. Bioactive Substance and Free Radical Scavenging Activities of Flour from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tubers – a Comparative Study. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue*: 2, 2014.
- 20- Pan, L.; Sinden, M. R.; Kennedy, A. H. “Bioactive constituents of *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke),” *Phytochemistry Letters*, vol.2,no.1,pp.15–18, 2009.
- 21- Rockenbach, I. I. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, v. 127, p. 174-179, 2011.
- 22- Roesler, R. Estudo de frutas do cerrado brasileiro para avaliação de propriedade funcional com foco na atividade antioxidante. 2007. 120 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- 23- Ross, K. A.; Beta, T.; Arntfield, S. D. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, v. 113, n. 1, p. 336-344, 2009.

- 24- Saikaew, S.; TAngwongchai, R.; Sae-Eaw, A. The effect of temperature and storage time on the chemical and physical compositions changes of KaenTawan (*Helianthus tuberosus* L.) tubers after harvesting. *Agriculture Science J.* v.4, n.3, p. 249 - 252, 2010.
- 25- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, n. 299, p. 152-178, 1999.
- 26- Sousa, C. M. de M. et al. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- 27- Tchoné, M., Bärwald, G., Annemüller, G., Fleischer, L.G. Separation and identification of phenolic compounds in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Sci. Aliments* n. 26, p. 394–408, 2006.
- 28- USDA – United States Departmente of Agriculture. High – ORAC Foods May Slow Aging, 1999.
- 29- Wu, X.; Gu, L.; Holden, J.; Haytowitz, D.B.; Gebhardt, S.E.; Beecher, G.; Prior, R.L. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. *J. Food. Comp. Anal.* v. 17, p. 4107-422, 2004.
- 30- Yuan, X.; Guo, M.; Xiao, H.; Tan, C.; Du, Y. Free radical scavenging activities and bioactive substances of Jerusalem artichoke (*Helianthustuberosus*L.) leaves. *Food Chemistry*, v. 133, n.1, p.10–14, 2012.
- 31- Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jianming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemistry*, v. 64, p. 555–559, 1999.

4 CONCLUSÕES GERAIS

As Plantas Alimentícias Não Convencionais – PANCs avaliadas no presente estudo, *Helianthus tuberosus* L., *Pereskia aculeata* Mill e *Moringa oleifera*, tem interessantes propriedades nutricionais em relação à composição centesimal e mineral, evidenciando que as mesmas são fonte de fibras com 19,68%, 55,39% e 48,2% respectivamente e a *Pereskia aculeata* Mill e *Moringa oleifera* são fontes de proteínas com 22,41% e 24,79% respectivamente. A *Helianthus tuberosus* L. apresentou 67,38% de carboidratos, sendo submetido a uma avaliação do perfil cromatográfico de açúcares o que resultou na identificação da inulina como composto majoritário com 44,44% e, dessa forma, esse tubérculo passou pela determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante e foi escolhido para aplicação em iogurtes simbióticos. Em relação à composição mineral, o *Helianthus tuberosus* L. e *Pereskia aculeata* Mill destacaram-se como fontes de P, Ca, Mg e K e a *Moringa oleifera* como fonte de Ca, P e K.

Os iogurtes produzidos com a farinha de *Helianthus tuberosus* L. se apresentaram estáveis no período de 30 dias em que foram avaliados nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Através da avaliação sensorial o iogurte F1 (5% de farinha e 10% de açúcar) foi o escolhido para aplicação na dieta de coelhos Nova Zelândias brancos. Após a eutanásia pode-se verificar que o grupo de animais que recebeu o iogurte simbiótico se destacou em relação ao grupo controle que recebeu apenas ração com menores índices de colesterol total (40,33 mg dL⁻¹), triglicerídeos (42,0 mg dL⁻¹) e glicose (88,0 mg dL⁻¹) e também apresentaram maior contagem de bifidobactérias no conteúdo intestinal com 9,93 log 10 mL⁻¹ no grupo simbiótico contra 7,41 log 10 mL⁻¹ no grupo controle.

Em relação à atividade antioxidante e compostos fenólicos, o tubérculo de *Helianthus tuberosus* L. apresentou valores de 179,08 mg EAG g⁻¹ de fenólicos totais, 69,96 mg EQ g⁻¹ de flavonóis totais, 2,64 µmol trolox TEAC g⁻¹ de DPPH, 8,22 mg mL⁻¹ de EC⁵⁰, 4,46 µmol trolox TEAC g⁻¹ de FRAP e 7,37 µmol trolox TEAC g⁻¹ de índice de ORAC. O principal composto fenólico identificado foi o ácido clorogênico, seguido de ácido caféico e derivados de hidroxicinamatos e hidroxibenzoatos.

Desta forma, pode-se concluir que as Plantas Alimentícias Não Convencionais estudadas possuem uma destacada composição nutricional e mineral, podendo ser utilizadas na composição de formulações alimentícias. A planta escolhida como prebiótico em iogurtes simbióticos desempenhou o esperado de um ingrediente prebiótico, modulando a microbiota intestinal dos animais através do seu potencial bifidogênico e obteve índices reduzidos de colesterol total, glicose e triglicerídeos, corroborando com os objetivos iniciais do trabalho que era o desenvolvimento de um iogurte funcional.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M. S.; EL-SAKHAWY, F. S.; SOLIMAN, S. N.; ABOU-HUSSEIN, D. M. R. Phytochemical and biological study of *Helianthus tuberosus* L., **Egyptian journal of biomedical science**, v. 18, p. 134-147, 2005.
- ALM, L. Effect of fermentation on lactose, glucose and galactose content in Milk and suitability of fermented milk products for lactose intolerant individual. **J. of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 346-353, 1982.
- ANSELMO, R. J.; VITORIA, S. S.; LAUSADA, L. I. Effect of kefir bactericide on Salmonella spp. **Informacion Tecnologica**, v. 12, n. 5, p. 91-95, 2001.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial - processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2001. p. 351-362.
- BARREIRA, T. F.; PAULA FILHO, G. X.; RODRIGUES, V. C. C.; ANDRADE, F. M. C.; SANTOS, R. H. S.; PRIORE, S. E.; PINEHIRO-SANT'ANA, H. M. Diversidade e equitabilidade de Plantas Alimentícias Não Convencionais na zona rural de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 964-974, 2015.
- BERGMAN, R. S. O.; PEREIRA, M. A.; VEIGA, S. M. O. M.; SCHNEEDORF, J. M. OLIVEIRA, N. M. S.; FIORINI, J. E. Microbial profile of a kefir sample preparations grains in natura and lyophilized and fermented suspension. **Cien. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, n. 4: 1022-1026, out./dez. 2010.
- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 46, **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**, de 23 de outubro de 2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n° 02, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde**, de 07 de Janeiro de 2002.
- BRESSAN, R. A. et al. Stress-adapted extremophiles provide energy without interference with food production. **Food Security**, v. 3, n. 1, p. 93-105, 2011.
- DINIZ, R. O.; PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. T.; SCHNEEDORF, J. M. Atividade anti- inflamatória de quefir, um probiótico da medicina popular. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 13, p. 19-21, 2003.
- FAO/WHO. **Codex Standard for Fermented Milks**, 2003.
- _____. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001.
- FARNWORTH, E. R. Kefir- a complex probiotic. **Food Science and Technology Bulletin**, v. 2, p. 1-17, 2005.

- FLEET, G. H. Yeasts in dairy products. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, p. 199-211, 1990.
- GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A. G.; DE ANTONI, G. L. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. **Journal of Dairy Research**, v. 68, p. 639-652, 2001.
- GUZEL-SEYDIM, Z. B.; SEYDIM, A. C.; GREENE, A. K. Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 275-277, 2000.
- GUZEL-SEYDIM, Z.; KOK-TAS, T.; GRENE, A. K. Review: functional properties of kefir. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 3, p. 261-268, 2011.
- JAY, J. M. Fermentação e produtos lácteos fermentados. In: JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 131-147.
- KOROLEVA, N. S. Technology of kefir and kumys. **IDF Bul**, v. 227, p. 96-100, 1988.
- KUBO, M.; ODANI, T.; NAKAMURA, S. Pharmacological study on kefir – a fermented Milk product in caucasus. I. On tumor activity. **Yakugaku Zsshi**, v. 112, n. 7, p. 489-495, 1992.
- LEISNER, J. J. et al. Description of *Paralactobacillus selangorensis* gen. nov., sp. nov., a new lactic acid bacterium isolated from chili bo, a Malaysian food ingredient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 19-24, 2000.
- LIMA, A. C. F. Efeito do uso do probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangeo de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 1, p. 200-27, 2003.
- LIUT KEVICIUS, A.; SARKINAS, A. Studies on the growth conditions and composition of kefir grains – as a food and forage biomass. **Dairy Science Abstracts**, v. 66, p. 903, 2004.
- LUIZZA, M. W. et al. Local Knowledge of Plants and their uses among Women in the Bale Mountains, Ethiopia. **Ethnobotany Research & Applications**, v. 11, n. 1, p. 315-39, 2013
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock Biology of Microorganisms**. 8. ed. [S.l.]: Prentice Hall International, 1997. 986p.
- MESQUIARI, M. **Desenvolvimento tecnológico de um sucedâneo de quefir - Iofir®**. 1999. 142 p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.
- MICHELI, L.; UCCELLETTI, D.; PALLESCHI, C.; CRESCENZI, V. Isolation and characterisation of a ropy *Lactobacillus* strain producing the exopolysaccharide kefiran. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 53, p. 69-74, 1999.
- MOREIRA, M. E. C. Atividade anti-inflamatória de carboidrato produzido por fermentação aquosa de grãos de quefir. **Química Nova**, v. 31, n. 7, 2008.
- NASCIMENTO, V. T. et al. Knowledge and Use of Wild Food Plants in Areas of Dry Seasonal Forests in Brazil. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 317-43, 2013.

OLIVEIRA, M. N. **Tecnologia de Produtos Lácteos Funcionais**. São Paulo: Atheneu, 2009.

ORDÓÑEZ PEREDA, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos – Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 2v.

ORLOVA, Z. N.; NASATKINA, T. N.; OKHAPKINA, V. F. Use of Robolact and Linolac dry Milk mixtures in the overall the overall therapy of infants with acute intestinal infections. **Vopr. Pitan.**, v. 4, p. 45-47, 1980.

OTA, A. Protection against na infectios disease by enterohaemorrhagic E. coli 0-157. **Med. Hypotheses**, v. 53, n. 1, p. 87-88, 1999.

OTLES, S.; CAGINDI, O. Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 2, p. 54-59, 2003.

PIARD, J-C. et al. Bactérias lácticas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 2, n. 8, p. 80-84, 1999.

POOL-ZOBEL, B. L.; MUNZNER, R.; HOLZAPFEL, W. H. Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in the S. typhimurium atagenicity assay. **Nutri. Câncer**, v. 20, n. 3, p. 261-270, 1993.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MELO, C. M. T.; ANDRADE, R. R.; PAVANI, L. C.; MORAIS, S. A. L. Composição centesimal de frutos de ora-pro-nóbis. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 34., 2011, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2011.

REA, M. C. et al. Irish kefir – like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 81, p. 83-94, 1996.

ROCHA, D. R. C.; PEREIRA-JÚNIOR, G. A.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANATOS, A. S.; PINTO, N. A. V. D. Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 459-465, 2008.

ROGINSKI, H. Fermented milks. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 43, p. 37-46, 1988.

SALOFF-COSTE, C. J. **Kefir**. [S.l.]: Danone Newsletter, 1996. p. 11.

SANTOS, E. F. et al. Alimentos funcionais. **Revista de Pesquisas Biológicas da UNIFEV**, São Paulo, n° 1, p. 13-19, 2006.

SARKAR, S. Potencial of kefir as a dietetic beverage – a review. **British Food Journal**, v. 109, p. 280-290, 2007.

SCHMIDT, P.; VASS, A.; SZAKALY, S. Effect of fermented milk diets on regeneration of the rat liver. **Acta Med. Hung.**, v. 41, n. 2-3, p. 163-169, 1984.

TOBA, T.; ARHARA, K.; ADACHI, S. Distribution of microorganisms with particular reference to encapsulated characters of fermented milks. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 10, n. 3-9, p. 219-224, 1990.

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE PLANTAS MEDICINAIS



ISSN 1516-0572 *printed version*
ISSN 1983-084X *on-line version*

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- [Scope and policy](#)
- [Format and preparation of manuscripts](#)
- [Submission of manuscripts](#)

Scope and policy

The Brazilian Journal of Medicinal Plants [BJMP] is a quarterly publication devoted to the dissemination of original articles, reviews and preliminary notes, which must be inedited, covering the broad areas of medicinal plants. Manuscripts involving clinical trials must be accompanied of an authorization by the Ethics Committee of the Institution where the experiment was carried out. The articles can be written in Portuguese, English or Spanish; however, an abstract in both English and Portuguese is obligatory, independently of the used language. Papers should be sent by e-mail to rbpm.sbpm@gmail.com, typed in Arial 12, double space, 2cm margins, Word for Windows. Telephone numbers for any urgent contact should also be included in the submission e-mail. The articles should not exceed 20 pages.

For publication of articles submitted to RBPM after 1 st April 2013, there is a cost of \$ 300 (three hundred reais) to be paid by the authors only by receiving the acceptance letter, when they will receive also the invoice and payment instruction.

Format and preparation of manuscripts

REVIEWS AND PRELIMINARY NOTES

Reviews and Preliminary Notes must be basically structured into Title, Authors, Resumo, Palavras-chave, Abstract, Key words, Text, Acknowledgement (optional), and References.

Special attention should be given to Review Articles; Ippis-Litteris citation from other published texts must be avoided since it means plagiarism by law.

ARTICLES

Articles must be structured as follows:

TITLE: The title must be clear and concise, typed in bold, with only the first letter in uppercase, and centralized on the top of the page. A subtitle, if available, must follow the title, in lowercase letters, and may be preceded by a roman numeral. The common names of medicinal plants must be followed by their scientific names in parentheses, available

at www.tropicos.org and www.ipni.org.

AUTHORS: Cite first the last name of authors in full (use only the initials of first and intermediate names without spaces and separated by commas), in uppercase letters and bold, starting two lines below the title. Following each author's name, a superscript number must indicate the respective Institution and address (street, zip code, town, country). The corresponding author must be identified with an e-mail address. Authors' names must be separated by a semicolon.

RESUMO: "Resumo" must be on the title page, starting two lines below the authors' names. It must be written in only one paragraph containing aims, summarized material and methods, main results, and conclusion. No literature citations must be included. **Palavras-chave:** "Palavras-chave" must start one line below "Resumo" at the left margin, typed in bold, and should include up to five words separated by commas.

ABSTRACT: It must contain the title and the abstract in English, with the same format as that in Portuguese (single paragraph), except for the title which must be typed in bold with the first letter in uppercase and included after the word ABSTRACT.

Key words: The key words in English must be typed below the **ABSTRACT** and should include up to five words separated by commas

INTRODUCTION: The introduction must contain a brief literature review and the aims of the work. Authors must be cited in the text according to the following examples: Silva (1996); Pereira & Antunes (1985); (Souza & Silva, 1986), or when there are more than two authors, Santos et al. (1996).

MATERIAL AND METHOD: The employed original techniques must be completely described or references to previous works reporting these methods should be included. Statistical analyses must also contain references. In the methods, the following data regarding the studied species must be presented: scientific name and author, name of the Herbarium where the voucher species is stored and its respective number Voucher Number).

RESULT AND DISCUSSION: These can be presented separately or as a single section, including a summarized conclusion at the end.

ACKNOWLEDGEMENT: If necessary, acknowledgements must be written in this section.

REFERENCE: References must follow the examples below:

Journals:

AUTHOR(S) separated by semicolons without spaces between initials. Paper title. **Journal title in full**, volume, number, first page-last page, year.

KAWAGISHI, H. et al. Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. **Carbohydrate Research**, v.186, n.2, p.267-73, 1989.

Books:

AUTHOR. **Book title**. Edition. Publication place: Publisher, Year. Total number of pages. MURRIA, R.D.H.; MÉNDEZ, J.; BROWN, S.A. **The natural coumarins**: occurrence, chemistry, and biochemistry. 3.ed. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982. 702p.

Book Chapters:

AUTHOR(S) OF THE CHAPTER. Chapter title. In: AUTHOR (S) of the BOOK. **Book title**: subtitle. Edition. Publication place: Publisher, year, first page-last page. HUFFAKER, R.C. Protein metabolism. In: STEWARD, F.C. (Ed.). **Plant physiology**: a treatise. Orlando: Academic Press, 1983. p.267-33.

PhD or Master Thesis:

AUTHOR. **Title**: subtitle. Year. Total number of pages. Category (degree and concentration area) - Institution, University, Place. OLIVEIRA, A.F.M. **Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil**. 1995. 125p. Dissertation (Master's - Concentration area in Botany) - Department of Botany, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Papers from Events:

AUTHOR(S). Paper title. In: Title of the event in uppercase letters, number, year, place. **Publication type**... Place: Publisher, year. first page-last page. VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no Cerrado. In: INTERNATIONAL SAVANNA SYMPOSIUM, 3., 1996, Brasília. **Proceedings** Brasília: Embrapa, 1996. p.169-71.

Electronic Publication:

AUTHOR(S). Paper title. **Journal title**, volume, number, first page-last page, year. Place: publisher, year. Pages. Available at: <<http://www.....>>. Accessed on: day month (abbreviated) year. PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.2, p.326-8, 2004. Available at: <http://www.scielo.br>. Accessed on: 18 Apr. 2005. Do not cite abstracts or research reports unless the information is extremely important and has not been published as a different format. Personal communications must be written as footnotes on the page they are cited but should be avoided if possible. Citations

such as "Almeida (1994) cited by Souza (1997)" should also be avoided.

TABLES: Tables must be inserted within the text and typed in Arial 10, single space. The word TABLE must be typed in uppercase letters followed by Arabic numerals; in the text, tables must be typed in lowercase letters (Table). The Table title must be typed in Arial 12 while the data within the Table must be in Arial 10.

FIGURES: Illustrations (graphs, photographs, drawings, maps) must be typed in uppercase letters followed by Arabic numerals, Arial 12, inserted within the text. When cited in the text, lowercase letters should be used (Figure). Captions and axes must be typed in Arial 10. Photographs must be sent in separate files of 300 DPI resolution, 800 x 600, JPEG extension, for publication printing.

Review Process: The manuscripts are analyzed by at least two reviewers, according to a guide for evaluation mainly based on the scientific approach. The reviewers will recommend the acceptance, with or without the need of reevaluation, rejection or changes; in the latter case, the rewritten article will return to the reviewer for a final evaluation. When at least 2 reviewers approve the manuscript, with no need of a reevaluation, it will be ready for publication and the author will receive the acceptance letter and instructions for cost payment (R\$ 300/manuscript)*. Reviewers' names are hidden, and the authors' names are also concealed from reviewers.

* Only approved articles submitted after 1st April 2013 must pay for publication costs.

Copyright: When submitting an article to the journal, the authors must be aware that if it is accepted for publication, its copyright, including rights for reproduction in all media and formats, will be exclusively ceded to the Brazilian Journal of Medicinal Plants. The journal will not refuse legitimate requests by the authors to reproduce their articles.

ATTENTION: Articles not consistent with these standards will be returned to authors.

Note: Opinions and concepts reported in the papers constitute the author's exclusive responsibility. However, the Editorial Board has the right to suggest or require the modifications they judge necessary.

Submission of manuscripts

Papers should be sent by e-mail to rbpm.sbpm@gmail.com.

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Food Science and Technology (Campinas) publishes scientific articles in the field of food science. Works should be written in English and follow the editorial standards below.

Editorial Policy

Food Science and Technology (Campinas) accepts articles which present results from the original research and adopts a double-blind peer review process. The rejection of the manuscript can be decided by the Editor in Chief, Adjunct Associate Editor, and Associated Editors. The acceptance of the manuscript depends on the review of at least two anonymous referees designated by the Editorial Board. The referees' reviews will be sent to the authors to guide them in all needed changes related to their manuscripts. In the case of disagreement between their reviews, the final decision will be made by the Editor responsible for the manuscript or if he/she finds it necessary, another referee will be heard, and the three reviews will be analyzed by the sbCTA's Editorial Board, which will finally decide on the acceptance of the manuscript.

The accepted works will be published in the online version of this journal and in the SciELO library within twelve months.

Authorship

Authorship credit should be based only on substantial contributions and participation to the development of the work.

The corresponding author will serve on behalf of all coauthors as the primary correspondent with the editorial office during the submission and review process.

Terms of agreement and submitting rights of graphic reproduction

The corresponding author must sign and submit the [Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic](#) Reproduction to the sbCTA's Editorial Board on behalf of all coauthors. By signing the "Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic Reproduction", the authors agree:

- That neither this work nor one with substantially similar content has ever been previously published or is being considered for publication elsewhere;
- To submit the work and agree to name the corresponding author indicated;

To grant the Brazilian Society of Science and Food Technology (sbCTA)

the rights of graphic reproduction if the work is accepted for publication.

Contents

Original Research

The manuscript must present clear and concise results of a research based on scientific methods.

Review Articles

Manuscripts should present an overview pertinent to the theme of the Journal with focus on literature published in the past five years.

Research involving humans

When presenting results of research involving humans, the approval process number granted by the Research Ethics Committee (resolution # 196/96, October 10th, 1996, Brazilian National Health Council) should be provided.

Paper Structure

Reviewing the manuscript structure and information provided is the author responsibility. Original manuscripts should not exceed 16 pages (excluding the references).

The text should be spaced with double spacing between lines in a one-column format. All lines should be flush with left margin of column leaving a 2.5-cm margin at right and left. Text lines must be sequentially numbered throughout the text. All pages should be sequentially numbered (see the item "Files Format" at the end of this guide).

Cover Letter

The manuscript cover letter must include the following:

- Statement of work relevance and importance: a brief text with no more than 100 words describing the relevance of the work concisely;
- Titles:

- a) Title in English;
- b) Page header (no longer than 6 words).

Title Page

The manuscript title page must include the following:

- Authors' full name and e-mail address;
- Authors' abbreviated names for citation (Ex.: full name: José Antonio da Silva; abbreviated name: Silva, J. A.);
- Authors' Affiliations: name of the institution to which each author belongs (full name and acronyms, full postal address, postal code, city, state, and country). Please correlate each author to their corresponding institution;
- Authors mailing information (full name, full postal address, telephone and FAX numbers, and corresponding author's e-mail

address).

Abstract and keywords page

Abstract

The abstract must:

- Be only in english;
- Be a single paragraph containing fewer than 200 words;
- Clearly state the main objective and rationale of the article;
- State briefly the major conclusions;
- If applicable, describe materials methods and results;
- Summarize the conclusions;
- Be sparing with abbreviations and acronyms.

The abstract should not include:

- Footnotes;
- Significant data and statistical values;
- References.

Practical Application

Short text with a maximum of 85 characters, indicating innovations and important features of the study. The "Practical Application" will be published.

Keywords

The manuscript should have at least three (3) and a maximum of six (6) Keywords. Keywords should be only in english. Avoid using terms included in the main text of the manuscript in the Keywords.

Text pages

The manuscript should be arranged as follows:

- Introduction;
- Materials and Methods; should include experimental design and statistical data analysis;
- Results and Discussion (may also be separated);
- Conclusions;
- References;
- Acknowledgements (optional).

In the main text:

- Abbreviations, acronyms, and symbols must be clearly defined on first usage;
- Footnotes are not permitted;
- The use of headings and subheadings is encouraged when necessary, but make use of them without compromising the text clarity. They should be numbered in the order in which they appear in the text;
- Equations should be computer generated and numbered

sequentially with Arabic numerals in parentheses in the order in which they are referred to in the text. Equations should be referenced within the text and in the location indicated by the author. Please do not submit images of equations. Equations supplied separately will not be accepted; only those inserted in the text will be accepted.

Tables, Figures, and Charts

Provide a maximum of seven (7) Tables, Figures, and Charts. They should be numbered in Arabic numerals in the order they are called out in the text. In the Manuscripto.pdf - version for reviewer's evaluation and in the Manuscripto.doc - version for production, tables, equations, figures, charts and their respective captions should be included within the main text in the place indicated by the authors. Please see below the instructions for the version for production.

Figures and charts (version for production)

Figures and charts should be provided in the main text and numbered consecutively using Arabic numerals and their respective captions should be included within the main text in the place indicated by the authors. When supplying figures containing photographs or micrographs, ensure that they are scanned at a high resolution so that each photo is at least 1,000 pixels wide. All photographs should contain the author's name. Charts should be used to present files, schemes, and flowcharts.

Tables (version for production)

Tables should be provided in the main text and numbered using Arabic numerals. They should be embedded in the text in the place indicated by the author. Tables should be prepared using Microsoft Word® 2007 or after; they should not be imported from Excel® or Powerpoint®, and should:

- Have a caption and a title;
- Be self-explainable;
- Have the significant digits defined according to statistical criterion considering the significant digits in the standard deviation;
- Be used sparingly to ensure visual consistency and that the text is easy to read;
- Show data that are not shown in the graphs;
- Have the simplest format possible; the use of shadows, color, or vertical and diagonal rows is not permitted;
- Have only superscript lowercase letters indicating footnotes (abbreviations, units, etc). The columns should be indicated first and then the rows, and this same order should be followed for the footnotes.

Proprietary names

Raw materials, special purpose equipment and computer software used in the research should be specified (trademark- manufacturer, model, city, and country of origin).

Units of measure

- Use SI units; (International System of Units);
- Temperatures should be expressed in degrees Celsius (°C).

References

In-text citations

Bibliographic references inserted in the text should be made according to the "Author/Date" system. For example, citation containing one author: Sayers (1970) or (Sayers, 1970); with two authors: Moraes & Furuie (2010) or (Moraes & Furuie, 2010); citations with more than two authors should show the name of the first author followed by the expression "et al.". When the citation refers to an institution, its name should be presented in full.

Reference list

Food Science and Technology (CTA) Journal adopts the style of citations and bibliographic references by the American Psychological Association - APA. The complete policy and tutorials can be verified at <http://www.apastyle.org>.

The reference list should be prepared first alphabetically and, if necessary, chronologically. Multiple references by the same author in the same year should be identified by letters 'a', 'b', 'c', etc. placed after the year of publication.

Articles under preparation or submitted for review should not be included in the references. The names of all authors should be listed in the references; therefore, the use of the expression 'et al.' is not allowed.

According to the determination by the sbCTA, accepted articles whose bibliographic references are not in compliance with the Journal's standards WILL NOT BE PUBLISHED until norms are met.

Examples of style for references:

Books

Baccan, N., Aleixo, L. M., Stein, E., & Godinho, O. E. S. (1995). *Introdução à semimicroanálise qualitativa* (6. ed.). Campinas: EduCamp. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. (2006). *Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO* (versão 2, 2. ed.). Campinas: UNICAMP/NEPA.

Book Chapter

Sgarbieri, V. C. (1987). Composição e valor nutritivo do feijão *Phaseolus vulgaris* L. In E. A. Bulisani (Ed.), *Feijão: fatores de produção e qualidade* (cap. 5; pp. 257-326). Campinas: Fundação Cargill.

Journal Articles

Versantvoort, C. H., Oomen, A. G., Van de Kamp, E., Rompelberg, C. J., & Sips, A. J. (2005). Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, 43(1), 31-40. Sillick, T. J., & Schutte, N. S. (2006). Emotional intelligence and self-esteem mediate between perceived early parental love and adult happiness. *E-Journal of Applied Psychology*, 2(2), 38-48. Retrieved from <http://ojs.lib.swin.edu.au/index.php/ejap>

Electronic work (e-work)

Richardson, M. L. (2000). Approaches to differential diagnosis in musculoskeletal imaging (version 2.0). Seattle: University of Washington School of Medicine. Retrieved from <http://www.rad.washington.edu/mskbook/index.html>

Legislation

Brasil, Ministério da Educação e Cultura. (2010). *Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências* (Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

Theses and Dissertations

Fazio, M. L. S. (2006). *Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em polpas congeladas de frutas* (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto.

Articles previously presented at scientific conferences

Sutopo, W., Nur Bahagia, S., Cakravastia, A., & Arisamadhi, T. M. A. (2008). A Buffer stock Model to Stabilizing Price of Commodity under Limited Time of Supply and Continuous Consumption. In *Proceedings of The 9th Asia Pacific Industrial Engineering and Management Systems Conference (APIEMS)*, Bali, Indonesia.

Files format

The main manuscript text should be submitted as follows:

Manuscript.pdf: version for reviewer's evaluation

- pdf format;
- 12 point Times New Roman;
- Double spacing between lines;
- Manuscript complete text [maximum of sixteen pages (16)];
- Figures and tables including respective captions should be embedded in the text in the location indicated by the author;
- Text lines and pages should be sequentially numbered;
- Should not include cover letter;
- Title page should not include the authors' names and Institutions;
- Should be named manuscritoavaliacao.pdf.

Manuscript.doc: version for production

- Microsoft Word® 2007 format (or after);

- 12 point Times New Roman;
- Double spacing between lines;
- Figures, charts, tables, equations and with their respective captions should be embedded in main text in the place indicated by the authors;
- Text lines and pages should be sequentially numbered;
- Cover letter should be submitted separately;
- Title page should include the authors' names and institutions;
- Should be named manuscritoproducao.doc.

After checking the format style and creating the files according to the guidelines, proceed to the online submission using the On-line (Please, see below).

Link: <http://mc04.manuscriptcentral.com/cta-scielo>

Publication fees:

The Food Science and Technology Journal (Campinas) will publish an article accepted for publication according to rates below:

- USD 270.00 - non-members of SBCTA
- USD 200.00 - at least one author should be an SBCTA member and should have paid his/her annual membership fee to be eligible for the discount;
- USD 180.00 - at least two authors should be SBCTA members and should have paid their annual membership fee to be eligible for the discount;
- USD 160.00 - three authors should be SBCTA members and should have paid their annual membership fee to be eligible for the discount;
- USD 140.00 - at least four authors should be SBCTA members and should have paid their annual membership fee to be eligible for the discount;
- Contributing authors should convert commercial dollar rate of the date of deposit into Brazilian real.

The publication process will not begin until the fee for the accepted paper has been received. Fees may be paid as follows:

- Payment within Brazil: the invoice will be sent to the Editor by e-mail.
- International payment: PayPal invoice sent to the Editor by e-mail.

There is option of payment by creditcard

English Language review

Papers must be submitted in English, together with a letter attesting their editing, signed by a specialist in English language (native or non-native speaker). All editing of English should be accompanied by a letter

detailing the adjustments made in the original document.

Before submitting online, the corresponding author should fill out and sign the Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic Reproduction form.

Submit this form via e-mail or fax to the sbCTA's Editorial Board to publicacoes@sbcta.org.br or +55 19 32410527. The evaluation process will not begin until the Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic Reproduction is sent and received.

Contact

Brazilian Society of Science and Technology / SBCTA

Av. Brasil 2880 - 13001-970 Campinas - SP, Brasil - Caixa Postal: 271

Fone/Fax: +55 (19) 3241-0527 - Fone: +55 (19) 3241-5793

e-mail: publicacoes@sbcta.org.br

ANEXO C – CARTA DE ACEITE DA REVISTA FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY



Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orgão de Utilidade Pública
Lei Municipal No. 4919 de 31/08/1979 - Fundada em 08/04/1967

Av. Brasil, 2880
Caixa Postal 271
13001-970 - Campinas/SP

C.G.C: 46.113.742/0001-24
Fone/Fax: (019)3241-0527
Fone: (019)3241-5793

Campinas, 06 de Dezembro de 2018

REVISTA - ARTIGO ACEITO

É com satisfação que informamos que o artigo: " **DEVELOPMENT OF SYMBIOTIC YOGHURT AND BIOLOGICAL EVALUATION (NEW ZEALAND WHITE RABBITS) OF ITS FUNCTIONAL PROPERTIES.**, Referência: CTA 206-18 foi aceito para publicação na **Revista Food Science and Technology.**

Autores: ALICE DE SOUZA RIBEIRO (Ribeiro, A.S.)¹, MARITIELE NAISSINGER DA SILVA (Silva, M.N.)², BRUNA LAGO TAGLIAPIETRA (Tagliapietra, B.L.)³, BERILO DE SOUZA BRUM JÚNIOR (Brum Júnior, B.S.)⁴ MARIANE LOBO UGALDE (Ugalde, M.L.)⁵ , NEILA SILVIA PEREIRA DOS SANTOS RICHARDS (Richards, N.S.P.S.)⁶

Atenciosamente,

DIRETORIA DE PUBLICAÇÕES/SBCTA

ANEXO D – NORMAS DA REVISTA CURRENT CHEMICAL BIOLOGY

4.1.1 INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

- [ONLINE MANUSCRIPT SUBMISSION](#)
 - [EDITORIAL POLICIES](#)
- [COPYRIGHT / SELF-ARCHIVING POLICY](#)
 - [MANUSCRIPTS PUBLISHED](#)
 - [MANUSCRIPT PREPARATION](#)
- [DECLARATION OF INTEREST/FUNDING SOURCES](#)
 - [REFERENCES](#)
 - [FIGURES / TABLES](#)
- [AUTHORS AND INSTITUTIONAL AFFILIATIONS](#)
 - [LANGUAGE AND EDITING](#)
 - [PAGE CHARGES](#)
- [OPEN ACCESS PLUS/REPRINTS](#)
 - [ANIMATED ABSTRACTS](#)
 - [SPECIAL DISCOUNTS](#)
- [REVIEWING AND PROMPTNESS OF PUBLICATION](#)
 - [PLAGIARISM PREVENTION](#)
- [GAIN MORE PUBLICATION REACH AND IMPACT VIA KUDOS](#)
 - [E-PUB AHEAD OF SCHEDULE](#)
 - [APPEALS AND COMPLAINTS](#)

4.1.1.1 MANUSCRIPT PREPARATION

The manuscript should be written in English in a clear, direct and active style. All pages must be numbered sequentially, facilitating in the reviewing and editing of the manuscript.

4.1.1.1.1 MICROSOFT WORD TEMPLATE

It is advisable that authors prepare their manuscript using the template available on the Web, which will assist in preparation of the manuscript according to Journal's Format. [Download the Template](#).

4.1.1.1.2 SECTIONS IN MANUSCRIPTS

Manuscripts submitted for research and review articles in the journal should be divided into the following sections:

- Title
- Title Page
- Structured Abstract
- Graphical Abstract
- Keywords
- Text Organization
- Conclusion
- List of Abbreviations (if any)
- Consent for Publication
- Conflict of Interest
- Acknowledgements
- References
- Appendices
- Figures/Illustrations (if any)

- Chemical Structures (if any)
- Tables (if any)
- Supportive/Supplementary Material (if any)

4.1.1.1.2.1 Title

The title of the article should be precise and brief and must not be more than 120 characters. Authors should avoid the use of non-standard abbreviations and question marks in titles. The first letter of each word should be in capital letters except for articles, conjunctions and prepositions.

Authors should also provide a short 'running title'. 'Title, running title, byline, correspondent, footnote and keywords should be written as presented in original manuscripts.'

4.1.1.1.2.2 Title Page

Title page should include paper title, author(s) full name and affiliation, corresponding author(s) names complete affiliation/address, along with phone, fax and email.

4.1.1.1.2.3 Structured Abstract

The abstract of an article should be its clear, concise and accurate summary, having no more than 250 words, and including the explicit sub-headings (as in-line or run-in headings in bold). Use of abbreviations should be avoided and the references should not be cited in the abstract. Ideally, each abstract should include the following sub-headings, but these may vary according to requirements of the article.

- Background
- Objective
- Method
- Results
- Conclusion

4.1.1.1.2.4 Graphical Abstract

A graphic must be included with each manuscript for use in the Table of Contents (TOC). This must be submitted separately as an electronic file (preferred file types are EPS, PDF, TIFF, Microsoft Word, PowerPoint and CDX etc.). A graphical abstract, not exceeding 30 words along with the illustration, helps to summarize the contents of the manuscript in a concise pictorial form. It is meant as an aid for the rapid viewing of the journals' contents and to help capture the readers' attention. The graphical abstract may feature a key structure, reaction, equation, etc. that the manuscript elucidates upon. It will be listed along with the manuscript title, authors' names and affiliations in the contents page, typeset within an area of 5 cm by 17 cm, but it will not appear in the article PDF file or in print.

Graphical Abstracts should be submitted as a separate file (must clearly mention graphical abstract within the file) online via Bentham's Content Management System by selecting the option "supplementary material".

4.1.1.1.2.5 Keywords

6 to 8 keywords must be provided. Choose important and relevant keywords that researchers in your field will be searching for so that your paper will appear in a database search. In biomedical fields, MeSH terms are a good 'common vocabulary' source to draw keywords from <https://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>.

4.1.1.1.2.6 Text Organization

The main text should begin on a separate page and should be divided into separate sections. The manuscript should be divided into title page, abstract and the main text. The text may be subdivided further according to the areas to be discussed, which should be followed by the Acknowledgements and

Reference sections. For Research Articles, the manuscript should begin with the title page and abstract followed by the main text, which must be structured into separate sections as **Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Ethics Approval and Consent to Participate, Human and Animal Rights, Conflict of Interest, Acknowledgements and References**. The review article should mention any previous important recent and old reviews in the field and contain a comprehensive discussion starting with the general background of the field. It should then go on to discuss the salient features of recent developments. The authors should avoid presenting material which has already been published in a previous review. The authors are advised to present and discuss their observations in brief. The manuscript style must be uniform throughout the text and 10 pt Times New Roman fonts should be used. The full term for an abbreviation should precede its first appearance in the text unless it is a standard unit of measurement. The reference numbers should be given in square brackets in the text. Italics should be used for Binomial names of organisms (Genus and Species), for emphasis and for unfamiliar words or phrases. Non-assimilated words from Latin or other languages should also be italicized e.g. *per se, et al. etc.*.

SECTION HEADINGS

Section headings should be numbered sequentially, left aligned and have the first letter capitalized, starting with the introduction. Sub-section headings however, should be in lower-case and italicized with their initials capitalized. They should be numbered as 1.1, 1.2, etc.

INTRODUCTION

The Introduction section should include the background and aims of the research in a comprehensive manner.

MATERIALS AND METHODS

This section provides details of the methodology used along with information on any previous efforts with corresponding references. Any details for further modifications and research should be included.

EXPERIMENTAL

Repeated information should not be reported in the text of an article. A calculation section must include experimental data, facts and practical development from a theoretical perspective.

RESULTS

Results should be precise.

DISCUSSION

This should explore the significance of the results of the work, present a reproducible procedure and emphasis the importance of the article in the light of recent developments in the field. Extensive citations and discussion of published literature should be avoided.

The Results and Discussion may be presented together under one heading of "Results and Discussion". Alternatively, they may be presented under two separate sections ("Results" section and "Discussion" Sections). Short sub- headings may be added in each section if required.

CONCLUSION

A small paragraph summarizing the contents of the article, presenting the final outcome of the research or proposing further study on the subject, may be given at the end of the article under the Conclusion section.

Greek Symbols and Special Characters

Greek symbols and special characters often undergo formatting changes and get corrupted or lost during preparation of manuscript for publication. To ensure that all special characters used are embedded in the text, these special characters should be inserted as a symbol but should not be a result of any format styling (Symbol font face) otherwise they will be lost during conversion to PDF/XML.

Authors are encouraged to consult reporting guidelines. These guidelines provide a set of recommendations comprising a list of items relevant to their specific research design. Chemical equations, chemical names, mathematical usage, unit of measurements, chemical and physical quantity & units must conform to SI and Chemical Abstracts or IUPAC.

All kinds of measurements should be reported only in International System of Units (SI).

Appendices

In case there is a need to present lengthy, but essential methodological details, appendices must be used, which can be a part of the article. An appendix must not exceed three pages (Times New Roman, 10 point fonts, 900 max. words per page). The information should be provided in a condensed form, ruling out the need of full sentences. A single appendix should be titled APPENDIX, while more than one can be titled APPENDIX A, APPENDIX B, and so on.

Supportive/Supplementary Material

We do encourage to append supportive material, for example a PowerPoint file containing a talk about the study, a PowerPoint file containing additional screenshots, a Word, RTF, or PDF document showing the original instrument(s) used, a video, or the original data (SAS/SPSS files, Excel files, Access Db files *etc.*) provided it is inevitable or endorsed by the journal's Editor.

Supportive/Supplementary material intended for publication must be numbered and referred to in the manuscript but should not be a part of the submitted paper. In-text citations as well as a section with the heading "Supportive/Supplementary Material" before the "References" section should be provided. Here, list all Supportive/Supplementary Material and include a brief caption line for each file describing its contents.

Any additional files will be linked to the final published article in the form supplied by the author, but will not be displayed within the paper. They will be made available in exactly the same form as originally provided only on our Web site. Please also make sure that each additional file is a single table, figure or movie (please do not upload linked worksheets or PDF files larger than one sheet). Supportive/Supplementary material must be provided in a single zipped file not larger than 4 MB.

Authors must clearly indicate if these files are not for publication but meant for the reviewers'/editors' perusal only.

List of Abbreviations

If abbreviations are used in the text either they should be defined in the text where first used, or a list of abbreviations can be provided.