



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

MARIA DE FÁTIMA GOMES DA SILVA

DESENVOLVIMENTO DE UMA ROTA TECNOLÓGICA PARA OBTENÇÃO DE
UM PRODUTO FUNCIONAL DE YACON E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE
HUMANA

FORTALEZA

2017

MARIA DE FÁTIMA GOMES DA SILVA

DESENVOLVIMENTO DE UMA ROTA TECNOLÓGICA PARA OBTENÇÃO DE UM
PRODUTO FUNCIONAL DE YACON E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE HUMANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Dorasilvia Ferreira Pontes.

Coorientadora: Dra. Ana Paula Dionísio.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S581d Silva, Maria de Fátima Gomes da.

Desenvolvimento de uma rota tecnológica para a obtenção de um produto funcional de yacon e suas implicações na saúde humana / Maria de Fátima Gomes da Silva. – 2017.

149 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Dorasilvia Ferreira Pontes.

Coorientação: Profa. Dra. Ana Paula Dionísio.

1. Xarope de yacon. 2. Frutooligossacarídeos. 3. Ácido clorogênico. 4. Microfiltração em membranas. 5. Maceração enzimática. I. Título.

CDD 664

MARIA DE FÁTIMA GOMES DA SILVA

DESENVOLVIMENTO DE UMA ROTA TECNOLÓGICA PARA OBTENÇÃO DE UM
PRODUTO FUNCIONAL DE YACON E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE HUMANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 18/04/2017.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Dorasilvia Ferreira Pontes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Ana Paula Dionísio (Coorientadora)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Dr. Fernando Antonio Pinto de Abreu
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Profa. Dra. Sueli Rodrigues
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Lorena Mara Alexandre e Silva
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Profa. Dra. Ana Carolina da Silva Pereira
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Profa. Dra. Luciana de Siqueira Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus queridos pais, Pedro e Neusa.

Ao meu esposo, Carlos.

A minha florzinha, Yanni.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pelo dom da vida, por poder acreditar que tudo o que acontece em minha vida é fruto do seu amor e bondade, principalmente, por sempre ter colocado pessoas maravilhosas em minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, pela formação acadêmica e pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa, viabilizando meus estudos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pelo financiamento do projeto e pela estrutura, que possibilitaram a realização deste trabalho.

À minha orientadora Profa. Dra. Dorasilvia Ferreira pontes, pela valiosa amizade, por sua orientação compreensiva, respeitosa e apoiadora, pela sua disponibilidade, mesmo em período de férias, e incentivo que foram fundamentais para realizar e prosseguir o desenvolvimento desse trabalho.

À minha coorientadora Dra. Ana Paula Dionísio, não só pela notável coorientação científica e pelos seus ensinamentos, mas, particularmente, pelo permanente incentivo, disponibilidade e amizade demonstrada. A confiança que sempre me transmitiu e a ajuda constante e incansável, especialmente nos momentos mais difíceis, permitiram-me continuar a acreditar no sucesso desta tese, fazendo com que o trabalho que hoje aqui se apresenta seja atual e de importância prática incontestável, para além do interesse acadêmico.

Ao Dr. Fernando Antonio Pinto de Abreu, pelos ensinamentos, incentivo, confiança e apoio desde minha graduação, por orientar-me também com sugestões úteis para minha formação pessoal e profissional.

A todos os professores do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, pelos conhecimentos transmitidos.

À Profa. Dra. Sueli Rodrigues, por participar da banca examinadora, contribuindo imensamente para a qualidade deste trabalho e também pela disponibilidade e apoio nas análises de frutooligossacarídeos.

À Profa. Dra. Ana Carolina da Silva Pereira, por participar da banca examinadora, pela imprescindível ajuda e solidariedade que se traduziram sempre em muita presteza e pela preciosa amizade.

À Dra. Lorena Mara Alexandre e Silva, por participar da banca examinadora e por todos os valiosos comentários, sugestões e correções, além de todo o apoio e auxílio na realização das técnicas analíticas.

A Luciana de Siqueira Oliveira por participar da banca examinadora, contribuindo com a qualidade deste trabalho.

À Claudia Oliveira, Ídila Araújo, Márcia Silveira e Natália Moura pela amizade, generosidade e presteza que sempre pude contar quando necessário ao longo desse trabalho.

Ao Augusto Carioca e à Lia Adriano, pela amizade e imprescindível disponibilidade e ajuda nos testes clínicos.

Ao Paulo Riceli e Wesley Gomes, pela amizade, ajuda e colaboração relevante e, particularmente, pelos ensinamentos prestados no âmbito das técnicas analíticas.

A todos os voluntários que contribuíram com este trabalho ao participarem dos testes clínicos e das análises sensoriais, pela disponibilidade, pela confiança e pela generosidade acima de tudo.

A toda a minha família, em que cada um, à sua maneira, contribuiu decisivamente para que este meu projeto pessoal se tornasse realidade.

Ao Carlos, meu esposo, que sempre me estimula a crescer científica e pessoalmente. Por todo apoio, companheirismo, paciência, incentivo, ajuda inigualável e exemplo de amor durante todo esse trabalho. Acima de tudo, pelo inestimável apoio familiar que preencheu as diversas falhas que fui tendo por força das circunstâncias.

À Yanni, minha amada filhinha, que viveu intensamente essa fase da minha vida, incentivando-me com o seu sorriso diário.

Aos companheiros do Laboratório de Processos Agroindustriais pela amizade, bom ambiente de trabalho, sugestões e trocas de conhecimentos e auxílio na execução das análises, especialmente a Ana Carolina Viana.

Há muito mais a quem agradecer, pois realizar um trabalho de pesquisa pressupõe, entre outras coisas, contrair muitas dívidas de gratidão. A todos os que me apoiaram e compartilharam desta trajetória o meu reconhecimento.

“E Não se pode criar experiência. É preciso passar por ela”.

(Albert Camus)

“E sabemos que todas as coisas contribuem juntamente para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito”.

(Romanos 8:28)

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi definir uma rota tecnológica para um produto inovador e versátil de yacon, rico em frutooligossacarídeos (FOS) prebióticos e compostos fenólicos, e as implicações do consumo deste produto funcional na saúde humana, por meio de ensaios clínicos. Inicialmente, o método de superfície de resposta foi empregado para otimizar os principais parâmetros do processo de obtenção do suco clarificado de yacon. Para isso, utilizaram-se enzimas pectinolíticas e celulolíticas, agitação e temperatura como variáveis independentes do processo, sob 13 respostas dependentes (características físico-químicas, químicas e fluxo de permeado na clarificação por microfiltração). Os resultados indicaram que nas condições otimizadas, o fluxo de permeado obtido foi cerca de 40% maior do que o fluxo de permeado da polpa de yacon sem tratamento enzimático, tornando-se um material límpido com baixa turbidez ($5,09 \pm 0,08$ NTU) e níveis elevados de FOS ($2,23 \pm 0,47\%$; $2,33 \pm 0,09\%$; $1,44 \pm 0,11\%$, para GF₂, GF₃ e GF₄, respectivamente) e ácido clorogênico (ACG) ($23,92 \pm 2,03 \mu\text{g g}^{-1}$). Posteriormente, o suco clarificado foi utilizado para obtenção de xarope de yacon e sua caracterização foi realizada por diversas técnicas analíticas, incluindo RMN e UPLC-QToF-MS^E. O xarope apresentou elevada concentração de FOS e ACG, além de apresentar elevados teores de elementos minerais, tais como K, Ca e P. Aminoácidos essenciais como a valina, treonina e triptofano também foram observados. Dentre os 25 compostos tentativamente identificados, ressaltam-se os principais compostos fenólicos derivados do ácido quínico e trans-cinâmicos como ACG, ácido dicafeoilquínico e ésteres de ácido caféico. A influência das diferentes etapas de processamento do xarope de yacon no perfil de fenólicos, e na composição de FOS e ACG também foi avaliada. Os resultados demonstraram que não houve influência nos conteúdos de FOS e ACG nas etapas de processamento (sendo elas, polpa, maceração enzimática e microfiltração), exceto para a última etapa (concentração a vácuo), que esses compostos apresentaram uma concentração cerca de 6 vezes maior do que a concentração encontrada na polpa de yacon. Para avaliar as potenciais aplicações do xarope de yacon em alimentos, utilizou-se um grupo focal. Dentre as observações realizadas pelo grupo, destacou-se a sua aplicação em iogurte. O iogurte adicionado do xarope de yacon apresentou valores hedônicos superiores a 7,0 para aceitação global, aroma e sabor, correspondendo a "gostei moderadamente" a "gostei muito", e 64% dos provadores indicaram atitude positiva para a compra do produto. Para avaliação dos efeitos do consumo do xarope de yacon sob a saciedade de indivíduos saudáveis, utilizou-se teste de escala visual (*visual analogue scale* – VAS) em ensaios de curta (1 dia) e média (15 dias) duração. Os resultados demonstraram que houve

efeito no tratamento na saciedade e plenitude após estratificação por sexo, sendo estatisticamente significativa ($P < 0,05$) somente para mulheres após 15 dias de consumo do xarope de yacon. Por fim, ensaios clínicos foram realizados para avaliação do impacto do consumo diário (totalizando 15 dias) do xarope de yacon no metabolismo glicêmico, lipídico e inflamatório de indivíduos saudáveis, além de hormônios relativos à saciedade, como grelina e GLP-1. Os resultados não revelaram diferenças significativas ($P > 0,05$) nos índices avaliados durante o período de 15 dias, porém foi observada uma tendência, embora não significativa, no aumento do hormônio GLP-1 durante o período avaliado. Desta forma, o produto obtido se mostrou diferenciado do ponto de vista nutricional e funcional, respondendo a um nicho de mercado ávido por produtos inovadores na área de alimentos funcionais, e o processo tecnológico utilizado foi adequado para a obtenção de um produto de elevada qualidade.

Palavras-chave: Xarope de yacon. Frutooligossacarídeos. Ácido clorogênico. Microfiltração em membranas. Maceração enzimática.

ABSTRACT

The objective of this research was to define a technological route for an innovative and versatile product of yacon, rich in prebiotic fructooligosaccharides (FOS) and phenolic compounds, and the implications of functional product consumption in human health, through clinical trials. Initially, the Response Surface method was used to optimize the main process parameters of obtaining yacon clarified juice. For this, pectinolytic and cellulolytic enzymes, agitation and temperature were used as independent variables of the process, under 13 dependent responses (physic-chemical, chemical and permeate flux in the clarification by microfiltration). The results indicated that in the optimized conditions the permeate flux obtained was about 40% higher than the permeate flux of yacon pulp without enzymatic treatment, becoming a transparent material with low turbidity (5.09 ± 0.08 NTU) and high levels of fructooligosaccharides ($2.23 \pm 0.47\%$; $2.33 \pm 0.09\%$; $1.44 \pm 0.11\%$, for GF₂, GF₃ and GF₄, respectively) and chlorogenic acid ($23.92 \pm 2.03 \mu\text{g g}^{-1}$) were obtained. Subsequently, the clarified juice was used to obtain yacon syrup and its characterization was carried out employing several analytical techniques, including NMR and UPLC-QToF-MS^E. The syrup had a high concentration of FOS and CGA, in addition to presenting high levels of mineral elements, such as K, Ca and P. Essential amino acids such as valine, threonine, and tryptophan were also observed. Among the 25 compounds tentatively identified, the main phenolic compounds derived from quinic and trans-cinnamic acids such as CGA, dicaffeoylquinic acid and esters are highlighted. The influence of the different processing steps of yacon syrup on the phenolic profile, and on the composition of FOS and CGA was also evaluated. The results showed that there was no influence on the contents of FOS and CGA in the processing steps (pulp, enzymatic maceration and microfiltration), except for the last step (vacuum concentration), that these compounds presented a concentration about six times higher than the concentration found in yacon pulp. To evaluate the potential applications of yacon syrup in foods, a focal group was used. Among the observations made by the group, its application in yogurt stood out. Yogurt added yacon syrup showed hedonic values higher than 7.0 for global acceptance, appearance, aroma, and flavor, corresponding to "liked very much" the "liked moderately", and 64% of the tasters indicated a positive attitude for the purchase of the product. To evaluate the effects of yacon syrup consumption on the satiety of healthy subjects, a visual analogue scale (VAS) test was used in short (1 day) and medium duration (15 days) trials. The results showed that there was treatment effect on "satiety" and "fullness" after stratification by sex, being statistically significant ($P < 0.05$) only for women after 15 days of consumption of

yacon syrup. Finally, clinical trials were conducted to evaluate the impact of daily consumption (totaling 15 days) of yacon syrup on the glycemic, lipid and inflammatory metabolism of healthy individuals, as well as hormones related to satiety such as ghrelin and GLP- 1. The results did not reveal significant differences ($P > 0.05$) in the indices evaluated during the study, but a tendency, although not significant, was observed in the increase of the GLP-1 hormone during the period evaluated. In this way, the product obtained was differentiated from a nutritional and functional point of view, responding to a market niche avid for innovative products in the area of functional foods, and the technological process used was suitable for obtaining a high-quality product.

Keywords: Yacon syrup. Fructooligosaccharides. Chlorogenic acid. Microfiltration in membranes. Enzymatic maceration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

- Figura 1 – Parte aérea (folhas e inflorescências) do yacon – (A); parte subterrânea do yacon – (B); aparência externa e interna da raiz do yacon – (C)..... 24
- Figura 2 – Estrutura química dos três principais frutooligossacarídeos (GF₂-GF₄)..... 27
- Figura 3 – Consumo de raiz de yacon e benefícios de promoção da saúde do FOS..... 27
- Figura 4 – Estrutura química do ácido clorogênico..... 28
- Figura 5 – Curva típica de declínio do fluxo de permeado..... 31
- Figura 6 – Descrição esquemática dos mecanismos de *fouling* durante o processo de separação por membranas..... 31
- Figura 7 – Potenciais benefícios dos prebióticos para a saúde..... 34
- Figura 8 – Benefícios para a saúde de derivados do ácido cinâmico em várias doenças..... 35

CAPÍTULO 2

- Figura 1 – Aparência das raízes de yacon intactas – (A); raízes cortadas em cubos – (B); raízes trituradas – (C)..... 46
- Figura 2 – Superfície de resposta e curva de contorno do ácido clorogênico em função de Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L – (A); Pectinex[®] Ultra SP-L e Temperatura – (B); Pectinex[®] Ultra SP-L e Agitação – (C); Celluclast[®] 1.5 L e Temperatura – (D); Celluclast[®] 1.5 L e Agitação – (E); Temperatura e Agitação – (F)..... 55
- Figura 3 – Superfície de resposta e curva de contorno do fluxo de permeado em função de Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L – (A); Pectinex[®] Ultra SP-L e Temperatura – (B); Celluclast[®] 1.5 L e Temperatura – (C)..... 57

CAPÍTULO 3

- Figura 1 – Aparência das diferentes etapas da produção do xarope de yacon. Polpa de yacon – (A); yacon macerado – (B); yacon microfiltrado – (C); xarope de yacon – (D)..... 73

Figura 2	–	Detalhe do processamento do xarope de yacon desenvolvido por Manrique, Párraga e Hermann (2005), concentração do pré-xarope em pequenas bandejas entre 68 e 70 °Brix – (A). Algumas marcas de xaropes de yacon comercializados em Lima, Peru – (B).....	75
Figura 3	–	Espectro de RMN de ¹ H do xarope de yacon, mostrando os sinais dos compostos identificados.....	79
Figura 4	–	Cromatograma de corrente iônica total do xarope de yacon em modo negativo de ionização.....	80
Figura 5	–	Cromatograma de corrente iônica total das etapas da produção do xarope de yacon em modo negativo de ionização. Polpa de yacon – (A); yacon macerado – (B); yacon microfiltrado – (C); xarope de yacon – (D).....	87

CAPÍTULO 4

Figura 1	–	Refeição padronizada (café da manhã) servida aos voluntários no teste de saciedade. Sanduiche com queijo e presunto – (A); porção de xarope de yacon – (B); iogurte natural integral – (C).....	106
Figura 2	–	Distribuição percentual da intenção de compra (5 = certamente compraria, 3 = talvez compraria/talvez não compraria e 1 = certamente não compraria) do iogurte adicionado de xarope de yacon.....	110
Figura 3	–	Distribuição percentual da doçura e acidez do iogurte adicionado de xarope de yacon (5 = muito mais do que o ideal, 3 = ideal e 1 = muito menos do que o ideal) do iogurte adicionado de xarope de yacon.....	111
Figura 4	–	Variação dos parâmetros “fome”, “saciedade”, “plenitude” e “consumo potencial de alimentos” no jejum (T0) e após o consumo de café da manhã com xarope de yacon (G1) ou placebo (G2) (T30, T60, T120 e T180 min) depois do período de intervenção de 15 dias de xarope de yacon (G1) e de controle (G2), em voluntários saudáveis.....	113
Figura 5	–	Variação dos parâmetros de “fome”, “saciedade”, “plenitude” e “consumo potencial de alimentos” no jejum (T0) e após o consumo de café da manhã (T30, T60, T120 e T180 min) depois do consumo de	

	xarope de yacon (G3) e placebo (G4), em voluntários saudáveis.....	113
Figura 6 –	Varição dos parâmetros de "saciedade" e "plenitude" no jejum (T0) e após o consumo de café da manhã (T30, T60, T120 e T180 min) depois do período de intervenção de 15 dias de xarope de yacon (Grupo 1) e controle (G2), em mulheres saudáveis (n = 10).....	114
CAPÍTULO 5		
Figura 1 –	Sachês (porções de 40 g) de xarope utilizados durante o estudo.....	124

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1	–	Composição das raízes de yacon, em peso seco.....	25
Tabela 2	–	Conteúdo de aminoácidos totais em yacon, em peso seco.....	25
Tabela 3	–	Composição de carboidratos em yacon, em peso seco.....	26

CAPÍTULO 2

Tabela 1	–	Variáveis e níveis avaliados no DCCR.....	47
Tabela 2	–	Caracterização das atividades das preparações enzimáticas comerciais.....	50
Tabela 3	–	Matriz do delineamento composto central rotacional (DCCR) e resultados experimentais após as diferentes condições de tratamento enzimático.....	52
Tabela 4	–	Coefficientes de regressão para as respostas ácido clorogênico e fluxo de permeado na maceração enzimática do yacon.....	53
Tabela 5	–	Análises de variância do modelo quadrático para as variáveis ácido clorogênico e fluxo de permeado do planejamento experimental.....	54

CAPÍTULO 3

Tabela 1	–	Caracterização do xarope de yacon.....	74
Tabela 2	–	Constituintes tentativamente identificados no xarope de yacon, usando o modo negativo ESI.....	81
Tabela 3	–	Conteúdo de ácido clorogênico (ACG) e frutooligossacarídeos (FOS) nas etapas da produção de xarope de yacon.....	88

CAPÍTULO 4

Tabela 1	–	Caracterização do xarope de yacon.....	107
Tabela 2	–	Especificações de propriedades microbiológicas para o xarope de yacon.....	108
Tabela 3	–	Lista de frequências dos descritores nomeados pelos avaliadores durante a sessão do grupo focal do xarope de yacon.....	109
Tabela 4	–	Caracterização do iogurte (controle) e do iogurte adicionado de xarope de yacon.....	110

Tabela 5	–	Comparação dos tratamentos (placebo e xarope de yacon) para o teste A (intervenção de 15 dias, e uma refeição <i>buffet</i> de livre escolha).....	112
----------	---	--	-----

CAPÍTULO 5

Tabela 1	–	Características pré-tratamento dos voluntários programados para participar do estudo.....	127
Tabela 2	–	Dados clínicos dos indivíduos antes e após 15 dias de tratamento com xarope de yacon ou com placebo.....	127
Tabela 3	–	Níveis séricos de glicemia, insulina, lípidos e lipoproteínas e indicadores inflamatórios em jejum antes e após 15 dias de tratamento com xarope de yacon ou com placebo.....	128

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACG	Ácido clorogênico
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGE	Ácido gálico equivalente
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Apo-B	Apolipoproteínas B
A _w	Atividade de água
CC	Circunferência da cintura
DCCR	Delineamento composto central rotacional
DM	Destilação por membrana
DO	Destilação osmótica
FOS	Frutooligossacarídeos
GF ₂	1-kestose
GF ₃	Nistose
GF ₄	1F- β -frutofuranosil-nistose
GLP-1	<i>Glucagon-like peptide-1</i>
HDL	<i>High-density lipoprotein</i>
IMC	Índice de massa corporal
LC-PDA	Cromatografia líquida acoplada a um detector de fotodiodos
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i>
LPS	Lipopolissacarídios
MF	Microfiltração
NF	Nanofiltração
NMP	Número mais provável
PCR-us	Proteína C-reativa ultrasensível
PPO	Polifenoloxidasas
PubChem CID	Código de identificação da estrutura química de compostos
RCQ	Relação cintura-quadril
UF	Ultrafiltração
UFC	Unidade formadora de colônia
VAS	<i>Visual analogue scale</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
	CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA	24
1.1	Yacon: fonte de compostos bioativos de elevado interesse industrial.....	24
1.2	Tecnologia de membranas para concentração de compostos de interesse.....	29
1.3	Ensaio clínico para comprovação de alegações de propriedades funcionais e ou de saúde em alimentos.....	32
	REFERÊNCIAS	37
	CAPÍTULO 2: OTIMIZAÇÃO DO TRATAMENTO ENZIMÁTICO PARA PRODUÇÃO DE SUCO CLARIFICADO DE YACON POR MICROFILTRAÇÃO COM ELEVADAS CONCENTRAÇÕES DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS E ÁCIDO CLOROGÊNICO.....	42
	RESUMO.....	42
	ABSTRACT	43
2.1	Introdução.....	44
2.2	Material e métodos	45
2.2.1	<i>Químicos e reagentes.....</i>	45
2.2.2	<i>Yacon.....</i>	45
2.2.3	<i>Otimização de experimentos: uso de complexos enzimáticos para a maceração de yacon.....</i>	46
2.2.4	<i>Planejamento experimental.....</i>	46
2.2.5	<i>Métodos de análises</i>	47
2.2.5.1	<i>Caracterização das preparações enzimáticas comerciais</i>	47
2.2.5.2	<i>Turbidez e cor.....</i>	48
2.2.5.3	<i>Açúcares totais e redutores, e sólidos solúveis.....</i>	48
2.2.5.4	<i>Caracterização do grau de polimerização dos frutooligossacarídeos e açúcares simples.....</i>	48
2.2.5.5	<i>Ácido clorogênico.....</i>	49
2.2.5.6	<i>Fluxo de permeado</i>	49
2.2.6	<i>Caracterização do suco de yacon clarificado após otimizado do processo.....</i>	50
2.3	Resultados e discussão.....	50
2.3.1	<i>Caracterização das preparações enzimáticas comerciais.....</i>	50
2.3.2	<i>Otimização do processo</i>	51

2.3.3	<i>Tratamento otimizado e testes confirmativos</i>	58
2.4	Conclusões	59
REFERÊNCIAS		60
CAPÍTULO 3: XAROPE DE YACON: CARACTERIZAÇÃO E EFEITO NAS ETAPAS DE PROCESSAMENTO NOS CONTEÚDOS DE ÁCIDO CLOROGÊNICO E FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS		64
RESUMO		64
ABSTRACT		65
3.1	Introdução	66
3.2	Material e métodos	67
3.2.1	<i>Químicos e reagentes</i>	67
3.2.2	<i>Yacon</i>	67
3.2.3	<i>Elaboração do xarope de yacon</i>	68
3.2.4	<i>Métodos de análises</i>	68
3.2.4.1	<i>Frutooligossacarídeos (FOS) totais e açúcares simples</i>	68
3.2.4.2	<i>Polifenóis totais e atividade antioxidante total (ABTS e FRAP)</i>	68
3.2.4.3	<i>Ácido clorogênico</i>	69
3.2.4.4	<i>Composição centesimal</i>	69
3.2.4.5	<i>Composição mineral</i>	70
3.2.4.6	<i>Atividade de água, pH, sólidos solúveis, turbidez e cor</i>	70
3.2.4.7	<i>Análises de metabólitos primários por RMN</i>	71
3.2.4.8	<i>Análises por UPLC-ESI-QToF-MS^E</i>	71
3.2.4.9	<i>Análises por cromatografia em camada delgada (CCD) dos graus de polimerização dos FOS</i>	72
3.2.5	<i>Avaliação dos efeitos de processamento nas diferentes etapas de elaboração do xarope de yacon</i>	72
3.3	Resultados e discussões	73
3.3.1	<i>Caracterização química, físico-química e de componentes funcionais do xarope de yacon</i>	73
3.3.2	<i>Análise não alvo de metabólitos do xarope de yacon através de RMN</i>	78
3.3.3	<i>Análises do xarope de yacon por UPLC-ESI-QToF-MS^E</i>	80
3.3.4	<i>Efeito nas diferentes etapas do processamento no perfil de compostos fenólicos, e concentração de ácido clorogênico e frutooligossacarídeos</i>	86
3.3.4.1	<i>Perfil de compostos fenólicos</i>	86

3.3.4.2	<i>Concentração de ácido clorogênico e frutooligossacarídeos</i>	88
3.4	Conclusões	89
	REFERÊNCIAS	90
	CAPÍTULO 4: XAROPE DE YACON: APLICAÇÃO EM ALIMENTOS E IMPACTO NA SACIEDADE EM VOLUNTÁRIOS SAUDÁVEIS	98
	RESUMO	98
	ABSTRACT	99
4.1	Introdução	100
4.2	Material e métodos	101
4.2.1	<i>Elaboração do xarope de yacon</i>	101
4.2.2	<i>Métodos de análises</i>	101
4.2.2.1	<i>Cor</i>	101
4.2.2.2	<i>Atividade de água, açúcares totais e redutores, e sólidos solúveis</i>	101
4.2.2.3	<i>pH e acidez titulável</i>	102
4.2.2.4	<i>Composição centesimal</i>	102
4.2.2.5	<i>Frutooligossacarídeos</i>	102
4.2.2.6	<i>Polifenóis totais</i>	102
4.2.2.7	<i>Análises microbiológicas</i>	103
4.2.3	<i>Análises sensoriais</i>	103
4.2.3.1	<i>Grupo focal</i>	103
4.2.3.2	<i>Aceitabilidade de iogurte natural integral adicionado de xarope de yacon</i>	104
4.2.4	<i>Caracterização do iogurte (controle) e do iogurte adicionado de xarope de yacon</i>	104
4.2.5	<i>Estudo piloto: efeito na fome/saciedade em voluntários saudáveis</i>	104
4.2.5.1	<i>Modelo experimental: período de intervenção de 15 dias de xarope de yacon (Teste A)</i>	105
4.2.5.2	<i>Modelo experimental: período de intervenção de 1 dia de xarope de yacon (Teste B)</i>	106
4.2.6	<i>Análise estatística</i>	106
4.3	Resultados e discussão	107
4.3.1	<i>Caracterização do xarope de yacon</i>	107
4.3.2	<i>Grupo focal, aceitação sensorial e caracterização</i>	108
4.3.3	<i>Efeito do xarope de yacon na saciedade em voluntários saudáveis</i>	112
4.4	Conclusões	115

REFERÊNCIAS	116
CAPÍTULO 5: EFEITO DO XAROPE DE YACON NO APETITE E NO PERFIL GLICÊMICO, LIPÍDICO E INFLAMATÓRIO: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO CONTROLADO	120
RESUMO.....	120
ABSTRACT	121
5.1 Introdução.....	122
5.2 Material e métodos	123
5.2.1 População e delineamento.....	123
5.2.2 Elaboração dos produtos.....	123
5.2.3 Coleta de dados e análises bioquímicas	124
5.2.4 Avaliações demográficas e antropométricas.....	124
5.2.5 Coleta de sangue.....	125
5.2.6 Perfil glicêmico e lipídico	125
5.2.7 Biomarcadores de apetite e inflamação	126
5.2.8 Avaliação dos efeitos gastrointestinais	126
5.2.9 Análise de dados	126
5.3 Resultados e discussão.....	126
5.4 Conclusões.....	131
REFERÊNCIAS	132
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	134
APÊNDICES	136
ANEXOS	146

1 INTRODUÇÃO

A preocupação crescente da população com a melhoria da qualidade de vida e saúde tem estimulado o aumento na demanda de produtos alimentares que apresentem componentes que influenciam atividades fisiológicas ou metabólicas, ou que sejam enriquecidos com substâncias isoladas de alimentos que possuam uma destas propriedades. Diversos são os alimentos que apresentam benefícios à saúde devido a compostos bioativos ali presentes naturalmente, como por exemplo, o yacon.

O yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] é uma raiz tuberosa de origem andina que tem atraído à atenção mundial, sendo cultivada em diferentes países, inclusive no Brasil. Esse interesse se dá devido as suas propriedades com potencial de promoção da saúde, incluindo efeitos prebiótico, antidiabético, antioxidantes, antimicrobianos, dentre outros. Esses efeitos são advindos principalmente devido ao seu elevado teor de oligossacarídeos não digeríveis, tais como os frutooligosacarídeos (FOS), bem como compostos fenólicos, principalmente o ácido clorogênico (ACG).

O processo de digestão envolve uma série de etapas, que incluem desde a mastigação até a absorção dos nutrientes na corrente sanguínea. Carboidratos não disponíveis, como os FOS, têm mostrado efeitos positivos na regulação da fome e da saciedade, desempenhando importante papel na regulação dos níveis hormonais associados a esses parâmetros. De uma forma geral, o controle da ingestão de alimentos é realizado por vias de sinalização que provêm do trato gastrointestinal, através de peptídeos orexígenos como a grelina, que provocam sinais de fome, e peptídeos anorexígenos, como o *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), que geram sinais de saciedade. Além disso, os FOS têm mostrado efeitos benéficos no controle de níveis plasmáticos de glicose, insulina e lipídios, especialmente em indivíduos diabéticos ou obesos, onde ocorre um desbalanço nos níveis destes parâmetros bioquímicos.

Por apresentar diversos compostos importantes do ponto de vista funcional, o yacon tem atraído cada vez mais o interesse da população, sendo uma interessante estratégia para a manutenção da saúde de indivíduos saudáveis, assim como pode vir a propiciar efeitos benéficos em indivíduos obesos e diabéticos, ocasionados principalmente pelo seu consumo prolongado. Levando-se em consideração o aumento crescente no número de obesidade e diabetes no Brasil e no mundo, o estímulo no consumo de produtos que possam apresentar benefícios no controle e/ou prevenção destas doenças – como no caso, os derivados de yacon impulsiona a indústria para o desenvolvimento de produtos inovadores ricos nestes

componentes bioativos, e pode vir a tornar-se de fundamental importância para políticas de saúde pública.

Do ponto de vista industrial, os compostos funcionais presentes no yacon se encontram em baixas concentrações na matriz *in natura*. Uma vez que o yacon é uma cultura sazonal, é importante a criação de alternativas de processamento que prolonguem a estabilidade e a disponibilidade deste alimento. A tecnologia de membranas associada ao uso de enzimas e a concentração dos compostos bioativos do yacon (incluindo FOS e ACG), na transformação industrial e no aproveitamento dessa matéria-prima, é uma alternativa promissora, a fim de aproveitar as potencialidades desse alimento e diversificação da aplicação do produto. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi definir uma rota tecnológica para o desenvolvimento de um produto inovador e versátil de yacon, rico em frutooligossacarídeos prebióticos e compostos fenólicos, e as implicações do consumo deste produto funcional na saúde humana, por meio de ensaios clínicos.

Para a elaboração desta tese, o trabalho de pesquisa foi dividido em cinco capítulos. O primeiro capítulo trata da revisão de literatura, onde é abordado os principais temas envolvidos no trabalho, focando nos principais componentes bioativos do yacon, assim como nos processos de separação por membranas associado ao uso de tratamento enzimático no aumento de rendimento e concentração de compostos de interesse. Por último, a relação entre o consumo de alimentos funcionais e possíveis efeitos benéficos à saúde, com ênfase nos benefícios dos FOS e compostos fenólicos e sua relação com o apetite e com o metabolismo glicêmico, lipídico e inflamatório também é abordado.

O segundo capítulo descreve o estudo desenvolvido para a otimização do aumento do rendimento da polpa de yacon e manutenção dos níveis de FOS e ACG, utilizando um delineamento composto central rotacional (DCCR) com 4 variáveis independentes e 13 respostas. A partir destes resultados, foi definido uma rota tecnológica para o processamento do yacon por maceração enzimática, seguida de microfiltração por membranas, possibilitando a clarificação desse material, com manutenção dos componentes bioativos do yacon.

A partir do material clarificado, optou-se por concentrar seus componentes funcionais utilizando-se a concentração a vácuo, obtendo-se um xarope rico em FOS e compostos fenólicos, especialmente o ACG. Neste sentido, o terceiro capítulo apresenta a caracterização do xarope de yacon por meio de diversas técnicas analíticas, incluindo RMN e UPLC-QToF-MS^E, assim como também avalia a influência das diferentes etapas de processamento do xarope de yacon na composição de FOS, ACG e no perfil de fenólicos.

Com foco na aplicação do xarope de yacon em alimentos, o quarto capítulo trata das avaliações sensoriais realizadas através de grupo focal para indicações do uso do xarope de yacon. Posteriormente, foram realizadas análise de aceitação sensorial desse produto por consumidores potenciais, bem como um estudo piloto de curto e médio prazo para avaliar a fome e a saciedade advinda com o consumo do produto por indivíduos saudáveis.

Por fim, o quinto e último capítulo apresenta os ensaios clínicos de média duração com humanos saudáveis, onde foram avaliados o impacto do consumo de xarope de yacon em diversos parâmetros bioquímicos e hormonais, com foco nos peptídeos orexígenos e anorexígenos relacionados a fome e saciedade, bem como em marcadores de inflamação, utilizando estudo do tipo ensaio clínico randomizado controlado por placebo.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Yacon: fonte de compostos bioativos de elevado interesse industrial

O yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] (Figura 1), anteriormente conhecido como *Polymnia sonchifolia* ou *Polymnia edulis*, é uma planta perene da família *Asteraceae*, a mesma família do girassol, que forma raízes tuberosas subterrâneas que variam muito em tamanho e forma (IBAÑEZ *et al.*, 2017).

Figura 1 – Parte aérea (folhas e inflorescências) do yacon – (A); parte subterrânea do yacon – (B); aparência externa e interna da raiz do yacon – (C)



Fonte: Adaptado de <<http://www.versvancees.nl/product/vergeten-groenten/appel-wortel-yacon-vergeten>>.

Originário da região andina, América do Sul, o yacon tem suas raízes comumente cultivadas e consumidas desde o período da cultura pré-Inca, porém também tem sido cultivado com sucesso em diferentes regiões mundiais, sendo introduzido no Brasil na década de 90 (ERLACHER *et al.*, 2016; FRANCO *et al.*, 2016).

As raízes de yacon possuem aparência semelhante a algumas variedades de batata-doce. Contudo, possuem sabor semelhante ao de frutas, como maçã e melão, apresentando polpas levemente amareladas (devido à presença de carotenoides), além de serem crocantes e aquosas. Nos países de origem, a raiz de yacon é considerada fruta, sendo comercializada em feiras e geralmente consumida *in natura* (CAETANO *et al.*, 2016; DELGADO *et al.*, 2013; SOUSA *et al.*, 2015).

De acordo com Delgado *et al.* (2013), raízes frescas de yacon têm um teor de 69-83% de umidade, 0,4-2,2% de proteína, e 20% de açúcares. As raízes de yacon apresentam uma composição com teor considerável de proteínas, fibras, carboidratos e pequenas quantidades de vitaminas e minerais e nenhum amido. Os minerais mais abundantes em yacon são cálcio e potássio, conforme pode ser visualizado na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição das raízes de yacon, em peso seco

Componentes	Conteúdo (%)
Umidade	8,02– 7,49
Proteínas	2,45 – 6,48
Lipídios	0,31 – 0,87
Cinzas	2,53 – 3,85
Fibra insolúveis	3,46-11,79
Carboidratos*	82,16-86,13
Cálcio	0,022 – 0,083
Potássio	0,040 – 0,062

*Estimado por diferença.

Fonte: Adaptado de Delgado *et al.* (2013).

Kim *et al.* (2010), investigando as propriedades físico-químicas e funcionais de yacon, em peso seco, encontraram apenas 2 tipos de ácidos graxos: o ácido palmítico ($51,72 \pm 0,47\%$) e o ácido láurico ($48,28 \pm 0,65\%$). No mesmo estudo, encontraram 17 tipos de aminoácidos, conforme a Tabela 2. Os aminoácidos essenciais foram responsáveis por 28,40% dos aminoácidos totais, enquanto que os aminoácidos não essenciais representaram 73,61%. O aminoácido essencial triptofano foi determinado por Yan *et al.* (1999) em tubérculos de yacon ($14,6 \pm 7,1 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso fresco).

Tabela 2 – Conteúdo de aminoácidos totais em yacon, em peso seco

Aminoácidos	%	Conteúdo (mg 100 ⁻¹ g)
Valina	4,65	21,77 ± 0,08
Leucina	3,71	17,35 ± 1,25
Metionina	0,76	3,54 ± 0,04
Treonina	3,65	17,06 ± 0,02
Lisina	4,47	20,89 ± 0,14
Fenilalanina	3,03	14,19 ± 0,10
Histidina	4,50	21,03 ± 0,26
Isoleucina	3,63	16,99 ± 0,14
Ácido glutâmico	26,32	123,12 ± 7,20
Arginina	8,31	38,88 ± 4,36
Serina	4,33	20,25 ± 0,50
Glicina	4,33	20,26 ± 0,05
Alanina	6,00	28,09 ± 0,38
Prolina	9,51	44,49 ± 1,13
Tirosina	0,43	1,99 ± 0,02
Ácido aspártico	12,36	57,79 ± 4,82
Cisteína	0,01	0,05 ± 0,01
AAE	100,00	503,36 ± 8,33
AAT	28,40	132,82 ± 5,13
AAT/AAE (%)	-	28,40 ± 1,41

Resultados expressos como média ± desvio padrão de determinações em triplicata.

AAE: Aminoácidos essenciais totais. AAT: Aminoácidos totais.

Fonte: Adaptado de Kim *et al.* (2010).

Os níveis de carboidratos nas raízes de yacon variam (Tabela 3) em função de fatores como localização, práticas agrícolas, estágio de maturação, tempo de colheita e temperatura de pós-colheita (DELGADO *et al.*, 2013). A doçura das raízes de yacon é causada

pela frutose, cerca de 70% mais doce do que o açúcar de mesa, não estimula a produção de insulina e não provoca reação glicêmica, pois em vez de entrar imediatamente na corrente sanguínea como a glicose oriunda da sacarose, a frutose tem um processo mais lento e mais completo de metabolização (DINICOLANTONIO; BHUTANI; O'KEEFE, 2016; MOORADIAN; SMITH; TOKUDA, 2017).

Tabela 3 – Composição de carboidratos em yacon, em peso seco

Carboidratos	Conteúdo (%)
Frutose	4,13-26,00
Glicose	1,96-10,01
Sacarose	3,25-13,42
FOS/Frutanos	34,31-55,33
GF ₂	8,19-13,99
GF ₃	5,36-13,72
GF ₄	4,03-6,59

Fonte: Adaptado de Delgado *et al.* (2013).

Diferente da maioria das raízes, o yacon armazena os carboidratos em forma de frutanos. Os frutanos do tipo inulina se dividem em dois grupos gerais de materiais: a inulina e os seus subconjuntos oligofrutose e FOS, que possuem grau de polimerização (GP), ou seja, o número de unidades individuais de monossacarídeos que compõem a molécula, máximo de 10. Como a inulina e os FOS são misturas de polímeros e oligômeros, eles são melhores caracterizados pelo seu GP. Moléculas com GP entre 3 e 10 são consideradas FOS, enquanto que as com GP entre 10 e 65 são conhecidas como inulina (SANCHO *et al.*, 2017; WILSON; WHELAN, 2017).

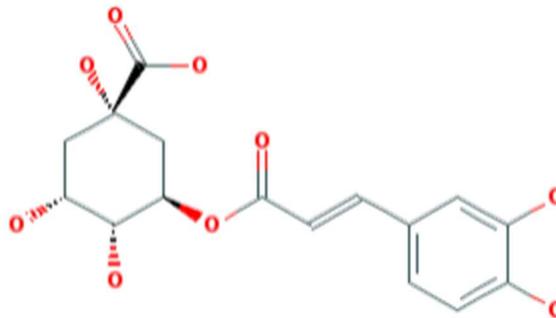
Os FOS não são redutores e apresentam a vantagem de não serem susceptíveis à reação de Maillard, não sendo degradados na maioria dos processos térmicos das indústrias de alimentos. Além disso, eles podem ser usados como substitutos para a sacarose, pois eles têm cerca de 30-60% da doçura da sacarose e baixo valor calórico (4,2-6,3 kJ g⁻¹) (SAAD *et al.*, 2013). Eles consistem em um número variável (n) de unidades de D-frutose ligadas por ligações β -2-1 e uma D-glicose terminal ligada através de uma ligação α -2-1.

Os principais FOS presentes em yacon são 1-kestose (GF₂, trissacarídeo constituído por uma molécula de glicose e duas moléculas de frutose), nistose (GF₃, tetrassacarídeo constituído por uma molécula de glicose e três moléculas de frutose) e 1F- β -frutofuranosil-nistose (GF₄, pentassacarídeo constituído por uma molécula de glicose e quatro moléculas de frutose) (DELGADO *et al.*, 2013). Essas estruturas podem ser visualizadas na Figura 2.

O yacon também é rico em compostos fenólicos, que são produtos do metabolismo secundário vegetal e são importantes devido às suas propriedades antioxidantes. Como principais constituintes fenólicos solúveis em água, isolaram-se cinco derivados de ácido caféico a partir de raízes de yacon, principalmente ácido clorogênico e ácido 3,5-dicafeoilquínico e três ésteres de ácido caféico e ácido altrárico (TAKENAKA *et al.*, 2003). Em outro estudo, Takenaka e Ono (2003) relataram dois outros tipos de ésteres cafeoil derivados do ácido octulosônico que têm um esqueleto de 6,8-dioxabicyclo[3,2,1]octano.

O ácido clorogênico (Figura 4) possui uma família de ésteres formados entre o ácido quínico e determinados ácidos trans-cinâmicos, geralmente caféico, *p*-cumárico, e ferulico (CLIFFORD *et al.*, 2006).

Figura 4 – Estrutura química do ácido clorogênico



Fonte: Adaptado de PubChem CID: 1794427.

O ácido clorogênico pode se encontrar esterificado nas posições 3-, 4- e 5, originando os vários isômeros resultantes da esterificação de uma molécula de ácido quínico, com uma ou duas unidades de ácido caféico, ácido ferúlico ou *p*-cumárico como, ácidos cafeoilquínicos (CQA), cujos isômeros são o 3-CQA,4-CQA e o 5-CQA; os ácidos dicafeoilquínicos (diCQA), com os isômeros, 3,4-diCQA; 3,5-diCQA; 4,5-diCQA; os ácidos feruilquínicos (FQA), com os isômeros 3-FQA, 4-FQA, 5-FQA; e os ácidos *p*-cumaroilquínicos (CoCQA), e isômeros 3-CoCQA, 4-CoCQA e 5-CoCQA (CLIFFORD *et al.*, 2003).

Por apresentar diversos compostos importantes do ponto de vista de nutrição e de saúde, o yacon tem atraído cada vez mais o interesse industrial. Porém esses compostos se encontram em baixas concentrações ou ligados a outras moléculas na matriz *in natura*. A separação através da tecnologia de membranas associada ao uso de enzimas e a concentração dos compostos bioativos do yacon, na transformação industrial e no aproveitamento dessa matéria-prima, é uma alternativa promissora, a fim de aproveitar as potencialidades desse

alimento e diversificação da aplicação do produto. Uma vez que o yacon é uma cultura sazonal, é importante a criação de alternativas de processamento que prolonguem a estabilidade e a disponibilidade deste alimento (FRANCO *et al.*, 2016).

1.2 Tecnologia de membranas para concentração de compostos de interesse

A clarificação, estabilização, despectinização e concentração de sucos de frutas são etapas típicas nas quais os processos por membranas como microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF), osmose reversa (OR), destilação osmótica (DO) e destilação por membrana (DM) têm sido satisfatoriamente utilizados como alternativa tecnológica para a tradicional produção de suco de frutas (CASSANO; CONIDI; DRIOLI, 2014) e também para clarificar, fracionar e concentrar várias matérias-primas (MACHADO *et al.*, 2016).

Alles, Tessaro e Noreña (2015) utilizaram a UF com o objetivo de clarificar o extrato de yacon e a NF do permeado obtido pela UF para remover os sais e açúcares simples e concentrar os FOS no retido, obtendo FOS com pureza de 19,75%.

Machado *et al.* (2016), em estudo com alcachofra para a produção de um ingrediente funcional para formulações de alimentos com propriedades prebióticas, utilizaram a MF como uma das etapas. Assim, eles concluíram que esta foi capaz de clarificar o extrato de alcachofra, obtendo um permeado claro com cerca de 100% dos oligossacarídeos presentes na alimentação, e ainda facilitou a realização da etapa seguinte de NF.

Gibertoni, Nogueira e Venturini Filho (2006) clarificaram o suco de yacon para produzir um xarope rico em frutanos, utilizando membranas cerâmicas de MF ($0,14 \mu\text{m}$) e de UF (50 kDa), combinando pressões transmembrana de 2 e 4 bar, com velocidades tangenciais de 2 e 4 m s^{-1} e temperatura de 40 °C. Com isso, foi obtido maior fluxo de permeado à pressão de 2 bar e velocidade de 4 m s^{-1} sem alteração na composição de carboidratos.

A introdução de tecnologias de membrana na fabricação de sucos de frutas representa uma das respostas tecnológicas para o problema de produzir um suco sem aditivos com alta qualidade e sabor natural fresco (NOURBAKHSI *et al.*, 2014), pois os processos de separação por membranas geralmente ocorrem à temperatura ambiente, trazendo como vantagens o baixo custo energético, a preservação de compostos termossensíveis, a seletividade do meio filtrante e o fácil escalonamento, por se tratar de sistemas modulares (CASSANO; CONIDI; DRIOLI, 2014).

O processo de MF representa uma alternativa válida para o uso de agentes de finalização tradicionais e auxiliares de filtração. É um processo típico de membrana sob

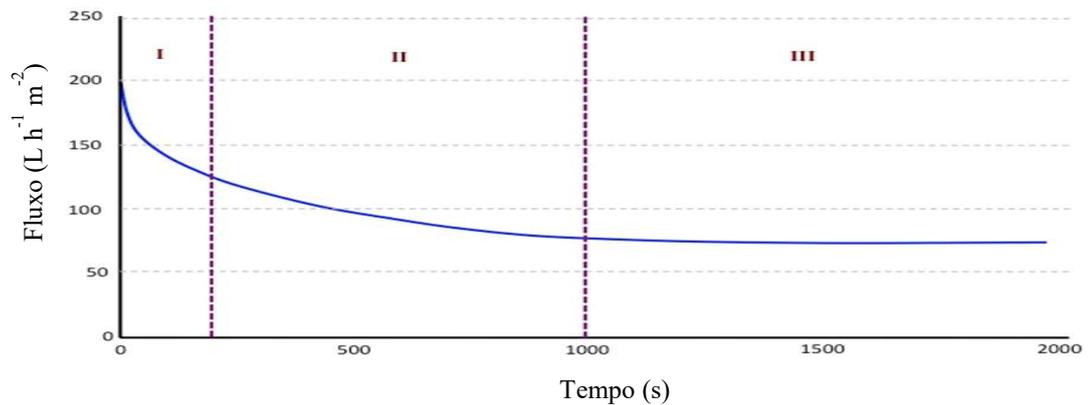
pressão, capaz de separar partículas no tamanho aproximado de 0,05-10 μm . Basicamente, as grandes espécies tais como micro-organismos, lípidios, proteínas e colóides são retidos, enquanto solutos pequenos como, por exemplo, vitaminas, sais e açúcares fluem juntamente com a água. Quando se trabalha com MF de um suco de fruta polposo, há uma separação em duas frações: uma fração que passa através dos poros da membrana, denominado permeado, a qual se apresenta como um suco límpido e claro e, a fração retida que é rica em fibras e outros componentes a elas associados (CASSANO; CONIDI; DRIOLI, 2014; ZHAO *et al.*, 2017).

Os processos de filtração (por exemplo, a microfiltração) são fortemente influenciados por parâmetros operacionais, como a pressão transmembrana, temperatura, viscosidade e densidade do fluido, e a velocidade tangencial. O aumento da temperatura resulta numa diminuição na viscosidade do fluido e no aumento da mobilidade molecular, isto é na difusividade, resultando num fluxo de permeado mais elevado. Todavia, um aumento na pressão transmembrana contribui para uma maior taxa de convecção para o transporte do soluto para a superfície da membrana, aumentando sua concentração na superfície, conseqüentemente diminuindo a taxa de fluxo do permeado (FERREIRA; COZAR; SCHMIDT, 2016).

Apesar das vantagens, a MF apresenta um fator limitante quanto ao fluxo de permeado, o qual tende a diminuir em função do tempo, devido à polarização de concentração e ao *fouling* (incrustações). A polarização de concentração se deve ao acúmulo de solutos retidos na superfície da membrana, ocasionando uma resistência adicional à transferência de massa do solvente pela mesma, sendo reversível através da limpeza da membrana com agentes químicos. Já o *fouling* ocorre devido à adsorção de moléculas de soluto na superfície da membrana e/ou no interior dos poros. Isto ocorre devido às interações físico-químicas destas substâncias com o material da membrana, podendo ser irreversível ou parcialmente reversível (NOURBAKHSI *et al.*, 2014; ZHAO *et al.*, 2017).

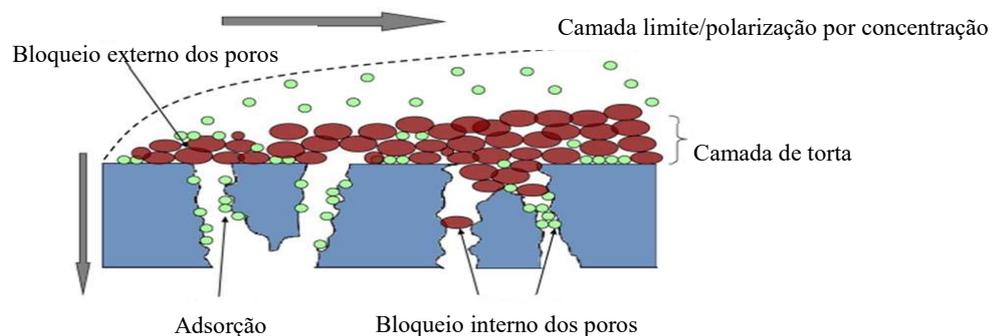
Uma curva de fluxo de permeado típico em função do tempo (Figura 5) pode ser dividida em três partes: a primeira parte (I) é caracterizada por um rápido declínio inicial no fluxo de permeado, na segunda (II), ocorre uma diminuição gradual de longo prazo, finalizando com um fluxo em estado estacionário na terceira parte (III) (EL RAYESS *et al.*, 2011).

Figura 5 – Curva típica de declínio do fluxo de permeado



Fonte: Adaptado de El Rayess *et al.* (2011).

Para fluidos biológicos, como os sucos de frutas, segundo El Rayess *et al.* (2011), o *fouling* pode ser atribuído a três diferentes mecanismos ilustrados na Figura 6: polarização da concentração e subsequente formação de camada de torta (camada gel), adsorção de solutos na superfície da membrana e nas paredes dos poros e bloqueio dos poros.

Figura 6 – Descrição esquemática dos mecanismos de *fouling* durante o processo de separação por membranas

Fonte: Adaptado de El Rayess *et al.* (2011).

Os sucos de fruta são tratados com enzimas antes de o submeterem à microfiltração de modo a reduzir a viscosidade do teor de polpa e o *fouling* da membrana (DAHDOUH *et al.*, 2016; KHAN *et al.*, 2016).

Amin *et al.* (2017) destacaram a importância do uso de enzimas pectinolíticas nas indústrias de sucos de frutas para reduzir a viscosidade, melhorar e aumentar a eficiência de filtração e clarificação. As enzimas hidrolíticas são utilizadas a uma temperatura ótima por um determinado período de tempo e dessa forma, aumentam o rendimento da extração do suco, a liberação de compostos funcionais como polissacarídeos, carotenoides, vitaminas, polifenóis, entre outros (PURI; SHARMA; BARROW, 2012; RODRIGUES *et al.*, 2017).

A parede celular vegetal é uma rede dinâmica altamente organizada, sendo formada por três classes principais de polissacarídeos: celulose, hemiceluloses e pectinas. A celulose é um polímero linear de resíduos de β -(1,4)-D-glicose que formam microfibrilas (7000-15000 unidades de monômero de glicose) ligadas por ligações de hidrogênio. As hemiceluloses são polissacarídeos de baixo peso molecular, incluindo xiloglucanas, xilanas, glucomanas e galactoglucomanas associadas na parede celular com lignina e celulose. Já as pectinas são substâncias compostas quimicamente por cadeias lineares de ácido D-galacturônico em ligações α -1,4 (KOZIOŁ *et al.*, 2017). A estrutura celular do yacon consiste principalmente em celulose e hemicelulose, enquanto que as pectinas constituem apenas uma pequena parte (CASTRO *et al.*, 2013).

O yacon tem atraído a atenção global devido as suas propriedades com potencial de promoção da saúde que estão associadas a seu elevado teor de oligossacarídeos não digeríveis, tais como os frutooligossacarídeos (FOS) e inulina, bem como seu teor de compostos fenólicos, sendo portanto considerado um alimento com propriedades funcionais (CAETANO *et al.*, 2016; DELGADO *et al.*, 2013). Deste modo, seu estudo auxilia no desenvolvimento científico e tecnológico de produtos cada vez mais saudáveis, aceitos e seguros.

1.3 Ensaios clínicos para comprovação de alegações de propriedades funcionais e ou de saúde em alimentos

As alegações de propriedade funcional são aquelas que descrevem o papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou outros constituintes (ex. substâncias bioativas e micro-organismos) possuem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. Já as alegações de propriedades de saúde afirmam, sugerem ou implicam na existência de relação entre o alimento ou ingrediente com determinada doença ou condição relacionada à saúde. Essas alegações devem estar baseadas em ensaios clínicos conduzidos com metodologia adequada ou em estudos epidemiológicos. Os resultados desses estudos devem demonstrar, de forma consistente, a associação entre o alimento ou seu constituinte e o efeito benéfico à saúde, com pouca ou nenhuma evidência em contrário. Os ingredientes fontes dos nutrientes ou não nutrientes relacionados à alegação de propriedade funcional ou de saúde devem ser comprovadamente seguros para consumo humano (ANVISA, 2017).

A segurança de produtos contendo raízes de yacon tem sido demonstrada (CAETANO *et al.*, 2016), e diversos estudos têm indicado diferentes ações biológicas com a

utilização de yacon na dieta (BLAZON *et al.*, 2016; GENTA *et al.*, 2009; OLIVEIRA; BRAGA; FERNANDES, 2013), pois este é uma fonte importante de frutanos como inulina e frutooligosacarídeos, que, além de se apresentarem como fibras solúveis, possuem ação prebiótica (CASTRO; VILAPLANA; NILSSON, 2017).

A ação prebiótica é definida como a estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade(s) de um ou de um número limitado de gênero(s)/espécies microbiana na microbiota intestinal que confere benefícios de saúde ao hospedeiro (WILSON; WHELAN, 2017).

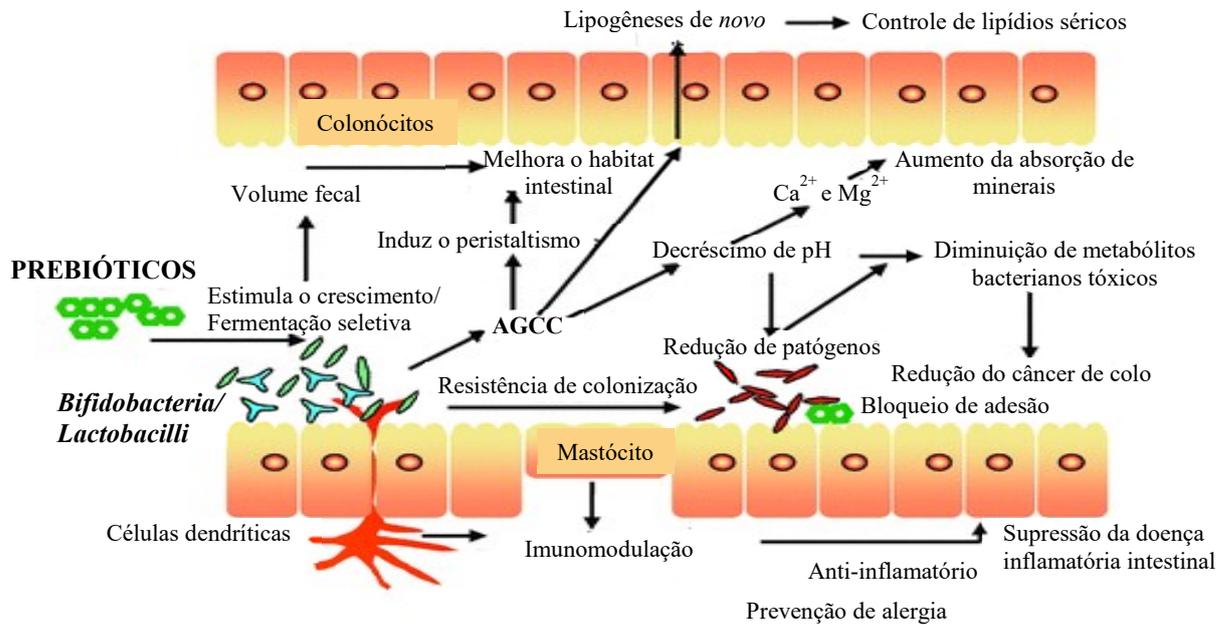
No cólon, os FOS ou a inulina são degradados pela microbiota intestinal em AGCC, como acetato, propionato e butirato. Em geral, o propionato e o butirato são metabolizados no cólon e no fígado, que afetam principalmente as funções locais do intestino e do fígado. Eles também induzem a gliconeogênese intestinal e a atividade simpática, o que melhora a gaseificação e a homeostase da energia. Além disso, o acetato em circulação pode ser absorvido pelo cérebro e subsequentemente regula a saciedade através de um mecanismo homeostático central. O butirato inibe a síntese de colesterol no fígado através da regulação negativa da via lipogênica e fornece uma fonte de energia para as células epiteliais do cólon humano (LIU *et al.*, 2016).

Estudos, tanto de modelos experimentais quanto com humanos, apoiam os efeitos benéficos de diferentes tipos de fibras dietéticas com propriedades prebióticas na energia homeostática, regulação da saciedade e ganho de peso corporal, bem como a capacidade de alterar o perfil de liberação de hormônios gastrointestinais relacionados com a saciedade e o gasto de energia (SARDÁ *et al.*, 2016; SURAMPUDI *et al.*, 2016).

Os oligossacarídeos e FOS, em particular, aumentam a *Bifidobacterium*, um gênero de bactérias intestinais fermentadoras de oligossacarídeos que podem ser benéficas para a saúde humana. Eles também podem ter outros efeitos fisiológicos importantes através dos metabolitos produzidos a partir da fermentação microbiana com produção de AGCC que são absorvidos pelos colonócitos do intestino grosso, podendo desempenhar um papel na saúde e prevenção de doenças, como doenças intestinais, câncer de cólon e síndrome metabólica. Os AGCC afetam a saúde intestinal, a função imune, o metabolismo energético, a estimulação do sistema nervoso simpático e a liberação de serotonina (SAWICKI *et al.*, 2017).

Aachary e Prapulla (2011) afirmam que a dieta é um importante determinante do risco de doença em todos os grupos da população e que os prebióticos, conforme esquematizado na Figura 7, podem ter um impacto sobre uma série de doenças relacionadas ao intestino e disfunções associadas à mudança de estilo de vida e idade.

Figura 7 – Potenciais benefícios dos prebióticos para a saúde



Fonte: Adaptado de Aachary e Prapulla (2011).

Estudos realizados com prebióticos indicaram que uma maior produção intestinal de AGCC está associada ao aumento da saciedade e consequente redução da ingestão de alimentos. Tais efeitos, em parte, relacionam-se ao aumento do *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), que, em conjunto com a redução da grelina, ocasionam efeitos hipotalâmicos relacionados ao mecanismo de recompensa, pois a estimulação do GLP-1 melhora a resposta glicêmica e insulinêmica, exercendo um papel importante na redução do peso (GIBBONS *et al.*, 2013).

Os frutooligossacarídeos têm sido descritos como moduladores do apetite, bem como envolvidos na regulação da secreção de insulina pancreática e na diferenciação das β -células. As raízes de yacon têm sido usadas na medicina popular como uma alternativa para o tratamento de diabetes e dislipidemias (OLIVEIRA; BRAGA; FERNANDES, 2013).

A diabetes é caracterizada por níveis elevados de glicose sanguínea, resultantes da deficiência na secreção e/ou ação da insulina, o que leva a anormalidades no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, com complicações agudas e crônicas (ROCHETTE *et al.*, 2014).

Os mecanismos exatos subjacentes ao desenvolvimento e progressão do diabetes *mellitus* e suas complicações não são claros. No entanto, há cada vez mais evidências de que a geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), associado a uma diminuição da capacidade do sistema antioxidante, provoca estresse oxidativo em uma variedade de tecidos,

já demonstrada tanto para humanos como para animais diabéticos experimentais (GIACCO; BROWNLEE, 2010; ROCHETTE *et al.*, 2014).

Marcadores inflamatórios prevêm o desenvolvimento de diabetes tipo 2, mas a evidência é menos extensa em comparação com a doença cardiovascular. No processo inflamatório ocorre o aumento na circulação das proteínas de fase aguda, como a proteína C-reativa (PCR), que são utilizadas como marcadores inflamatórios, estando especificamente envolvida com o risco cardiovascular em indivíduos saudáveis. Os FOS e compostos fenólicos podem influenciar na microbiota intestinal, que tem papel importante na redução da concentração plasmática de PCR (TZOUNIS *et al.*, 2011).

Vários estudos têm demonstrado que os lipopolissacarídios (LPS), moléculas de estrutura extremamente complexa encontradas exclusivamente nas monocamadas externa da membrana externa das bactérias gram-negativas, contribuem para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos inflamatórios na obesidade e diabetes tipo 2. O aumento dos níveis de LPS em indivíduos com diabetes tem se mostrado relacionado com os níveis de insulina e as vias metabólicas (DEHGHAN; GARGARI; JAFAR-ABADI, 2014; KNAAPEN *et al.*, 2013). Todavia, estudos mostraram que os FOS e os compostos fenólicos modulam parâmetros metabólicos e inflamação (MALAGUARNERA *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2014).

De acordo com Alam *et al.* (2016), vários derivados do ácido cinâmico podem ser encontrados no plasma imediatamente após a administração oral e podem apresentar vários benefícios para a saúde em diferentes doenças (Figura 8). O ácido clorogênico é o ácido hidroxicinâmico mais abundante presente em yacon (RUSSO *et al.*, 2015).

Figura 8 – Benefícios para a saúde de derivados do ácido cinâmico em várias doenças



Fonte: Adaptado de Alam *et al.* (2016).

Genta *et al.* (2009) investigaram os efeitos benéficos e tolerância de xarope de yacon em mulheres obesas com resistência à insulina e ligeira dislipidemia na pré-menopausa

durante um período de 120 dias em um experimento controlado por placebo, duplo-cego. Foram utilizadas duas doses de xarope de yacon, 0,29 g e 0,14 g de FOS/kg/dia. No início e no final do estudo, foram determinadas medidas antropométricas, glicose sanguínea, cálcio, concentrações de lipídios e insulina e índice de avaliação do modelo homeostático. O consumo diário de xarope de yacon produziu uma diminuição significativa no peso corporal, circunferência abdominal e índice de massa corporal. Além disso, foi observada diminuição da insulina sérica de jejum e índice de avaliação do modelo homeostático, aumento da frequência da defecação e sensação de saciedade. No entanto, glicemia de jejum e lipídios séricos não foram afetados, e o único efeito positivo encontrado foi nos níveis de LDL-colesterol sérico, recomendando o consumo diário de 0,14 g FOS kg⁻¹ de peso corpóreo sem efeitos gastrointestinais indesejáveis.

Em estudo piloto com humanos saudáveis, Cani *et al.* (2006) observaram reforço na saciedade e redução no consumo de energia após a suplementação com 8 g FOS duas vezes por dia durante duas semanas. Porém, em indivíduos com sobrepeso consumindo 21 g de FOS por dia durante 12 semanas, Parnell e Reimer (2009) não observaram diferença nos índices de apetite, apesar das reduções no consumo de energia e diminuição do peso corporal.

Estudos relatam o efeito hipoglicemiante da ingestão de yacon (GENTA *et al.*, 2009; SCHEID *et al.*, 2014). Porém, esses efeitos benéficos não são apenas associados aos FOS presentes no yacon, mas também ao efeito combinado dos compostos secundários de natureza fenólica, denominados polifenóis, presentes na raiz tuberosa, especialmente do ácido clorogênico. Este ácido estaria envolvido na inibição da enzima glicose-6-fosfatase, responsável por catalisar o passo final da glicogenólise e gliconeogênese (ADISAKWATTANA, 2017; ALAM *et al.*, 2016).

O extrato da raiz de yacon se mostrou eficiente na prevenção do estresse oxidativo e na restauração das defesas antioxidante em termos de atividade de enzimas antioxidantes (BIAZON *et al.*, 2016). O crescimento seletivo de bactérias probióticas, produz menos enzima β -glucuronidase pró-carcinógenos (PRETER *et al.*, 2011). De acordo com Yan *et al.* (1999), o yacon apresentam compostos de natureza fenólica com ação antioxidante.

Baseado na importância e nos efeitos dos componentes bioativos do yacon, torna-se de extrema relevância o desenvolvimento de processos que potencialize esses efeitos nos produtos alimentares derivados de yacon, contribuindo desse modo para a manutenção e melhoria da saúde humana.

REFERÊNCIAS

- AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S. G. Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 1, p. 2-16, Jan. 2011.
- ADISAKWATTANA, S. Cinnamic acid and its derivatives: mechanisms for prevention and management of diabetes and its complications. **Nutrients**, v. 9, n. 2, p. 163, Feb. 2017.
- ALAM, M. A. *et al.* Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. **Nutrition & Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 27, Apr. 2016.
- ALLES, M. J. L.; TESSARO, I. C.; NOREÑA, C. P. Z. Concentration and purification of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) root fructooligosaccharides using membrane technology. **Food Technology and Biotechnology**, v. 53, n. 2, p. 190-200, Jun. 2015.
- AMIN, F. *et al.* Multiple parameter optimizations for enhanced biosynthesis of exopolygalacturonase enzyme and its application in fruit juice clarification. **International Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 2, Feb. 2017.
- ANVISA. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Disponível: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acessado em: 15 mar. 2017.
- BLAZON, A. C. B. *et al.* The *in vitro* antioxidant capacities of hydroalcoholic extracts from roots and leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) do not correlate with their *in vivo* antioxidant action in diabetic rats. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 4, n. 2, p. 15, Feb. 2016.
- CAETANO, B. F. R. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a food supplement: health-promoting benefits of fructooligosaccharides. **Nutrients**, v. 8, n. 7, p. 436, Jul. 2016.
- CANI, P. D. *et al.* Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 5, p. 567-572, May 2006.
- CASSANO, A.; CONIDI, C.; DRIOLI, E. 3 Integrated membrane operations in fruit juice processing. **Integrated Membrane Operations: In the Food Production**, Berlin, Boston: De Gruyter, 2014. p. 59-82.
- CASTRO, A. *et al.* Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 392-400, Jan. 2013.
- CASTRO, A.; VILAPLANA, F.; NILSSON, L. Characterization of a water soluble, hyperbranched arabinogalactan from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots. **Food Chemistry**, v. 223, p. 76-81, May 2017.

CLIFFORD, M. N. *et al.* Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2900-2911, Apr. 2003.

CLIFFORD, M. N. *et al.* Characterization by LC-MSⁿ of four new classes of chlorogenic acids in green coffee beans: dimethoxycinnamoylquinic acids, diferuloylquinic acids, caffeoyl-dimethoxycinnamoylquinic acids, and feruloyl-dimethoxycinnamoylquinic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 1957-1969, Mar. 2006.

DAHDOUH, L. *et al.* Size-cartography of orange juices foulant particles: contribution to a better control of fouling during microfiltration. **Journal of Membrane Science**, v. 509, p. 164-172, Jul. 2016.

DEHGHAN, P.; GARGARI, B. P.; JAFAR-ABADI, M. A. Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes *mellitus*: a randomized controlled clinical trial. **Nutrition**, v. 30, n. 4, p. 418-423, Apr. 2014.

DELGADO, G. T. C. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): a functional food. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 222-228, Sep. 2013.

DINICOLANTONIO, J. J.; BHUTANI, J.; O'KEEFE, J. H. Added sugars drive chronic kidney disease and its consequences: a comprehensive review. **Journal of Insulin Resistance**, v. 1, n. 1, p. 1-6, Jun. 2016.

EL RAYESS, Y. *et al.* Cross-flow microfiltration applied to oenology: a review. **Journal of Membrane Science**, v. 382, n. 1-2, p. 1-19, Oct. 2011.

ERLACHER, W. A. *et al.* Models for estimating yacon leaf area. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 422-427, Jul./Sep. 2016.

FERREIRA, R. E.; COZAR, C. A.; SCHMIDT, F. L. Accumulated flux and resistances in clarification of sugarcane juice by microfiltration-impact of operational parameters. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 5, p. 2151-2158, May 2016.

FRANCO, T. S. *et al.* Effects of foam mat drying on physicochemical and microstructural properties of yacon juice powder. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 503-513, Mar. 2016.

GENTA, S. *et al.* Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 2, p.1-6, Apr. 2009.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**, v. 107, n. 9, p. 1058-1070, Oct. 2010.

GIBBONS, C. *et al.* Comparison of postprandial profiles of ghrelin, active GLP-q, and total PYY to meals varying in fat and carbohydrate and their association with hunger and the phases of satiety. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 98, n. 5, p. E847-E855, May 2013.

GIBERTONI, C. F.; NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, W. G. Ultra e microfiltração de suco de yacon (*Polymnia sonchifolia*) para obtenção de xarope rico em frutanos. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v. 2, n. 1, p. 68-81, 2006.

IBAÑEZ, M. S. *et al.* Flower structure and developmental stages of the capitulum of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae): reproductive implications. **Journal of Plant Research**, v. 130, n. 2, p. 1-11, Mar. 2017.

KHAN, F. *et al.* Optimal clarification of apple juice using crossflow microfiltration without enzymatic pre-treatment under different operation modes. **NUST Journal of Engineering Sciences (NJES)**, v. 9, n. 1, p. 18-22, Dec. 2016.

KIM, A. R. *et al.* Physicochemical composition and antioxidative effects of yacon (*Polymnia Sonchifolia*). **Journal of Life Science**, v. 20, n. 1, p. 40-48, Jan. 2010.

KNAAPEN, M. *et al.* Obesity, non-alcoholic fatty liver disease, and atherothrombosis: a role for the intestinal microbiota? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 4, p. 331-337, Apr. 2013.

KOZIOŁ, A. *et al.* Changes of pectin nanostructure and cell wall stiffness induced in vitro by pectinase. **Carbohydrate Polymers**, v. 161, p. 197-207, Apr. 2017.

LIU, F. *et al.* Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 1, p. 9-20, Jan. 2016.

MACHADO, M. T. C. *et al.* Clarification and concentration of oligosaccharides from artichoke extract by a sequential process with microfiltration and nanofiltration membranes. **Journal of Food Engineering**, v. 180, p. 120-128, Jul. 2016.

MALAGUARNERA, M. *et al.* *Bifidobacterium longum* with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 57, n. 2, p. 545-553, Feb. 2012.

MOORADIAN, A. D.; SMITH, M.; TOKUDA, M. The role of artificial and natural sweeteners in reducing the consumption of table sugar: a narrative review. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 18, p. 1-8, Apr. 2017.

NOURBAKSH, H. *et al.* Study of different fouling mechanisms during membrane clarification of red plum juice. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 1, p. 58-64, Jan. 2014.

OLIVEIRA, G. O.; BRAGA, C. P.; FERNANDES, A. A. H. Improvement of biochemical parameters in type 1 diabetic rats after the roots aqueous extract of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.)] treatment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 256-260, Sep. 2013.

PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, n. 6, p. 1751-1759, Jun. 2009.

PRETER, V. *et al.* The impact of pre-and/or probiotics on human colonic metabolism: does it affect human health? **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, n. 1, p. 46-57, Jan. 2011.

PURI, M.; SHARMA, D.; BARROW, C. J. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. **Trends Biotechnology**, v. 30, n. 1, p. 37-44, Jan. 2012.

ROCHETTE, L. *et al.* Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1840, n. 9, p. 2709-2729, Sep. 2014.

RODRIGUES, D. *et al.* Chemical and structural characterization of *Pholiota nameko* extracts with biological properties. **Food Chemistry**, v. 216, p. 176-185, Feb. 2017.

RUSSO, D. *et al.* Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 17696-17718, Jul. 2015.

SAAD, N. *et al.* An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 1-16, Jan. 2013.

SAWICKI, C. M. *et al.* Dietary fiber and the human gut microbiota: application of evidence mapping methodology. **Nutrients**, v. 9, n. 2, p. 125-146, Feb. 2017.

SANCHO, R. A. S. *et al.* Evaluation of oligosaccharide profiles in selected cooked tubers and roots subjected to in vitro digestion. **LWT-Food Science and Technology**, v. 76, Part B, p. 270-277, Mar. 2017.

SARDÁ, F. A. H. *et al.* Impact of resistant starch from unripe banana flour on hunger, satiety, and glucose homeostasis in healthy volunteers. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p. 63-74, Jun. 2016.

SCHEID, M. M. A. *et al.* Freeze-dried powdered yacon: effects of FOS on serum glucose, lipids and intestinal transit in the elderly. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 7, p. 1457-1464, Oct. 2014.

SOUSA, S. *et al.* *In vitro* evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, p. 96-105, Jul. 2015.

SURAMPUDI, P. *et al.* Lipid lowering with soluble dietary fiber. **Current Atherosclerosis Reports**, v. 18, n. 12, p. 75, Dec. 2016.

TAKENAKA, M. *et al.* Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 793-796, Jan. 2003.

TAKENAKA, M.; ONO, H. Novel octulosonic acid derivatives in the composite *Smallanthus sonchifolius*. **Tetrahedron Letters**, v. 44, n. 5, p. 999-1002, Jan. 2003.

TZOUNIS, X. *et al.* Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, n. 1, p. 62-72, Jan. 2011.

WILSON, B.; WHELAN, K. Prebiotic inulin-type fructans and galacto- oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 32, n. S1, p. 64-68, Mar. 2017.

YAN, X. *et al.* Extraction and identification of antioxidants in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4711-4713, Nov. 1999.

ZHAO, D. *et al.* Role of pectin and haze particles in membrane fouling during cold microfiltration of apple cider. **Journal of Food Engineering**, v. 200, p. 47-58, May 2017.

ZHAO, J. *et al.* Octulosonic acid derivatives from Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile*) with activities against inflammation and metabolic disorder. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 3, p. 509-515, Mar. 2014.

CAPÍTULO 2: OTIMIZAÇÃO DO TRATAMENTO ENZIMÁTICO PARA PRODUÇÃO DE SUCO CLARIFICADO DE YACON POR MICROFILTRAÇÃO COM ELEVADAS CONCENTRAÇÕES DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS E ÁCIDO CLOROGÊNICO

RESUMO

A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi empregada para a análise dos efeitos do tratamento enzimático com enzimas pectinolítica (Pectinex[®] Ultra SP-L) e celulolítica (Celluclast[®] 1.5 L) em diferentes condições de tratamento (concentração das enzimas, temperatura e agitação), nas características químicas, físicas e tecnológicas da polpa de yacon, tais como os conteúdos de frutooligossacarídeos (principalmente GF₂, GF₃ e GF₄), ácido clorogênico e fluxo de permeado. Para isto, um delineamento composto central rotacional (DCCR) de quatro fatores foi usado para estabelecer as condições ótimas para o tratamento enzimático para clarificação por microfiltração. Os resultados indicaram que o processo enzimático foi empregado com sucesso, e as condições de tratamento recomendadas foram: concentração de enzima de 500 mg L⁻¹ de Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L, a 45 °C e 175 rpm, durante 120 min. Nesta condição, o fluxo de permeado foi aproximadamente 40% maior que o controle sem tratamento enzimático. Como resultado, um material límpido com baixa turbidez (5,09 ± 0,08 NTU) e altos níveis de frutooligossacarídeos (2,23 ± 0,47%; 2,33 ± 0,09%; 1,44 ± 0,11%, para GF₂, GF₃ e GF₄, respectivamente) e ácido clorogênico (23,92 ± 2,03 mg L⁻¹) foram obtidos.

Palavras-chave: Pectinex[®] Ultra SP-L. Celluclast[®] 1.5 L. Compostos fenólicos. Frutooligossacarídeos.

ABSTRACT

Response Surface Methodology (RSM) was employed for the analysis of the effects of the simultaneous enzymatic treatment using pectinolytic (Pectinex[®] Ultra SP-L) and cellulolytic (Celluclast[®] 1.5 L) enzyme at different concentrations, temperature and agitation, on chemical, physical and technological characteristics of the yacon pulp, such as fructooligosaccharides (mainly GF₂, GF₃ and GF₄), chlorogenic acid and permeates flux contends. For this, a four-factor central composite design was used to establish the optimum conditions for the enzymatic treatment for clarification by microfiltration. The results indicated that the enzymatic process has been successfully employed, and the recommended conditions treatments were: enzyme concentration of 500 mg L⁻¹ of Pectinex[®] Ultra SP-L and Celluclast[®] 1.5 L, at 45 °C and 175 rpm, during 120 min. These optimized conditions, the permeate flow was almost 40% higher than the control without enzymatic treatment. As result, a limp material with low turbidity (5.09 ± 0.08 NTU) and high levels of fructooligosaccharides ($2.23 \pm 0.47\%$; $2.33 \pm 0.09\%$; $1.44 \pm 0.11\%$, for GF₂, GF₃ and GF₄, respectively) and chlorogenic acid ($23.92 \pm 2.03 \mu\text{g g}^{-1}$) were obtained.

Keywords: Pectinex[®] Ultra SP-L. Celluclast[®] 1.5 L. phenolic compounds. fructooligosaccharides.

2.1 Introdução

O yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] é particularmente conhecido como uma abundante fonte de frutooligossacarídeos (FOS), que consiste de uma molécula de cadeia linear que contém monômeros de glicose (G) unidos a frutose (F) por ligações do tipo β -(2 \rightarrow 1), formando, principalmente, uma mistura de 1-kestose (GF₂), nistose (GF₃), e 1F- β -frutofuranosil-nistose (GF₄) (DELGADO *et al.*, 2013). Esses compostos são conhecidos como prebióticos por serem fermentados seletivamente por micro-organismos do gênero lactobacilos e bifidobacterias, com efeitos benéficos demonstrados através de ensaios *in vitro* e *in vivo* (CAMPOS *et al.*, 2012; DIONÍSIO *et al.*, 2015). Adicionalmente, apresenta um potencial efeito antidiabético, antioxidante e antimicrobiano (CAETANO *et al.*, 2016; DIONÍSIO *et al.*, 2015), muitos destes recentemente atribuídos também ao seu conteúdo de compostos fenólicos, principalmente o ácido clorogênico (RUSSO *et al.*, 2015).

A tecnologia de filtração por membrana tem sido utilizada em indústrias de alimentos para a separação de partículas e/ou micro-organismos em muitos produtos (LAYAL *et al.*, 2015), sendo especialmente importante para clarificar sucos. Estes processos oferecem várias vantagens como consumir menos espaço, requer menos energia, ausência de transição de fase e alta qualidade do produto, preservando o sabor natural e os componentes nutricionais da matéria-prima (MACHADO *et al.*, 2016). No entanto, uma grande restrição em relação à microfiltração de sucos ricos em polpa, é a formação de uma camada de incrustação altamente intumescida sobre a superfície da membrana, o que reduz consideravelmente o desempenho. Para suco de fruta, os materiais de incrustação são compostos principalmente por polissacarídeos de parede celular tais como pectina, celulose, lignina e hemicelulose (AMIN *et al.*, 2017). Para melhorar o desempenho da filtração e aumentar o fluxo de permeado, os sucos de fruta podem ser tratados antes da filtração com preparações enzimáticas destinadas a hidrolisar polissacarídeos solúveis responsáveis pela alta viscosidade, tal como reportados por Lee *et al.* (2006), Sin *et al.* (2006) e Liew Abdulaah *et al.* (2007).

Apesar dos relatos sobre tratamento enzimático e seus efeitos na filtração por membrana, apenas alguns estudos tratam da otimização do tratamento enzimático de suco para clarificação. No entanto, o processo enzimático pode ser influenciado por uma série de variáveis, incluindo tipo e concentração de enzimas e as condições utilizadas no processo, tais como temperatura e agitação (TIBOLLA *et al.*, 2017). Um delineamento composto central rotacional (DCCR) é uma das abordagens mais úteis na determinação das condições ótimas de

muitos processos (LEE *et al.*, 2006), explorando as superfícies de resposta cobertas no desenho experimental o que torna o processo de otimização mais eficiente, eficaz e prático (RODRIGUES; IEMMA, 2014). A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma técnica estatística eficaz para otimizar processos complexos, tendo como principal vantagem o número reduzido de ensaios experimentais necessários para avaliar múltiplos parâmetros e suas interações (ZHU; LIU, 2013). Nesse sentido, a MSR tem sido amplamente utilizada para otimizar processos na produção de suco e na obtenção de produtos clarificados como cana de açúcar (FERREIRA; COZAR; SCHMIDT, 2016), jambolão (GHOSH; PRADHAN; MISHRA, 2016), carambola (LIEW ABDULAAH *et al.*, 2007) e pitaia-branca (NUR'ALIAA *et al.*, 2010).

A pesquisa descrita neste trabalho investigou os efeitos do tratamento enzimático, utilizando a MSR, na otimização das condições de obtenção de suco clarificado de yacon, visando elevada concentração de FOS e ácido clorogênico, com uma condição tecnológica mais favorável (elevado fluxo de permeado). Este é o primeiro relato sobre uma otimização do tratamento enzimático de yacon para produzir um suco clarificado rico em compostos bioativos.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Químicos e reagentes

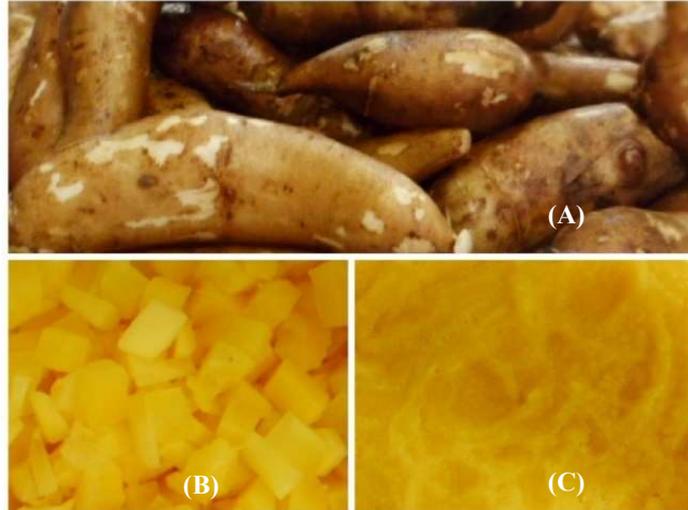
Pectinex[®] Ultra SP-L (principalmente poligalacturonase) de *Aspergillus aculeatus* e Celluclast[®] 1.5 L (celulase) de *Trichoderma reesei* foram obtidos da Novozymes Investment Co. Ltd. (Denmark). Água de grau espectroscópico foi preparada a partir de água destilada, utilizando um sistema Milli-Q (Millipore Lab., Bedford, MA, USA). Todos os outros reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich Canada Ltd. (Oakville, ON, Canada).

2.2.2 Yacon

As raízes tuberosas de yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] *in natura* foram adquiridas no comércio local de Fortaleza, CE, Brasil. Em seguida, a polpa de yacon foi processada como reportado por Dionísio *et al.* (2013) e pode ser visualizada na Figura 1. Após lavagem e sanitização, as raízes foram descascadas manualmente, cortadas em cubos de aproximadamente 1 cm³ e imersas em solução de ácido cítrico (2,4% p/v, por 8 min) para inativação das enzimas polifenoloxidases. Os cubos foram processados em

liquidificador industrial e a polpa obtida foi armazenada sob congelamento ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) até o momento do uso.

Figura 1 – Aparência das raízes de yacon intactas – (A); raízes cortadas em cubos – (B); raízes trituradas – (C)



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

2.2.3 Otimização de experimentos: uso de complexos enzimáticos para a maceração de yacon

A polpa de yacon foi tratada com a preparação enzimática comercial (Pectinex[®] Ultra SP-L e/ou Celluclast[®] 1.5 L). A temperatura ($^{\circ}\text{C}$), a agitação (rpm) e a concentração enzimática (mg L^{-1}) foram as variáveis independentes e utilizadas de acordo com o planejamento experimental descrito no item 2.2.4. Em cada experimento, distribuiu-se 2,5 L de polpa de yacon em frascos Erlenmeyer de 500 mL. Subsequentemente, a preparação enzimática foi adicionada e os frascos foram homogeneizados e incubados num agitador (TECNAL TE-421, Piracicaba, Brasil) sob condições definidas (Tabela 1). Após 2 h, as enzimas foram inativadas ($85\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 min), sendo então os tratamentos resfriados a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, e posteriormente armazenados a $-18 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes das análises químicas e físicas. Em seguida, todas as amostras foram microfiltradas para obtenção do fluxo de permeado.

2.2.4 Planejamento experimental

As variáveis independentes foram otimizadas, utilizando um delineamento composto central rotacional (DCCR), contendo cinco níveis codificados como -2 , -1 , 0 , $+1$ e $+2$. Os valores reais das variáveis independentes correspondentes a estes valores codificados são dados na Tabela 1.

Tabela 1 – Variáveis e níveis avaliados no DCCR

Variáveis independentes	Níveis codificados				
	-2	-1	0	+1	+2
Pectinex [®] Ultra SP-L (mg L ⁻¹)	0	250	500	750	1000
Celluclast [®] 1.5 L (mg L ⁻¹)	0	250	500	750	1000
Temperatura (°C)	30	38	45	52	60
Agitação (rpm)	100	138	175	212	250

Os experimentos foram conduzidos de acordo com um planejamento fatorial completo 2⁴, incluindo os 8 pontos axiais e os 3 pontos centrais, totalizando 27 ensaios. As variáveis dependentes foram: sólidos solúveis (°Brix), açúcares totais (%), açúcares redutores (%), sacarose (%), frutose + glicose (%), GF₆ (%), GF₅ (%), GF₄ (1F-β-frutofuranosil-nistose, %), GF₃ (nistose, %), GF₂ (1-kestose, %), turbidez, ácido clorogênico (mg L⁻¹) e fluxo de permeado (L h⁻¹ m⁻²). A análise estatística dos dados foi realizada por análise de variância (ANOVA), utilizando o programa Statistica 7.0 para determinar as variáveis que apresentaram efeitos significativos nas variáveis dependentes a um nível de significância de P < 0,10. A polpa de yacon, sem tratamento enzimático (denominado “Controle A”) foi também processado nas condições do planejamento experimental. Para o Controle A e para o tratamento otimizado, análises complementares foram realizadas (turbidez e cor, L *, a *, b *). Todas as análises químicas e físicas foram realizadas nas amostras antes da microfiltração e são descritas na seção 2.2.5.

2.2.5 Métodos de análises

2.2.5.1 Caracterização das preparações enzimáticas comerciais

As preparações enzimáticas Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L, da Novozymes[®] foram caracterizadas quanto à atividade de: poligalacturonase, celulase e xilanase; determinadas segundo Couri (2000), Wood e Garcia-Campayo (1990), Gomes *et al* (1992), respectivamente. Os grupos redutores liberados foram quantificados pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) conforme Miller (1959). A atividade da pectinametilesterase (PME) foi quantificada pela titulação com NaOH 0,01 M dos grupos carboxila formados (JEN; ROBINSON, 1984). A quantificação espectrofotométrica da pectina liase (PL) ocorreu pelo aumento da absorbância em 235 nm, devido à formação de duplas ligações nos resíduos de ácido galacturônico (ZETELAKI-HORVATH, 1982). A concentração de atividade enzimática (U mL⁻¹) em uma amostra pode ser determinada a partir da velocidade da reação catalisada pela

enzima em análise que por definição 1 unidade (1U) de atividade enzimática corresponde à quantidade de enzima que catalisa uma reação com velocidade de formação de 1 micromol de produto por minuto.

2.2.5.2 *Turbidez e cor*

A turbidez foi realizada utilizando um turbidímetro (Tecnopon, modelo TB-1000, Piracicaba, Brasil) de acordo com a American Public Health Association, American Water Works Association e Water Environment Federation (APHA; AWWA; WEF, 2012), e os resultados foram expressos em NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez).

A cor foi determinada em um colorímetro (Minolta, modelo CR-400, Osaka, Japão), estando os resultados baseados em três coordenadas de cor: L^* , a^* , b^* , em que L^* (luminosidade) varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* varia do verde (-) ao vermelho (+) e b^* varia de azul (-) ao amarelo (+).

2.2.5.3 *Açúcares totais e redutores, e sólidos solúveis*

Os açúcares totais e redutores foram determinados pelos métodos da Antrona (YEMN; WILLIS, 1954) e do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959), respectivamente.

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado utilizando um refratômetro (Atago, modelo Pocket PAL-3, Tóquio, Japão) a $20,0 \pm 0,5$ °C, conforme metodologia da AOAC (2005).

2.2.5.4 *Caracterização do grau de polimerização dos frutooligossacarídeos e açúcares simples*

O conteúdo de frutooligossacarídeos (FOS) foi mensurado pela diferença entre os açúcares totais e os açúcares redutores, como descrito por Lingyun *et al.* (2007). Para qualificar os FOS e os açúcares simples, utilizou-se a análise de cromatografia de camada delgada (CCD). As amostras foram analisadas por CCD, usando placas de sílica gel Sigma-Aldrich (20x20 cm, diâmetro médio de poro de 60 Å; número do produto: 99570-25EA). Amostras de 3 µL foram aplicadas na placa a 1 cm do fundo e a uma distância de separação de 1,0 cm entre si. As placas foram colocadas na câmara de CCD pré-acondicionada à temperatura ambiente (25 °C). O

sistema de solventes utilizado para separar a mistura de carboidratos foi uma mistura de n-butanol/2-propanol/H₂O (10:5:4 [v/v/v]) (SHIOMI; ONODERA; SAKAI, 1997). A placa de CCD foi irrigada pelo sistema solvente duas vezes. Para visualizar os carboidratos separados nas placas, utilizou-se um pulverizador fino contendo n-butanol (80% p/p) como solvente, ácido fosfórico (6,78 mL), ureia (3 g) e etanol (8 mL) em 100 mL. As placas foram aquecidas no forno a 120 °C durante 10 min. Para a quantificação dos oligossacarídeos [GF₆, GF₅, GF₄ (1F-β-frutofuranosil-nistose), GF₃ (nistose) e GF₂ (1-kestose)] e os açúcares simples (sacarose e frutose + glicose), as leituras foram feitas em comprimento de onda de 450 nm em um densitômetro (Camag, TLC scanner 4, Muttenz, Suíça) e os resultados foram avaliados, utilizando o programa Planar winCATS Chromatography Manager.

2.2.5.5 *Ácido clorogênico*

A quantificação de ácido clorogênico foi realizada como descrito por Jaiswal, Deshpande e Kuhnert (2011) com modificações. As análises foram realizadas em um cromatógrafo LC-PDA (Varian, Modelo 920-LC, Walnut Creek, EUA), acoplado com um detector com arranjo de fotodiodo (PAD). Uma coluna Shim-pack CLC-ODS (M) (Shimadzu C18 4,6 x 150 mm) com uma taxa de fluxo de 0,6 mL min⁻¹ foi utilizada. A temperatura do forno da coluna foi ajustada a 30 °C. As amostras foram filtradas utilizando membranas de PVDF de 0,45 µm (Syringe Filter Tedia, Brasil) antes da injeção. A fase móvel consistiu de uma combinação de solvente A (0,1% de ácido fórmico em água) e solvente B (metanol). O gradiente variou linearmente de 10% a 40% de B (v/v) em 22 min, a 70% de B a 24 min, e mantidas durante 6 min. O detector PDA foi ajustado para 324 nm e injetou-se 40 µL de amostra. A quantificação foi realizada por meio de curvas de calibração externas de ácido clorogênico de 10 µg g⁻¹ a 200 µg g⁻¹. Os resultados foram expressos em µg de ácido clorogênico por g de amostra.

2.2.5.6 *Fluxo de permeado*

Nesta etapa, cada experimento foi submetido a um sistema de microfiltração equipado com membranas cerâmicas monotubulares. Os experimentos de microfiltração foram realizados utilizando equipamento de escala de laboratório com um conjunto de 4 membranas de alumina monotubular (Pall industrie, modelo Membralox, Saint-Germain-en-Laye, França) com área de filtração de 0,0055 m² e diâmetro médio de poro de 0,2 µm. A pressão

transmembrana média foi de 3,5 bars (350 kPa) e velocidade tangencial de 6 a 7 m s⁻¹ com temperatura controlada a 45 ± 2 °C para todos os ensaios. O processo foi sempre conduzido utilizando uma razão de redução volumétrica constante (VRR, Equação 1) de 1.

$$VRR = \frac{V_f}{V_r} \quad \text{Equação 1}$$

Com V_f e V_r , sendo os volumes de alimentação e retido, respectivamente.

Após o final de cada ensaio, realizou-se a limpeza do sistema de membranas, seguindo protocolo indicado por Abreu (2013).

2.2.6 Caracterização do suco de yacon clarificado após otimizado do processo

Como condições desejáveis para o processo proposto no presente trabalho, tem-se um elevado fluxo de permeado e compostos bioativos (frutooligossacarídeos e ácido clorogênico). Após análises estatísticas realizadas para todas as respostas, a polpa de yacon foi submetido ao tratamento enzimático nas condições ótimas de concentração de enzimas, temperatura e agitação. Após a clarificação, o produto foi designado como "Controle B" e caracterizado por análises químicas e físicas. Assim como ocorreu com o "Controle A" (polpa de yacon, sem tratamento enzimático), foram realizadas análises complementares (turbidez e parâmetros de cor, L^* , a^* , b^*) para comparar os resultados.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Caracterização das preparações enzimáticas comerciais

Para caracterizar as preparações de Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L, foram medidas 5 atividades enzimáticas (poligalacturonase, pectinametilsterase, pectina liase, celulasas e xilanases). Os resultados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização das atividades das preparações enzimáticas comerciais

Preparações enzimáticas	Pectinases (U mL ⁻¹)			Celulasas (U mL ⁻¹)	Xilanases (U mL ⁻¹)
	PG	PME	PL		
Pectinex [®] Ultra SP-L	565,95	24,19	6,66	22,24	26,45
Celluclast [®] 1,5 L	N.D	808,40	5,00	15,30	407,90

N.D - não determinado; PG- poligalacturonase; PME - pectinametilsterase; PL – pectina liase

A Pectinex[®] Ultra SP-L, frequentemente utilizada no processamento de sucos de frutas para reduzir a viscosidade, mostrou conter uma elevada atividade de poligalacturonase, tendo apresentado atividade enzimática também para as outras pectinases, que atuam na degradação da pectina, facilitando assim a degradação da parede celular. É importante destacar a presença da atividade de pectina liase, pois segundo Sassi *et al.* (2017), as pectina liases são as pectinases conhecidas por serem capazes de degradar pectinas altamente esterificadas em pequenas moléculas sem produzir metanol e sem alterar o teor de éster responsável pelo aroma específico dos sucos.

A preparação enzimática Celluclast[®] 1.5 L se destacou pela maior concentração de pectinametilesterase e xilanases. Em relação às atividades pectinolíticas, percebeu-se que o complexo, mesmo sendo à base de celulases possui a atividade de pectinametilesterase e pectina liase. Não foi detectada a presença de poligalacturonase.

A utilização das enzimas Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L na maceração enzimática da polpa de yacon foi justificado devido a estrutura celular do yacon ser formada principalmente por celulose e hemicelulose, sendo as pectinas encontradas em menor quantidade (CASTRO *et al.*, 2013). A polpa de yacon passou por uma etapa de acidificação, e essas enzimas possuem condições ótimas de atuação em pH ácidos. A Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L têm condições de trabalho ótimas a pH 4,8 (POCAN *et al.*, 2017).

2.3.2 Otimização do processo

O efeito das variáveis independentes (Pectinex[®] Ultra SP-L, Celluclast[®] 1.5 L, temperatura e agitação) sobre as funções de resposta (sólidos solúveis, açúcar total, açúcares redutores, sacarose, frutose + glicose, GF₆, GF₅, GF₄ – 1F- β -frutofuranosil-nistose, GF₃ – nistose, GF₂ – 1-kestose, turbidez, ácido clorogênico e fluxo de permeado) foram obtidos através dos resultados experimentais, totalizando 27 experimentos, e são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Matriz do delineamento composto central rotacional (DCCR) e resultados experimentais após as diferentes condições de tratamento enzimático

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	SS	AT	AR	Sac	Fru + Gli	GF ₆	GF ₅	GF ₄	GF ₃	GF ₂	Turb	ACG	FPerm
1	-1	-1	-1	-1	13,05	12,21	5,60	1,44	1,31	1,29	1,91	2,92	1,08	2,27	22,13	22,49	195,19
2	+1	-1	-1	-1	13,30	11,85	5,99	1,33	1,25	1,03	1,11	1,71	2,70	2,71	24,93	18,33	206,10
3	-1	+1	-1	-1	13,25	11,30	5,65	0,82	1,16	2,13	1,20	1,97	2,82	1,19	27,43	18,48	185,06
4	+1	+1	-1	-1	13,20	14,28	5,55	1,84	2,04	1,88	1,20	1,66	2,58	3,09	23,83	23,56	190,52
5	-1	-1	+1	-1	13,40	14,33	6,02	1,80	1,62	1,38	1,17	1,82	3,18	3,36	15,03	21,72	159,35
6	+1	-1	+1	-1	12,80	11,27	5,24	1,13	1,18	1,34	1,98	1,19	2,21	2,25	19,73	17,67	163,64
7	-1	+1	+1	-1	12,60	12,55	6,05	1,30	1,26	1,64	1,25	1,72	2,78	2,59	20,80	22,78	176,88
8	+1	+1	+1	-1	13,45	11,69	5,93	1,09	0,95	1,58	1,50	1,63	2,62	2,32	24,27	28,48	162,08
9	-1	-1	-1	+1	13,30	10,82	5,52	0,52	0,77	2,12	1,48	1,46	2,28	2,20	12,80	25,62	181,17
10	+1	-1	-1	+1	13,10	12,38	5,85	0,38	0,58	1,57	1,83	2,26	3,13	2,62	22,87	22,45	205,32
11	-1	+1	-1	+1	13,30	13,12	5,77	0,24	0,44	1,59	2,06	2,48	4,20	2,11	19,97	19,00	188,57
12	+1	+1	-1	+1	13,10	13,31	5,55	0,38	0,86	1,17	1,73	2,64	3,12	3,43	18,93	18,92	196,75
13	-1	-1	+1	+1	13,30	12,31	5,55	1,23	1,29	1,59	1,58	1,72	1,98	2,92	21,57	25,76	164,42
14	+1	-1	+1	+1	13,75	12,03	5,85	1,56	1,28	0,65	1,27	1,75	2,65	2,86	9,29	18,00	163,64
15	-1	+1	+1	+1	14,00	13,14	5,78	1,12	1,46	2,12	1,27	1,82	2,62	2,72	5,19	23,96	167,92
16	+1	+1	+1	+1	13,65	11,51	6,06	0,93	0,95	1,81	1,25	1,58	2,51	2,47	22,97	20,28	190,13
17	-2	0	0	0	12,80	12,21	6,39	0,96	1,41	0,68	1,39	1,92	2,81	3,03	20,93	22,75	159,74
18	+2	0	0	0	13,30	12,50	5,43	1,00	1,34	2,10	1,22	1,70	2,53	2,61	7,83	24,84	183,90
19	0	-2	0	0	13,30	11,95	5,73	0,72	0,92	1,71	1,31	1,85	2,68	2,74	5,38	22,67	176,88
20	0	+2	0	0	13,90	12,93	5,49	1,13	1,24	0,87	1,43	2,20	3,06	3,00	6,32	21,46	205,32
21	0	0	-2	0	12,95	12,17	5,54	1,03	1,24	1,45	1,81	1,98	2,01	2,66	2,39	19,84	195,58
22	0	0	+2	0	12,75	13,39	5,41	1,68	1,17	0,84	1,49	2,04	3,07	3,10	13,73	21,57	147,27
23	0	0	0	-2	11,75	12,88	5,45	1,67	1,62	0,75	1,38	1,89	2,74	2,83	11,27	22,31	194,81
24	0	0	0	+2	12,00	11,53	5,59	1,56	1,17	0,62	1,25	1,74	2,55	2,63	17,53	19,77	192,08
25	0	0	0	0	13,10	13,31	5,72	1,49	1,36	0,72	1,48	1,67	2,96	2,91	5,09	25,43	208,44
26	0	0	0	0	13,40	13,23	5,63	2,19	1,26	0,89	1,63	1,15	3,49	2,78	9,53	25,76	195,19
27	0	0	0	0	13,30	12,37	5,68	1,12	1,56	1,13	1,58	1,61	3,22	2,45	5,74	25,62	185,06
Controle A*	-	-	-	-	11,70	11,29	4,46	1,87	1,92	0,52	1,50	0,99	1,92	2,57	1.000,00	25,47	138,31
Controle B**	-	-	-	-	10,73	11,15	3,36	0,99	1,25	1,13	1,33	1,44	2,33	2,23	5,09	23,92	196,23

X₁ = Pectinex® Ultra SP-L (mg L⁻¹); X₂ = Celluclast® 1.5 L (mg L⁻¹); X₃ = Temperatura (°C); X₄ = Agitação (rpm); SS = Sólidos solúveis (°Brix), AT = Açúcares totais (%), AR = Açúcares redutores (%), Sac = Sacarose (%), Fru + Gli = Frutose + Glicose (%), GF₄ = 1F-β-frutofuranosil-nistose (%), GF₃ = Nistose (%), GF₂ = 1-kestose (%), Turb = Turbidez (NTU), ACG = Ácido clorogênico (μg g⁻¹) e FPerm = Fluxo de permeado (L h⁻¹ m²). Controle A* = Polpa de yacon, sem tratamento enzimático. Controle B** = Condição otimizada, e caracterização do produto após a clarificação. Os níveis de cada variável estão descritos na Tabela 1.

Para a avaliação estatística dos resultados obtidos, foram determinados os coeficientes de regressão para todos os parâmetros. A qualidade de ajuste do modelo foi verificada através da análise de variância (ANOVA). Os coeficientes de regressão, o erro padrão, o valor de t calculado (t_{calc}) e os limites de confiança para todas as respostas analisadas que não foram significativas encontram-se nos APÊNDICES A-K. Apenas as variáveis ácido clorogênico e fluxo de permeado foram significativas conforme mostra a Tabela 4 abaixo:

Tabela 4 – Coeficientes de regressão para as respostas ácido clorogênico e fluxo de permeado na maceração enzimática do yacon

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
<i>Ácido clorogênico</i>				
Média	25,60	0,86	29,68	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	-0,33	0,30	-1,080	0,2993
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	-0,48	0,32	-1,490	0,1616
Celluclast® 1.5 L (L)	0,04	0,30	0,14	0,8936
Celluclast® 1.5 L (Q)	-0,91	0,32	-2,83	0,0152
Temperatura (L)	0,55	0,30	1,81	0,0951
Temperatura (Q)	-1,26	0,32	-3,88	0,0022
Agitação (L)	-0,19	0,30	-0,63	0,5414
Agitação (Q)	0,17	0,32	-3,62	0,0035
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	1,64	0,37	4,38	0,0009
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	-0,47	0,37	-1,25	0,2357
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	-1,08	0,37	-2,89	0,0136
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	1,33	0,37	3,56	0,0039
Celluclast® 1.5 L e Agitação	-1,42	0,37	-3,81	0,0025
Temperatura e Agitação	-0,36	0,37	-0,97	0,3525
<i>Fluxo de permeado</i>				
Média	196,23	4,75	41,30	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	4,50	1,68	2,68	0,0201
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	-6,25	1,78	-3,51	0,0043
Celluclast® 1.5 L (L)	3,17	1,68	1,88	0,0840
Celluclast® 1.5 L (Q)	-1,43	1,78	-0,80	0,4370
Temperatura (L)	-12,38	1,68	-7,37	0,0000
Temperatura (Q)	-6,35	1,78	-3,56	0,0039
Agitação (L)	0,57	1,68	0,34	0,7409
Agitação (Q)	-0,85	1,78	-0,48	0,6432
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	-1,09	2,06	-0,53	0,6043
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	-2,36	2,06	-1,15	0,2734
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	2,99	2,06	1,46	0,1713
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	4,55	2,06	2,21	0,0470
Celluclast® 1.5 L e Agitação	2,41	2,06	1,17	0,2641
Temperatura e Agitação	1,83	2,06	0,89	0,3921

Fatores em negrito foram estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

A ANOVA para cada uma das respostas indicou que o ácido clorogênico e o fluxo de permeado foram adequados para o modelo, com valores de R^2 de 0,810 e 0,829, respectivamente. Quanto mais próximo o valor R^2 for da unidade, melhor o modelo empírico se ajusta aos dados reais. Embora não seja ideal, os valores obtidos para R^2 são valores aceitáveis para sistemas biológicos. Além disso, o valor de F calculado (F_{calc}) foi maior do que

o respectivo valor de F tabelado (F_{tab}) para ambas as respostas; enquanto que o valor P do modelo foi inferior a 0,0001 conforme a Tabela 5.

Tabela 5 – Análises de variância do modelo quadrático para as variáveis ácido clorogênico e fluxo de permeado do planejamento experimental

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F_{Calc}	F_{Tab}	p-valor
<i>Ácido clorogênico</i>						
Regressão	175,0	8	21,9	9,6	2,04	0,00004
Resíduos	40,9	18	2,3			
Falta de ajuste	40,8	16	2,6	93,0	9,28	0,01069
Erro puro	0,1	2	0,0			
Total	215,9	26				
<i>Fluxo de permeado</i>						
Regressão	6140,9	6	1023,5	16,2	2,09	0,00001
Resíduos	1265,5	20	63,6			
Falta de ajuste	990,6	18	55,0	0,4	9,36	0,88970
Erro puro	274,9	2	137,5			
Total	7406,4	26				

Consequentemente, é possível definir um modelo estatisticamente válido ($P < 0,10$), dado pelas equações 2 e 3, sendo:

$$\text{ACG} = 24,75 - 0,75 X_2^2 + 0,55 X_3 - 1,09 X_3^2 - 1,01 X_4^2 + 1,64 X_1 X_2 - 1,08 X_1 X_4 + 1,33 X_2 X_3 - 1,42 X_2 X_4 \quad \text{Equação 2}$$

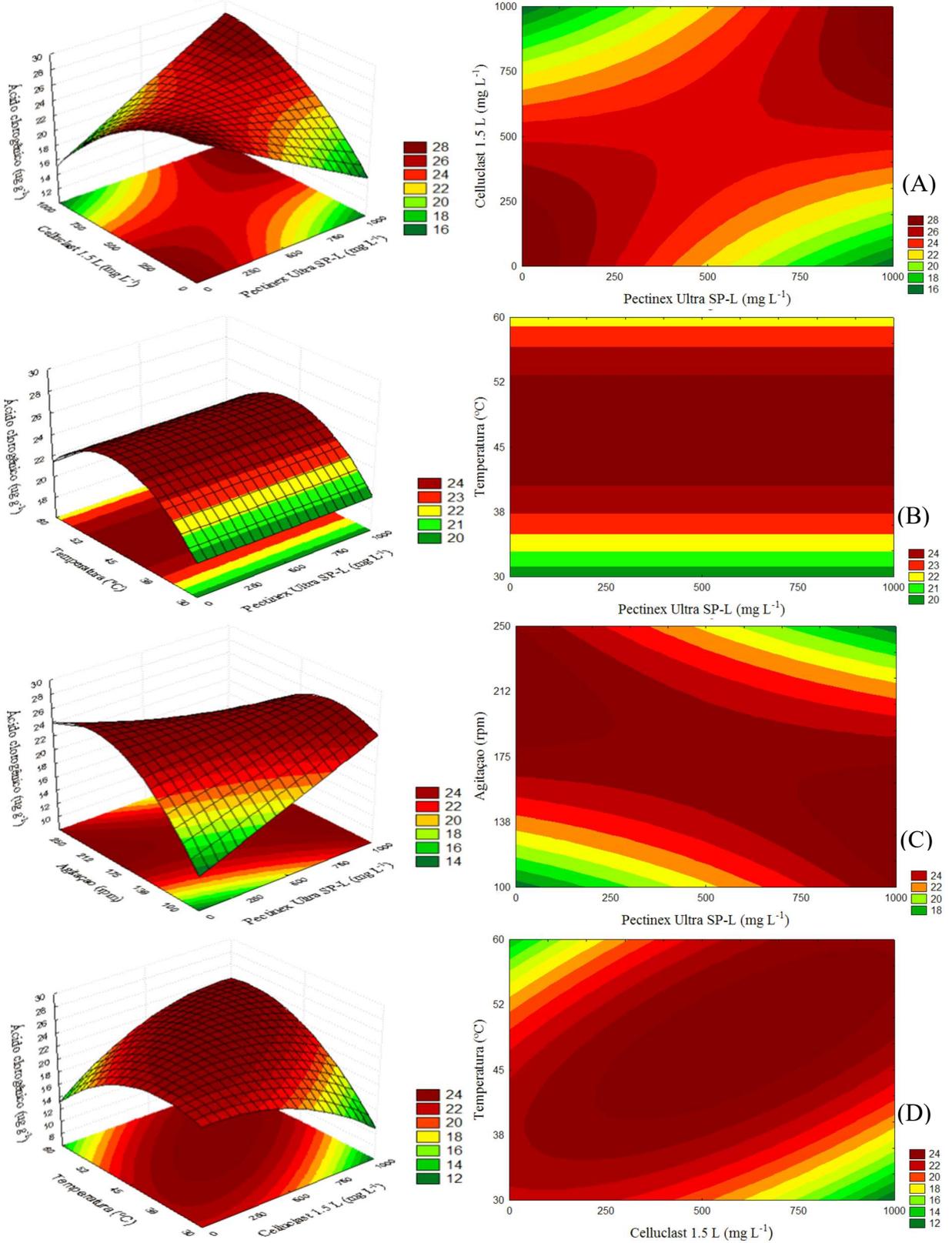
$$\text{FPerm} = 193,19 + 4,50 X_1 - 5,68 X_1^2 + 3,17 X_2 - 12,38 X_3 - 5,78 X_3^2 + 4,55 X_2 X_3 \quad \text{Equação 3}$$

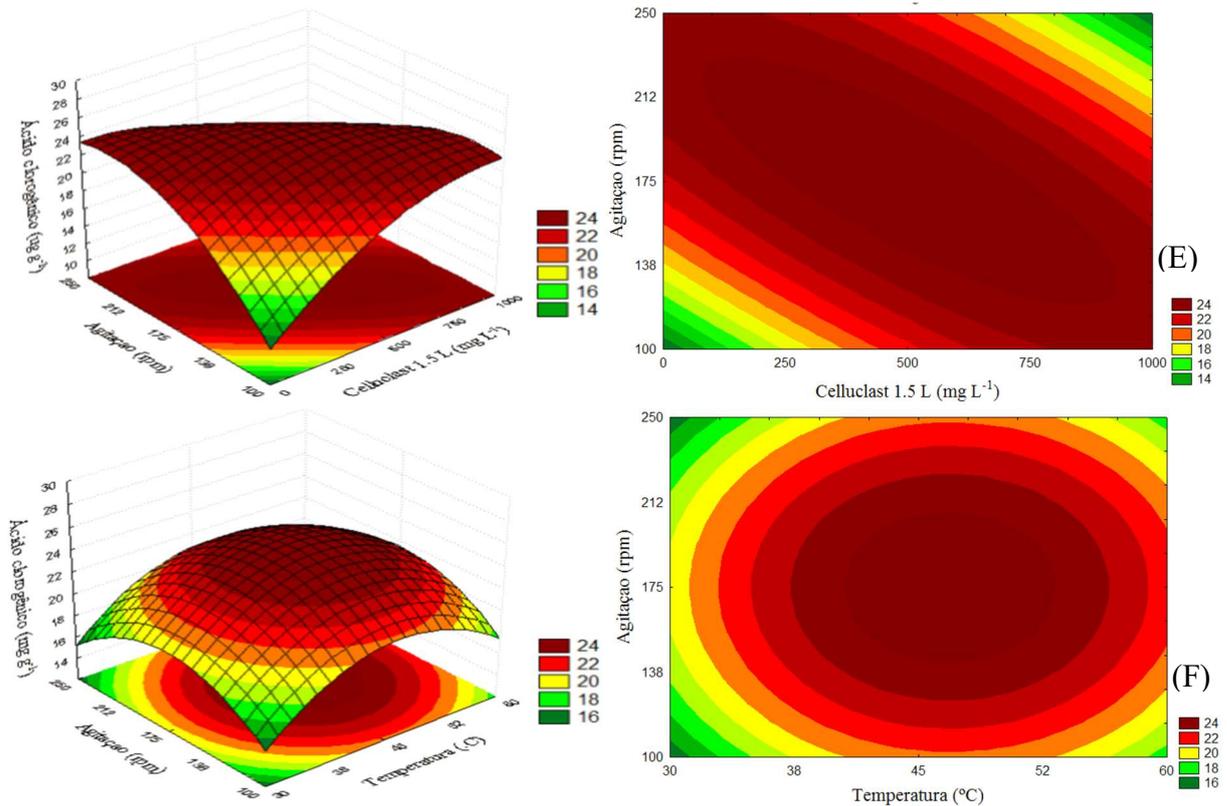
Onde ACG = Ácido clorogênico, FPerm = Fluxo de permeado, X_1 = Pectinex[®] Ultra SP-L, X_2 = Celluclast[®] 1.5 L, X_3 = Temperatura e X_4 = Agitação.

As equações obtidas são graficamente representadas nas Figuras 2 e 3 (superfícies de resposta e curvas de contorno).

O ácido clorogênico (ACG) foi afetado por todas as variáveis independentes. Em geral, a máxima concentração deste composto fenólico ocorreu no ponto central do delineamento estatístico (experimentos 25, 26 e 27) (Tabela 2).

Figura 2 – Superfície de resposta e curva de contorno do ácido clorogênico em função de Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L – (A); Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura – (B); Pectinex® Ultra SP-L e Agitação – (C); Celluclast® 1.5 L e Temperatura – (D); Celluclast® 1.5 L e Agitação – (E); Temperatura e Agitação – (F)





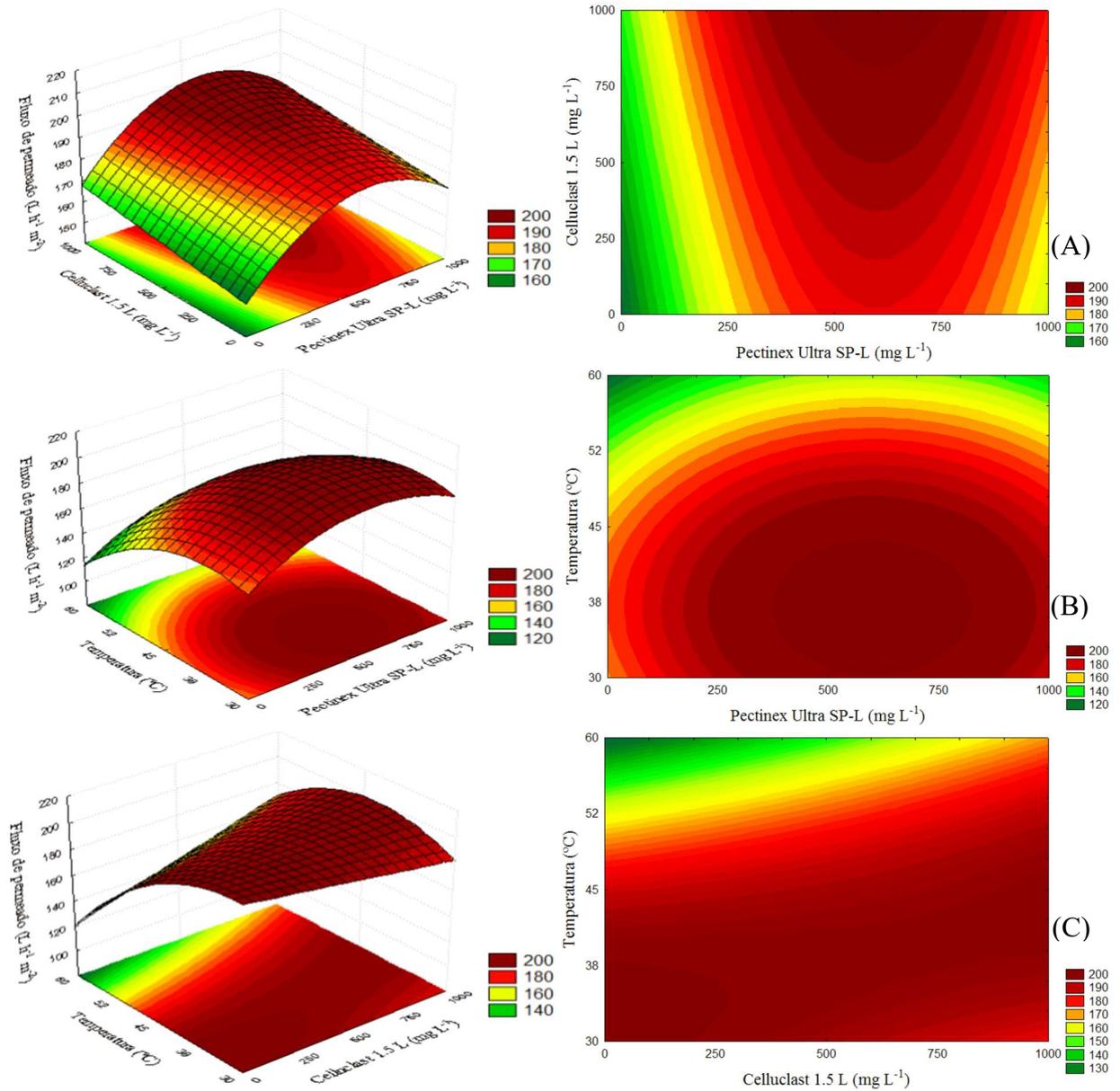
Fonte: Elaborado pela autora (2017).

De acordo com a superfície de resposta e a curva de contorno (Figura 2F), pode-se observar que, menores concentrações de ACG ocorreram nos níveis axiais do planejamento estatístico. O uso da agitação a 250 rpm e da temperatura de 60 °C, por exemplo, pode ter diminuído a concentração do ACG provavelmente devido a exposição deste composto fenólico ao oxigênio e temperatura (degradação oxidativa e térmica) (GRAS *et al.*, 2016), o que influenciou negativamente nos níveis de ACG.

Para o fluxo de permeado, os resultados da Tabela 2 mostram que em todos os ensaios, os valores foram superiores ao "Controle A" (polpa de yacon, sem tratamento enzimático), indicando que todos os processos enzimáticos testados no planejamento foram capazes de reduzir o tamanho das partículas, pois as enzimas são catalisadores biológicos que têm a capacidade de dissolver moléculas complexas em moléculas simples (CERDA *et al.*, 2016), possibilitando, deste modo, o aumento do fluxo de permeado.

De acordo com os resultados dos coeficientes de regressão (Tabela 4), o fluxo de permeado foi estatisticamente afetado pelo uso de Pectinex[®] Ultra SP-L (parâmetros linear e quadrático); Celluclast[®] 1.5 L (parâmetro linear); temperatura (parâmetros linear e quadrático) e pela interação entre Celluclast[®] 1.5 L e temperatura, conforme pode ser visualizado na Figura 3.

Figura 3 – Superfície de resposta e curva de contorno do fluxo de permeado em função de Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L – (A); Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura – (B); Celluclast® 1.5 L e Temperatura – (C)



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

Pinelo, Jonsson e Meyer (2009) afirmam que a catálise enzimática pode modificar as propriedades estruturais e funcionais de sacarídeos, bem como a sua separação de alto rendimento por tecnologia de membrana. Além disso, um aumento da temperatura, resulta numa diminuição na viscosidade do fluido e no aumento da mobilidade molecular, isto é na difusividade, resultando em um fluxo de permeado mais elevado (FERREIRA; COZAR; SCHMIDT, 2016). Adicionalmente, a influência da temperatura na atividade da Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L é amplamente relatada por vários trabalhos (MONTILLA *et al.*, 2011; GALANT *et al.*, 2014; RODRIGUES; CARVALHO; ROCHA, 2014).

Pela análise das superfícies de resposta e curvas de contorno, pode-se verificar que a Pectinex[®] Ultra SP-L e a Celluclast[®] 1.5 L influenciaram positivamente o teor de ACG, e os níveis mais altos deste composto ocorreram quando as enzimas foram usadas no ponto (+1) (Tabela 3, ensaio 8). No entanto, nessa condição, o fluxo de permeado exibe um dos valores mais baixos (162,08 L h⁻¹ m⁻²), sendo cerca de 20% inferior em relação ao ponto central (196,23 L h⁻¹ m⁻²). Por esta razão, a condição ótima do planejamento estatístico, considerando todas as respostas significativas envolvidas (ácido clorogênico e fluxo de permeado) foi o uso de 500 mg L⁻¹ de Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L, a 45 °C e 175 rpm, o que corresponde ao ponto central do modelo experimental.

Os teores de carboidratos não foram significativamente afetados ($P < 0,10$) nos níveis testados, considerando os resultados do planejamento experimental, as respostas açúcares totais, açúcares redutores, sacarose, frutose + glicose, GF₆, GF₅, GF₄ (1F- β -frutofuranosil-nistose), GF₃ (nistose), GF₂ (1-kestose) não apresentaram diferença estatística entre os experimentos. Estruturalmente, os FOS são compostos principalmente por 1-kestose (GF₂), nistose (GF₃) e 1F- β -frutofuranosil-nistose (GF₄) em que as unidades de frutose são ligadas em β (2 \rightarrow 1) com a última α (2 \rightarrow 1) ligada a porção de glicose terminal (DOMINGUEZA *et al.*, 2012).

Estes resultados mostram que os carboidratos em geral, não foram influenciados pela faixa de temperatura, agitação e concentrações das enzimas utilizadas no planejamento experimental. Diversos estudos têm demonstrado a estabilidade da inulina comercial e do FOS em sistemas modelo, principalmente em tampão, simulando condições de processamento de alimentos (L'HOMME; PUIGSERVER; BIAGINI, 2003; HUEBNER *et al.*, 2008; COURTIN *et al.*, 2009; MATUSEK *et al.*, 2009). Em geral, os autores concluíram que o FOS pode ser considerado funcionalmente estável após a pasteurização. Além disso, considerando o processo de esterilização a 100 °C (até 60 minutos), Courtin *et al.* (2009) não encontraram decomposição substancial a pH baixo ou neutro (pH 2,0; 3,0 ou 7,0). As condições utilizadas nesse trabalho foram menores do que o mínimo aceito para causar uma degradação significativa do FOS.

2.3.3 Tratamento otimizado e testes confirmativos

A MSR foi utilizada para estabelecer as melhores variáveis do processo (concentrações de Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L, temperatura e agitação) para o tratamento enzimático a fim de obter um suco clarificado de yacon. Com o auxílio das curvas de contorno, o conjunto ótimo de variáveis operacionais pôde ser obtido graficamente, de modo

a atingir os níveis de tratamento desejados para o suco de yacon. Assim, foi selecionada a condição que apresentou a maior qualidade do produto (com base principalmente no ácido clorogênico), um fluxo de permeado mais elevado e a menor concentração de enzimas - que influenciam diretamente os custos do processo. As condições ótimas propostas foram de 500 mg L⁻¹ de Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L, a 45 °C e 175 rpm, durante 120 min. O suco de yacon obtido, usando estas condições, resultou nos valores preditos de ácido clorogênico de $24,75 \pm 0,65 \mu\text{g g}^{-1}$ e fluxo de permeado de $191,0 \pm 4,88 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. A Tabela 2 mostra os valores obtidos para todos os ensaios e controles, em que o "Controle A" correspondeu a um ensaio com a polpa de yacon sem tratamento enzimático e o "Controle B", a um ensaio com o suco de yacon após tratamento enzimático nas condições otimizadas e uma caracterização do produto após a clarificação. Ao considerar-se todas as análises realizadas, é possível observar, em geral, que a composição de carboidratos é muito similar, bem como a concentração de ácido clorogênico, mostrando que o processo não exibiu influência significativa em seus compostos bioativos.

Para verificar se a microfiltração foi capaz de produzir um suco clarificado de alta qualidade, foram realizadas análises complementares, como os valores de turbidez (expresso em NTU) e parâmetros de cor L*, a* e b*. A turbidez mede as propriedades de dispersão da luz de uma solução, proporcionando, conseqüentemente, a medida mais direta da concentração de partículas polidispersas em uma solução (VAILLANT *et al.*, 2008). Valores mais baixos de NTU mostram que a microfiltração foi eficiente para remover as partículas dispersas. Os resultados obtidos para "Controle A" e "Controle B", respectivamente foram: 1.000,0 e $5,09 \pm 0,08$ NTU para turbidez; $42,36 \pm 0,40$ e $62,98 \pm 0,81$ para L*; $6,91 \pm 0,0$ e $-1,23 \pm 0,04$ para a*; e $22,68 \pm 0,20$ e $4,83 \pm 0,06$, para b*. Os níveis mais baixos de turbidez, níveis mais elevados de L* e níveis mais baixos de a* e b* mostraram que a microfiltração foi eficiente para clarificar o suco de yacon.

2.4 Conclusões

O processo de maceração enzimática foi empregado com sucesso para a clarificação por microfiltração do suco de yacon. As condições recomendadas são: concentração enzimática de 500 mg L⁻¹ de Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L, a 45 °C e 175 rpm durante 120 min. Nestas condições otimizadas, o fluxo de permeado foi cerca de 40% mais elevado do que o controle (sem tratamento enzimático), além de permitir obter um material límpido com baixa turbidez e manutenção dos compostos bioativos (frutooligossacarídeos e ácido clorogênico).

REFERÊNCIAS

- ABREU, F. P. *et al.* Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) extract from by-product of juice processing: a focus on carotenoids. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 25-31, May 2013.
- AMIN, F. *et al.* Multiple parameter optimizations for enhanced biosynthesis of exo-polygalacturonase enzyme and its application in fruit juice clarification. **International Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 2, Feb. 2017.
- AOAC. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry International**. 18. ed. Gaithersburg: Associations of Official Analytical Chemists, 2005. 1015 p.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington DC, USA: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF), 2012. 1360 p.
- CAETANO, B. F. R. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a food supplement: health-promoting benefits of fructooligosaccharides. **Nutrients**, v. 8, n. 7, p. 436, Jul. 2016.
- CAMPOS, D. *et al.* Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1592-1599, Dec. 2012.
- CASTRO, A. *et al.* Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 392-400, Jan. 2013.
- CERDA, Alejandra *et al.* Methanisation of spent maqui berry pomace via enzymatic treatment. **Renewable Energy**, v. 87, Part 1, p. 326-331, Mar. 2016.
- COURI, S. *et al.* Hidrolytic enzyme production in solid-state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. **Process Biochemistry**, v. 36, n. 3, p. 255-261, Oct. 2000.
- COURTIN, C. *et al.* Heat and pH stability of prebiotic arabinoxylooligosaccharides, xylooligosaccharides and fructooligosaccharides. **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 831-837, Feb. 2009.
- DELGADO, G. T. C. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): a functional food. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 222-228, Sep. 2013.
- DIONÍSIO, A. P. *et al.* Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) functional beverage improve the diabetic state in rats. **Food Research International**, v. 77, Part 2, p. 171-176, Nov. 2015.
- DIONÍSIO, A. P. *et al.* **Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*):** obtenção de extrato com manutenção das propriedades nutricionais e inativação de enzimas de escurecimento. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 206).

- DOMINGUEZA, A. *et al.* New improved method for fructooligosaccharides production by *Aureobasidium pullulans*. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 4, p. 1174-1179, Aug. 2012.
- FERREIRA, R. E.; COZAR, C. A.; SCHMIDT, F. L. Accumulated flux and resistances in clarification of sugarcane juice by microfiltration-impact of operational parameters. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 5, p. 2151-2158, May 2016.
- GALANT, A. L. *et al.* Compositional and structural characterization of pectic material from frozen concentrated orange juice. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 661-669, Mar. 2014.
- GHOSH, P.; PRADHAN, R. C.; MISHRA, S. Optimization of process parameters for enhanced production of jamun juice using pectinase (*Aspergillus aculeatus*) enzyme and its characterization. **3 Biotech**, v. 6, n. 2, p. 241, Dec. 2016.
- GOMES, I. *et al.* Production of cellulase and xylanase by a wild strain of *Trichoderma viride*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 5, p. 701-707, Feb. 1992.
- GRAS, C. C. *et al.* Effect of genuine non-anthocyanin phenolics and chlorogenic acid on color and stability of black carrot (*Daucus carota* ssp. sativus var. atrorubens Alef.) anthocyanins. **Food Research International**, v. 85, p. 291-300, Jul. 2016.
- HUEBNER, J. *et al.* Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 3, p. 287-293, Mar. 2008.
- JAISWAL, R.; DESHPANDE, S.; KUHNERT, N. Profiling the chlorogenic acids of *Rudbeckia hirta*, *Helianthus tuberosus*, *Carlina acaulis* and *Symphytotrichum novae-angliae* leaves by LC-MSⁿ. **Phytochemical Analysis**, v. 22, n. 5, p. 432-441, Sep./Oct. 2011.
- JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Science**, v. 49, n. 4, p. 1085-1087, Jul. 1984.
- L'HOMME, C.; PUIGSERVER, A.; BIAGINI, A. Effect of food-processing on the degradation of fructooligosaccharides in fruit. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 533-537, Sep. 2003.
- LAYAL, D. *et al.* Development of an original lab-scale filtration strategy for the prediction of microfiltration performance: application to orange juice clarification. **Separation and Purification Technology**, v. 156, Part 1, p. 42-50, Oct. 2015.
- LEE, W. C. *et al.* Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). **Journal of Food Engineering**, v. 73, n. 1, p. 55-63, Mar. 2006.
- LIEW ABDULLAH, A. G. *et al.* Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 65-71, Jul. 2007.
- LINGYUN, W. *et al.* Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 3, p. 1087-1093, Apr. 2007.

- MACHADO, M. T. C. *et al.* Clarification and concentration of oligosaccharides from artichoke extract by a sequential process with microfiltration and nanofiltration membranes. **Journal of Food Engineering**, v. 180, p. 120-128, Jul. 2016.
- MATUSEK, A. *et al.* Effect of temperature and pH on the degradation of fructo-oligosaccharides. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 3, p. 355-365, Jan. 2009.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Biochemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, Mar. 1959.
- MONTILLA, A. *et al.* Study of influential factors on oligosaccharide formation by fructosyltransferase activity during stachyose hydrolysis by Pectinex Ultra SP-L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 19, p. 10705-10711, Sep. 2011.
- NUR'ALIAA, A. R. *et al.* Response surface optimization for clarification of white pitaya juice using a commercial enzyme. **Journal of Food Process Engineering**, v. 33, n. 2, p. 333-347, Apr. 2010.
- PINELO, M.; JONSSON, G.; MEYER, A. S. Membrane technology for purification of enzymatically produced oligosaccharides: molecular and operational features affecting performance. **Separation and Purification Technology**, v. 70, n. 1, p. 1-11, Nov. 2009.
- POCAN, P. *et al.* Enzymatic hydrolysis of fruit peels and other lignocellulosic biomass as a source of sugar. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-9, 2017.
- RODRIGUES, I. M.; CARVALHO, M. G. V. S.; ROCHA, J. M. S. Increasing the protein content of rapeseed meal by enzymatic hydrolysis of carbohydrates. **Bio Resources**, v. 9, n. 2, p. 2010-2025, May 2014.
- RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. 3. ed. Campinas: Carita, 2014. p. 135-232.
- RUSSO, D. *et al.* Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 17696-17718, Jul. 2015.
- SASSI, A. H. *et al.* Enhancement of solubility, purification and inclusion-bodies-refolding of an active pectin lyase from *Penicillium occitanis* expressed in *Escherichia coli*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 256-262, Feb. 2017.
- SHIOMI, N.; ONODERA, S.; SAKAI, H. Fructooligosaccharide content and fructosyltransferase activity during growth of onion bulbs. **New Phytologist**, v. 136, n. 1, p. 105-113, May 1997.
- SIN, H. N. *et al.* Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 73, n. 4, p. 313-319, Apr. 2006.
- TIBOLLA, H. *et al.* Cellulose nanofibers produced from banana peel by enzymatic treatment: study of process conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 664-674, Jan. 2017.

VAILLANT, F. Turbidity of pulpy fruit juice: a key factor for predicting cross-flow microfiltration performance. **Journal of Membrane Science**, v. 15, n. 1, p. 404-412, Nov. 2008.

WOOD, T. M.; GARCIA-CAMPAYO, V. Enzymology of cellulose degradation. **Biodegradation**, v. 1, n. 2, p. 147-161, Jun. 1990.

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, Jul. 1954.

ZETELAKI-HORVATH, K. Factors affecting pectin lyase activity. **Acta Alimentaria**, v. 11, n. 1, p. 21-29, Mar. 1982.

ZHU, C.; LIU, X. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from Pomegranate peel by response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1197-1202, Feb. 2013.

CAPÍTULO 3: XAROPE DE YACON: CARACTERIZAÇÃO E EFEITO NAS ETAPAS DE PROCESSAMENTO NOS CONTEÚDOS DE ÁCIDO CLOROGÊNICO E FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS

RESUMO

O xarope de yacon é um produto obtido das raízes de yacon a partir de uma rota tecnológica, que contempla a maceração enzimática, seguida de microfiltração e concentração a vácuo, apresentando elevados teores de oligossacarídeos prebióticos, mais especificamente os frutooligossacarídeos (FOS), e compostos de natureza fenólica específicos, como o ácido clorogênico (ACG). O presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização química e físico-química do xarope de yacon e avaliar a influência das diferentes etapas de sua produção nos teores de FOS e ACG. A caracterização completa do xarope de yacon foi realizada por meio de diversas técnicas analíticas, incluindo RMN e UPLC-QToF-MS^E. O efeito nas etapas de processamento do xarope de yacon na composição de FOS, ACG e no perfil de fenólicos também foi avaliado. Como resultado, o xarope apresentou alta concentração de FOS e ACG, além de apresentar elementos minerais, tais como K, Ca e P e aminoácidos essenciais, como triptofano, valina e treonina, que são compostos de elevado valor nutricional. Vinte e cinco compostos foram tentativamente identificados, usando a informação molecular, dados da literatura e quimiotaxonomia do gênero. Os compostos principais foram compostos fenólicos derivados dos ácidos quínico e trans-cinâmicos, como ácido clorogênico, ácido dicafeoilquínico e ésteres de ácido caféico. Ao considerar as diferentes etapas do processamento, verificou-se que os teores de FOS e ACG foram mantidos, levando à uma concentração destes componentes no xarope cerca de seis vezes maior do que a concentração encontrada na polpa de yacon. O xarope de yacon se apresentou como um importante produto do ponto de vista nutricional e funcional, podendo vir a responder a um mercado que busca cada vez mais por produtos inovadores na área de alimentos funcionais.

Palavras-chave: Frutooligossacarídeos. Compostos fenólicos. UPLC-QToF. RMN.

ABSTRACT

Yacon syrup is a product obtained from a technological route, which include an enzymatic maceration, followed by microfiltration and vacuum concentration, presenting high levels of prebiotic oligosaccharides, more specifically fructooligosaccharides (FOS), and compounds of specific phenolic nature, such as chlorogenic acid (CGA). The objective of the present work was the chemical and physico-chemical characterization to the yacon syrup and to evaluate the influence of the different stages of its production on the FOS and CGA levels. A complete characterization of yacon syrup was performed by various analytical techniques, including NMR and UPLC-QToF-MS^E. The effect of the yacon syrup processing steps on the composition of FOS, CGA and no phenolic profile was also evaluated. As result, a high concentration of FOS and CGA can be observed, besides presenting mineral elements, such as K, Ca and P, and essential amino acids, such as tryptophan, valine and threonine, which are compounds of high nutritional value. Twenty-five compounds were tentatively identified, using molecular information, literature data and chemotaxonomy of the genus. The main compounds were phenolic compounds derived from quinic and trans-cinnamic acids, such as chlorogenic acid, dicaffeoylquinic acid and esters of caffeic acid. When considering the different stages of processing, it was found that the contents of FOS and ACG were maintained, leading to a concentration of these components in the syrup about six times higher than the concentration found in the yacon pulp. Yacon syrup has emerged as an important product from a nutritional and functional point of view, being able to respond to a market that is increasingly looking for innovative products in the area of functional foods.

Keywords: Phenolic compounds. Fructooligosaccharides. UPLC-QToF. NMR.

3.1 Introdução

As raízes tuberosas de yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] têm sido utilizadas durante séculos como alimento básico da população andina, sendo consumidas principalmente como fruta, em contraste com a maioria das raízes comestíveis (CAETANO *et al.*, 2011). No entanto, vários produtos alimentícios, como o yacon minimamente processado (VASCONCELOS *et al.*, 2015), geléia (SALVADOR *et al.*, 2012), farinha (SOUSA *et al.*, 2015) e suco (FRANCO *et al.*, 2016) foram desenvolvidos, utilizando o yacon como matéria-prima. Porém, o seu uso como produto concentrado – como no caso de xarope - torna versátil e prática a sua incorporação em diferentes produtos alimentícios.

O yacon tem sido reportado por apresentar propriedades funcionais, dentre elas destaca-se seus frutooligosacarídeos prebióticos e seus fenólicos diferenciados (CAETANO *et al.*, 2016; SIMONOVSKA *et al.*, 2003). A maioria dos efeitos benéficos relatados pelo consumo de yacon resulta da presença de tais compostos, como as propriedades antioxidantes e antidiabéticas (BIAZON *et al.*, 2016). Dentre os compostos isolados e identificados em raízes de yacon, Takenaka *et al.* (2003) reportaram cinco diferentes derivados de ácido caféico nas raízes de yacon como principais compostos fenólicos solúveis em água. Dois outros novos ésteres cafeoil derivados do ácido octulosônico com um esqueleto de 6,8-dioxabicyclo[3,2,1]octano também foram relatados (TAKENAKA; ONO, 2003).

A caracterização de metabólitos (primários ou secundários) dentro dos gêneros alimentícios pode ser realizada através de várias técnicas e cada uma tem suas próprias vantagens e desvantagens. Portanto, a combinação de diferentes abordagens analíticas permite o aumento do alcance dinâmico de detecção de metabólitos. Nisso, a cromatografia líquida de ultra-performance (UPLC), acoplada à espectrometria de massa (MS), é uma poderosa técnica para a caracterização e quantificação de metabólitos de várias matrizes como fitoterápicos (WU *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2009), análises de fitoquímicos (CHEN *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2009) e especialmente em alimentos (SIRHAN; TAN; WONG, 2013; SISMOTTO *et al.*, 2014). O UPLC tem a vantagem sobre a cromatografia líquida tradicional (HPLC) devido à sua velocidade analítica mais rápida e a potência de separação dos componentes. O analisador de massa fornece uma resposta de massa exata que permite a identificação precisa dos compostos. Este sistema hifenizado permite a identificação de vários metabólitos a baixos níveis de concentração (ppm). Recentemente, a ressonância magnética nuclear (RMN) emergiu como uma poderosa técnica para a caracterização de compostos de baixo peso molecular em sistemas complexos como a pesquisa biomédica (CONSTANTINO *et al.*, 2005; GHINI *et al.*, 2015),

questões ambientais (ALVES FILHO *et al.*, 2015; KOVACEVIC; SIMPSON; SIMPSON, 2016) e alimentos (RITOTA *et al.*, 2012; SUCUPIRA *et al.*, 2016). Esta metodologia permite a atribuição abrangente do perfil metabólico em um modo não alvo, com foco na obtenção de uma representação completa da composição química da amostra investigada. Portanto, a UPLC-MS e a RMN se apresentaram como metodologias complementares uma vez que com ambos os métodos é possível observar compostos de baixo e alto peso molecular em gêneros alimentícios.

O xarope de yacon é um produto obtido das raízes de yacon a partir de uma rota tecnológica, que contemplam a maceração enzimática, seguida de microfiltração e concentração a vácuo, e apresenta elevados teores de oligossacarídeos prebióticos, mais especificamente os frutooligossacarídeos (FOS). Além disso, apresenta compostos de natureza fenólica específicos, como o ácido clorogênico (ACG). Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização do xarope de yacon e avaliar a influência das diferentes etapas de sua produção nos teores de frutooligossacarídeos e ácido clorogênico.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Químicos e reagentes

Pectinex[®] Ultra SP-L (principalmente poligalacturonase) de *Aspergillus aculeatus* e Celluclast[®] 1.5 L (celulase) de *Trichoderma reesei* foram obtidos da Novozymes Investment Co. Ltd. (Dinamarca). Água de grau espectroscópico foi preparada a partir de água destilada, utilizando um sistema Milli-Q (Millipore Lab., Bedford, MA, USA). Todos os outros reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich Canada Ltd. (Oakville, ON, Canada).

3.2.2 Yacon

As raízes de yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] *in natura* foram adquiridas no comércio local de Fortaleza, CE, Brasil. Em seguida, a polpa de yacon foi processada como reportada por Dionísio *et al.* (2013). Após lavagem e sanitização, as raízes foram descascadas manualmente, cortadas em cubos de aproximadamente 1 cm³ e imersas em solução de ácido cítrico (2,4% p/v, por 8 min) para inativação das enzimas polifenoloxidasas. Os cubos foram processados em liquidificador industrial e a polpa obtida foi armazenada sob congelamento (– 18 °C) até o momento do uso.

3.2.3 *Elaboração do xarope de yacon*

O xarope de yacon foi produzido em planta piloto de processamento de alimentos (Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará - Brasil). As raízes de yacon foram processadas para obtenção da polpa e, após o tratamento ácido do yacon (DIONÍSIO *et al.*, 2013), a polpa foi extraída e tratada com Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L (500 mg L⁻¹ de cada enzima, a 45 °C, 175 rpm, durante 120 minutos), e filtrada em sistema de microfiltração. O processo de obtenção do material clarificado está descrito no “CAPÍTULO 2”. Após obtenção do material, o suco clarificado foi concentrado a 71 °Brix sob vácuo (560 mmHg) e temperatura de 60 ± 5 °C durante 4 horas. O xarope de yacon foi armazenado a 5 °C e submetido a análises específicas.

3.2.4 *Métodos de análises*

3.2.4.1 *Frutooligossacarídeos (FOS) totais e açúcares simples*

Os FOS foram determinados conforme descrito por Horwitz, Latimer e George (2005), e os resultados foram expressos como % de FOS na amostra. Os açúcares glicose, frutose, maltose e sacarose foram quantificados por cromatógrafo HPLC após a extração dos açúcares (BURGNER; FEINBERG, 1992). Uma amostra de 10 mL foi homogeneizada em 100 mL de solução, contendo água deionizada, acetato de zinco 1,0 M e ferrocianeto de potássio 0,25 M, e filtrado em papel de filtro qualitativo. A solução de açúcar foi então filtrada numa membrana PVDF de 0,22 µm e 13 mm de diâmetro (Millipore) e injetada num cromatógrafo líquido (Varian, modelo Pro Star 210, Mulgrave, Austrália), equipado com um detector de índice de refração Varian modelo ProStar 350 e uma coluna de fase normal (Zorbax Carbohydrate, 250 X 4,6 mm, 5 µm, Agilent), e forno a 35 °C. A fase móvel consistiu em acetonitrila e água (80:20 v/v), a taxa de fluxo de 1,5 mL min⁻¹ e o volume de injeção de 20 µL. A quantificação foi realizada por meio de curvas de calibração externas de cada açúcar a ser analisado de 0,02 g mL⁻¹ a 1,0 g mL⁻¹.

3.2.4.2 *Polifenóis totais e atividade antioxidante total (ABTS e FRAP)*

A atividade antioxidante total foi determinada através dos métodos ABTS e FRAP. Para a extração dos antioxidantes foi utilizado o procedimento desenvolvido por Larrauri,

Rupérez e Saura-Calixto (1997). As amostras foram extraídas sequencialmente com 4 mL de metanol/água (50:50, v/v) a 25 °C por 1 h, centrifugadas a 25.400 g por 15 min, e o sobrenadante foi recuperado. Então, 4 ml de acetona/água (70:30, v/v) foi adicionado ao resíduo a 25 °C, que foi extraído durante 1 h, e depois centrifugado com as mesmas condições. Os extratos metanólico e acetônico foram combinados, em uma balão de 10 mL, sendo adicionada água até completar o volume do balão. O ensaio ABTS⁺ foi baseado no método desenvolvido por Miller *et al.* (1993), e para o ensaio FRAP, foi utilizado o procedimento descrito por Benzie e Strain (1996). Todos os métodos utilizados estão de acordo com modificações sugeridas por Rufino *et al.* (2010). Os resultados dos ensaios ABTS e FRAP foram expressos como μM Trolox e μM Fe₂SO₄ por g de xarope de yacon, respectivamente. Assim, os polifenóis totais foram determinados pelo método do Folin–Ciocalteu (OBANDA; OWUOR; TAYLOR, 1997) e os resultados foram expressos como μg AGE (ácido gálico equivalente) por g de xarope de yacon.

3.2.4.3 Ácido clorogênico

A quantificação de ácido clorogênico foi realizada como descrito por Jaiswal, Deshpande e Kuhnert (2011) com modificações. As análises foram realizadas em um cromatógrafo LC-PDA (Varian, Modelo 920-LC, Walnut Creek, EUA), acoplado com um detector com arranjo de fotodiodo (PAD). Uma coluna Shim-pack CLC-ODS (M) (Shimadzu C18 4,6 x 150 mm) com uma taxa de fluxo de 0,6 mL min⁻¹. A temperatura do forno da coluna foi ajustada a 30 °C. As amostras foram filtradas utilizando membranas de PVDF de 0,45 μm (Syringe Filter Tedia, Brasil) antes da injeção. A fase móvel consistiu de uma combinação de solvente A (0,1% de ácido fórmico em água) e solvente B (metanol). O gradiente variou linearmente de 10% a 40% de B (v/v) em 22 min, a 70% de B a 24 min, e mantidas durante 6 min. O detector PDA foi ajustado para 324 nm e injetou-se 40 μL de amostra. A quantificação foi realizada por meio de curvas de calibração externas de ácido clorogênico de 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ a 200 $\mu\text{g g}^{-1}$. Os resultados foram expressos em μg de ácido clorogênico por g de amostra.

3.2.4.4 Composição centesimal

A composição centesimal foi determinada utilizando métodos oficiais de análise da *International Association of Official Agricultural Chemistry* – AOAC (AOAC, 2000). As proteínas foram determinadas utilizando o método de Kjeldahl (920.87 AOAC), utilizando 6,25 como fator de conversão de nitrogênio para proteína vegetal; O conteúdo total de lipídios foi

determinado pelo método de extração de Soxhlet (925.38 AOAC); as cinzas foram determinadas por incineração a 550 °C em um forno mufla durante 6 h (923.03 AOAC), a umidade foi determinada pelo método AOAC 925.09; e carboidratos por diferença (AOAC, 2000).

3.2.4.5 Composição mineral

Para a análise de minerais, a preparação das amostras foi realizada uma digestão por cinzas, segundo Horwitz (2000), adaptada. Para a obtenção das cinzas, foi realizada a incineração das amostras em forno mufla a 450 °C. Os macronutrientes (Ca e Mg) e os micronutrientes (Mn, Zn, Fe e Cu) foram determinados quantitativamente por espectrometria de absorção atômica. Para os minerais Mn, Zn, Fe, Ca e Mg, foi utilizado um espectrômetro com chama (GBC Scientific Equipment Ltd., modelo 933 PLUS, Melbourne, Australia), calibrado em condições específicas de comprimento de onda, fenda e mistura dos gases para cada elemento. Os macronutrientes Na e K foram analisados por fotometria de chama (Analyser, modelo 910M, São Paulo, Brasil), enquanto o P e S foram determinados por método colorimétrico e turbidimétrico, respectivamente, utilizando um espectrofotômetro UV-visível (Micronal, modelo B582, São Paulo, Brasil).

3.2.4.6 Atividade de água, pH, sólidos solúveis, turbidez e cor

A determinação da atividade de água foi realizada à temperatura de 25 °C com o uso de um medidor de atividade de água (Aqualab Decagon Devices Inc. Pullman, modelo CX-2T, Washington, EUA).

O pH foi mensurado utilizando um medidor de pH digital (Hanna Instruments, modelo HI2211, Romênia), seguindo os métodos da AOAC (2005) (AOAC, 942.15), e o teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado utilizando um refratômetro (Atago, modelo Pocket PAL-3, Tóquio, Japão) a $20,0 \pm 0,5$ °C, conforme metodologia da AOAC (2005).

A turbidez foi realizada utilizando um turbidímetro (Tecnopon, modelo TB-1000, Piracicaba, Brasil) de acordo com a American Public Health Association, American Water Works Association e Water Environment Federation (APHA; AWWA; WEF, 2012), e os resultados foram expressos em NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez).

A cor foi determinada em um colorímetro (Minolta, modelo CR-400, Osaka, Japão), estando os resultados baseados em três coordenadas de cor: L^* , a^* , b^* , em que L^* varia de 0 (preto) a 100, a^* varia do verde (-) ao vermelho (+) e b^* varia de azul (-) ao amarelo (+).

3.2.4.7 Análises de metabólitos primários por RMN

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro (Agilent, modelo DD2 600 MHz, Santa Clara, CA, EUA) equipado com uma sonda One ProbeTM de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P), operando a 298 K e utilizando uma sequência de impulsos para a saturação do sinal residual da água. As amostras foram preparadas dissolvendo-se 10 mg de xarope de yacon em 550 μ L de água deuterada (D₂O) com 1% de ácido trimetilsililpropanóico (TSP, v/m). Os espectros foram registados com 32 decaimentos de indução livre (FID) em 21 k de pontos de dados para 13.157,9 Hz de largura espectral e tempo de relaxação de 2 s. Os espectros foram processados pela aplicação de multiplicação exponencial dos FIDs por um fator de 0,3 Hz e transformada de Fourier de 64k pontos. A correção de fase foi realizada manualmente e a correção de linha de base foi aplicada em toda a faixa espectral. Para a identificação molecular dos compostos, foram obtidos experimentos homo e heteronuclear 2D. Os espectros foram referenciados à ressonância TMSP-d₄ a 0,0 ppm.

A identificação dos constituintes do xarope de yacon foi realizada através de experimentos ¹H-¹H COSY, ¹H-¹³C HSQC, e ¹H-¹³C HMBC. Os resultados foram comparados com os dados existentes em bases de dados de acesso aberto (WISHART *et al.*, 2007) e relatos da literatura (YE *et al.*, 2014; NORD; VAAG; DUUS, 2004; BALAYSSAC *et al.*, 2009, DAVIS *et al.*, 1996; DE BRUYN; VAN LOO, 1991). O ¹H-¹H COSY foi adquirido com 8 transientes, com um tempo de espera em cada aquisição de 1 s, janela em F1 e F2 de 16 ppm, com números de pontos em F1 de 200 e F2 de 1442. O ¹H-¹³C HSQC foi adquirido com 16 transientes, com um tempo de espera em cada aquisição de 1 s janela em F1 de 200 ppm e em F2 de 16 ppm, com números de pontos em F1 de 200 e F2 de 1442. O ¹H-¹³C HMBC foi adquirido com 16 transientes, com um tempo de espera em cada aquisição de 1 s, janela em F1 de 240 ppm e em F2 de 16 ppm, com números de pontos em F1 de 256 e F2 de 1442.

3.2.4.8 Análises por UPLC-ESI-QToF-MS^E

As análises espectrométricas de massa foram realizadas em um sistema Waters[®] Acquity UPLC acoplado a um sistema de quadrupolo/tempo de voo (XEVO-QToF Waters[®]).

As fases móveis foram água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B). O gradiente utilizado consistiu: 0-15 min, 2-95% de B; 15,1-17 min, 100% de B; 17,1-19,1 min, 2% de B. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150 x 2,1 mm, 1,7 μm) com fluxo de 0,4 mL min^{-1} , temperatura fixa de 40 °C e volume de injeção de 5 μl . As condições de MS foram as seguintes: modo de ionização negativo; faixa de aquisição: 110-1180 Da; temperatura da fonte: 120 °C; temperatura de dessolvatação do gás: 350 °C; fluxo de dessolvatação do gás: 500 L h^{-1} ; voltagem do cone de extração: 0,5 V; voltagem do capilar: 2,6 kV. O modo de aquisição foi MS^E. Leucina encefalina foi utilizada como bloqueador de massa. O equipamento foi controlado pelo programa Masslynx 4.1 (Waters[®] Corporation).

3.2.4.9 Análises por cromatografia em camada delgada (CCD) dos graus de polimerização dos FOS

Para a quantificação dos oligossacarídeos [GF₆, GF₅, GF₄ (1F- β -frutofuranosil-nistose), GF₃ (nistose) e GF₂ (1-kestose)] as amostras foram analisadas por CCD, usando placas de sílica gel Sigma-Aldrich (20x20 cm, diâmetro médio de poro de 60 Å; número do produto: 99570-25EA). Amostras de 3 μL foram aplicadas na placa a 1 cm do fundo e a uma distância de separação de 1,0 cm entre si. As placas foram colocadas na câmara de CCD pré-acondicionada à temperatura ambiente (25 °C). O sistema de solventes utilizado para separar a mistura de carboidratos foi uma mistura de n-butanol/2-propanol/H₂O (10:5:4 [v/v/v]) (SHIOMI; ONODERA; SAKAI, 1997). A placa de CCD foi irrigada pelo sistema solvente duas vezes. Para visualizar os carboidratos separados nas placas, utilizou-se um pulverizador fino contendo n-butanol (80% p/p) como solvente, ácido fosfórico (6,78 mL), ureia (3 g) e etanol (8 mL) em 100 mL. As placas foram aquecidas em forno a 120 °C com circulação de ar durante 10 min. As leituras foram feitas em comprimento de onda de 450 nm em um densitômetro (Camag, TLC scanner 4, Muttenz, Suíça) e os resultados foram avaliados, utilizando o programa Planar winCATS Chromatografy Manager.

3.2.5 Avaliação dos efeitos de processamento nas diferentes etapas de elaboração do xarope de yacon

Para avaliação dos efeitos do processamento nas diferentes etapas de elaboração do xarope de yacon, foram realizadas análises de FOS total (conforme item 3.2.4.1) e de seus diferentes graus de polimerização [GF₆, GF₅, GF₄ (1F- β -frutofuranosil-nistose), GF₃ (nistose)

e GF₂ (1- kestose)] (conforme item 3.2.4.9), de ácido clorogênico – ACG (conforme item 3.2.4.3) e de compostos fenólicos por *UPLC-ESI-QToF-MS^E* (conforme item 3.2.4.8), nas seguintes etapas de processamento: a) polpa de yacon, b) após o processo de maceração enzimática, c) após a microfiltração e d) no produto final (xarope de yacon).

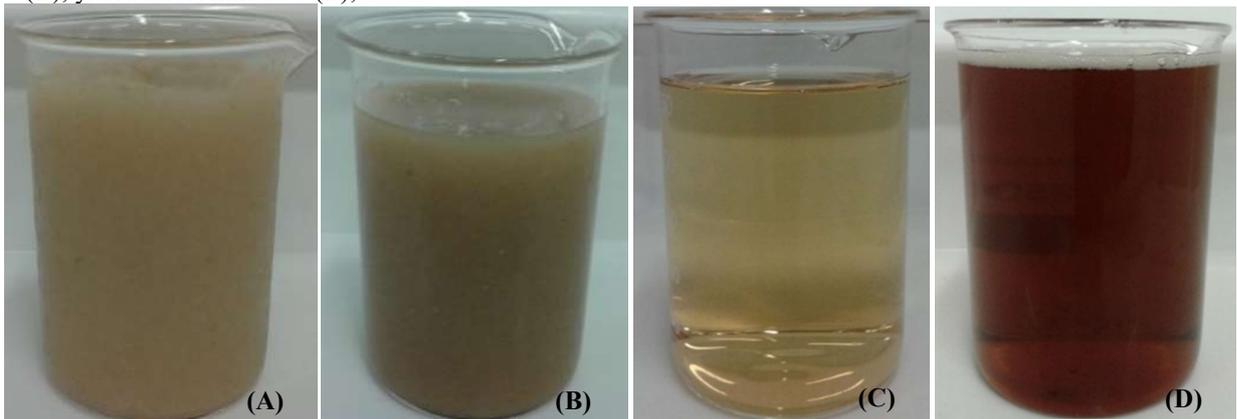
Os resultados dos conteúdos de FOS total e de seus diferentes graus de polimerização e de ACG foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade pelo teste F, e quando significativos ($P < 0,05$), foram submetidos ao teste de médias (Tukey), no mesmo nível de significância estatística, utilizando o programa estatístico XLSTAT, versão 5.01.

3.3 Resultados e discussões

3.3.1 Caracterização química, físico-química e de componentes funcionais do xarope de yacon

O xarope de yacon foi obtido através de uma rota tecnológica, que incluem uma etapa de obtenção de polpa e acidificação (Figura 1A), seguida de tratamento enzimático (Figura 1B), microfiltração (Figura 1C) e concentração a vácuo (Figura 1D).

Figura 1 – Aparência das diferentes etapas da produção do xarope de yacon. Polpa de yacon – (A); yacon macerado – (B); yacon microfiltrado – (C);



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

A caracterização físico-química e de componentes funcionais do xarope de yacon encontra-se na Tabela 1.

De uma maneira geral, o xarope de yacon apresenta elevada concentração de carboidratos, especialmente frutooligosacarídeos, além de polifenóis, com destaque para o

ácido clorogênico. É um produto com baixos valores de lipídios e proteínas, alto teor de potássio e fósforo, baixa umidade e atividade de água, baixo pH e elevada concentração de sólidos solúveis.

Tabela 1 – Caracterização do xarope de yacon

Xarope de yacon	
<i>FOS e açúcares simples (%)</i>	
FOS	21,84 ± 1,31
Glicose	9,71 ± 1,00
Frutose	16,32 ± 0,21
Maltose	1,06 ± 0,00
Sacarose	11,99 ± 0,39
<i>Polifenóis totais, ácido clorogênico e atividade antioxidante</i>	
Polifenóis totais ($\mu\text{g AGE g}^{-1}$)	1.202,25 ± 30,02
Ácido clorogênico ($\mu\text{g g}^{-1}$)	175,13 ± 5,38
ABTS ($\mu\text{M trolox g}^{-1}$)	6,99 ± 0,09
FRAP ($\mu\text{M F}_2\text{SO}_4 \text{g}^{-1}$)	16,19 ± 0,66
<i>Composição centesimal (%)</i>	
Umidade	31,46 ± 0,13
Cinzas	2,11 ± 0,10
Proteínas	1,61 ± 0,05
Lipídios	0,07 ± 0,01
Carboidratos	64,90 ± 0,25
<i>Composição mineral (mg 100 g⁻¹)</i>	
Fósforo	162,00 ± 2,65
Potássio	691,00 ± 33,96
Cálcio	40,67 ± 3,79
Magnésio	45,67 ± 10,12
Enxofre	42,00 ± 2,65
Sódio	17,00 ± 1,73
Cobre	0,80 ± 0,00
Ferro	1,43 ± 0,12
Zinco	0,20 ± 0,00
Manganês	0,10 ± 0,00
<i>Características gerais</i>	
Atividade de água	0,78 ± 0,00
pH	3,71 ± 0,02
Sólidos solúveis (° Brix)	71,03 ± 0,06
Turbidez (NTU)	75,37 ± 0,04
L *	47,50 ± 0,38
Cor a *	1,43 ± 0,03
b *	21,81 ± 0,23

Resultados expressos como média ± desvio padrão de determinações em triplicata.

Genta *et al.* (2009), Geyer *et al.* (2008) e Manrique, Párraga e Hermann (2005) produziram xarope de yacon. Porém, a rota tecnológica utilizadas por esses autores consistiram

em diferentes processos dos que foram utilizados neste trabalho, e nenhum foco foi dado na otimização dos processos, visando a manutenção dos componentes funcionais, não havendo menção sobre os componentes fenólicos de seus produtos, considerando-os como componentes secundários ao xarope. Todavia, o ácido clorogênico apresenta elevada importância como composto funcional, uma vez que pode ser considerado como composto-chave no metabolismo glicêmico (ALAM *et al.*, 2016; LIANG *et al.*, 2013) juntamente com os FOS que estão associados a diminuição dos níveis séricos de glicose (SCHEID *et al.*, 2014).

Na produção do xarope de yacon utilizado por esses autores, após trituração da raiz, foi adicionado uma solução de limão, visando impedir o escurecimento do material, passando por evaporação do suco e sucessivas etapas de concentração com temperaturas que variam até 95 °C (MANRIQUE; PÁRRAGA; HERMANN, 2005). Como pode ser visualizado na Figura 2A, ainda na etapa de concentração do pré-xarope em pequenas bandejas (com o produto apresentando sólidos solúveis entre 68 e 70 °Brix), a coloração já é marrom escura, que pode ter sido ocasionada pela ação das polifenoloxidasas, devido a não inativação completa dessas enzimas pela solução de limão, assim como pela reação de Maillard provocada pelos sucessivos aquecimentos e temperaturas superiores as utilizadas neste trabalho, até o xarope atingir a concentração final ente 72 e 74 °Brix. Essas mesmas reações químicas parecem ter ocorrido com os xaropes de yacon comercializados em Lima – Peru mencionados por Manrique, Párraga e Hermann (2005) (Figura 2B).

Figura 2 – Detalhe do processamento do xarope de yacon desenvolvido por Manrique, Párraga e Hermann (2005), concentração do pré-xarope em pequenas bandejas entre 68 e 70 °Brix – (A). Algumas marcas de xaropes de yacon comercializados em Lima, Peru – (B)



Fonte: Adaptado de Manrique, Párraga e Hermann (2005).

Neste trabalho, as etapas envolvidas para a produção do xarope de yacon incluíram adição de ácido cítrico para inativar as polifenoloxidasas e as temperaturas utilizadas nos

processos de microfiltração por membrana e na concentração a vácuo também foram baixas (45-60 °C), visando manter os compostos funcionais, principalmente o ACG, pois o FOS só são afetados por temperaturas de 120 °C, momento que inicia uma despolimerização, com formação de açúcares simples (L'HOMME; PUIGSERVER; BIAGINI, *et al.*, 2003). Todavia, segundo Buchner *et al.* (2006) os compostos fenólicos presentes os torna mais suscetíveis à degradação térmica, devido a maior presença de grupos hidroxila na sua estrutura molecular. Além disso, os ácidos clorogênicos são termossensíveis sob condições comuns de processamento de alimentos, tais como conservas, torrefação e pasteurização. Eles podem sofrer várias reações, especificamente isomerização, epimerização, lactonização, degradação para compostos de baixo peso molecular, como fenóis e catecois, e em menor grau incorporação em melanoidinas através de limites não covalentes ou covalentes (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

O xarope de yacon apresentou alto conteúdo de polifenóis totais ($1.202,25 \pm 30,02 \mu\text{g AGE g}^{-1}$) e ácido clorogênico ($175,13 \pm 5,38 \mu\text{g g}^{-1}$), porém a literatura não mostra avaliação destes compostos em xarope de yacon, havendo apenas relatos para as raízes de yacon. Como exemplos, Yan *et al.* (1999) determinaram a atividade antioxidante de yacon e quantificaram o ácido clorogênico ($48,5 \pm 12,9 \mu\text{g g}^{-1}$) em tubérculos de yacon; Jáuregui *et al.* (2007) encontraram valores para compostos fenólicos de $676,4 \mu\text{g g}^{-1}$ na polpa de yacon; Pereira *et al.* (2016) encontraram teores de $39,10 \pm 1,3 \mu\text{g g}^{-1}$ para ácido clorogênico na polpa de yacon.

Takenaka *et al.* (2003) encontraram cinco derivados diferentes do ácido caféico nas raízes de yacon como principais compostos fenólicos solúveis em água. Dois destes eram ácido clorogênico: ácido 3-cafeoilquínico e ácido 3,5-dicafeoilquínico, sendo os restantes ésteres do ácido caféico com os grupos hidroxila do ácido aldárico derivados da hexose. Todos estes compostos apresentam propriedades antioxidantes.

Muitos estudos têm demonstrado que o ACG exibe diversas propriedades biológicas, incluindo atividades antibacteriana, antioxidante e anticarcinogênica, anti-UVB, antiviral e efeitos hipoglicêmico e hipolipidêmico (CHIANG *et al.*, 2011; KARAR *et al.*, 2016; MENG *et al.*, 2013; REVUELTA-INIESTA; AL-DUJAILI, 2014). Particularmente nos xaropes reportados por Geyer *et al.* (2008), Manrique, Párraga e Hermann (2005) e Genta *et al.* (2009), a ação das enzimas de escurecimento podem ter diminuído ou até mesmo degradado totalmente os compostos fenólicos em yacon. A presença destes compostos no produto final é de extremo interesse, pois além de apresentarem papel fundamental para o metabolismo glicêmico, estes também apresentam elevada atividade antioxidante, exercendo capacidade de “sequestrar” espécies reativas de oxigênio em situações de estresse oxidativo celular.

A atividade antioxidante de um produto pode ser mensurada através de diferentes métodos, segundo Prior, Wu e Schaich (2005), é necessário mais de um método para avaliar a atividade antioxidante de um produto *in vitro*. Desta forma, no presente trabalho, a atividade antioxidante do xarope de yacon foi avaliada através dos métodos ABTS e FRAP.

O ABTS é um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante através da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI *et al.*, 2005). Já o método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) caracteriza-se pela capacidade dos fenóis em reduzir o Fe^{+3} em Fe^{+2} (BENZIE; STRAIN, 1996). Os valores de atividade antioxidante do xarope de yacon são mostrados na Tabela 1. Com base na literatura, este parece ser o primeiro relato sobre a quantificação de atividade antioxidante em xarope de yacon.

Campos *et al.* (2012) avaliaram a atividade antioxidante, usando o ensaio ABTS de 35 diferentes acessos de yacon e encontraram valores na faixa de 3,2 a 20,1 μM de Trolox g^{-1} na polpa de yacon, estando o valor encontrado neste trabalho com xarope de yacon ($6,99 \pm 0,09 \mu M$ trolox g^{-1}) dentro dessa faixa. Para o ensaio FRAP, o xarope de yacon apresentou uma atividade antioxidante moderada de $16,19 \pm 0,66 \mu M F_2SO_4 g^{-1}$. Os polifenóis representam uma das classes mais importantes de compostos que podem influenciar a atividade antioxidante. De acordo com Yan *et al.* (1999), o yacon possui como responsáveis pela sua atividade antioxidante alguns polifenóis específicos, como o ácido clorogênico.

A partir da Tabela 1, pode-se observar que o xarope contém elevada concentração de carboidratos (64,90%) e baixa concentração de proteínas (1,61%), lipídios (0,07%) e cinzas (2,11%). O xarope de yacon obtido por Geyer *et al.* (2008) apresentou valores de 2,3%, 0,4% e 67,0% para proteínas, lipídios e carboidratos, respectivamente. Genta *et al.* (2009) produziram xarope de yacon com 2,16% de proteínas, 0,14% de lipídios e 67,04% de carboidratos (25,65% de açúcares simples livres, 41,39% de FOS) utilizando a cultivar AMM5163. Os xaropes obtidos por Manrique, Párraga e Hermann (2005), utilizando duas cultivares de yacon, apresentaram as seguintes características: 0,1 e 0,0% de lipídios, 1,3 e 1,0% de proteína, 64 e 78,1% para carboidratos, variando de acordo com a cultivar (Cultivar CLLUNC118 - Hualqui e Cultivar AMM5163, respectivamente). No entanto, os autores mostraram que o conteúdo de FOS variou de 10,9 a 47,6%, mostrando os efeitos da cultivar na concentração de FOS.

As raízes tuberosas de yacon têm o índice mineral relativamente elevado, sendo especialmente rico em cálcio e fósforo, tendo o xarope de yacon mantido esses índices. Os

elementos magnésios, enxofre e ferro também foram encontrados em concentrações apreciáveis nesta matriz, apresentando-se rico em potássio ($691,00 \pm 33,96 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), enquanto que os níveis de sódio foram muito baixos ($17,00 \pm 1,73 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). O xarope produzido por Genta *et al.* (2009) apresentou elevados valores de potássio ($936 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) e baixos níveis de sódio ($84 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$).

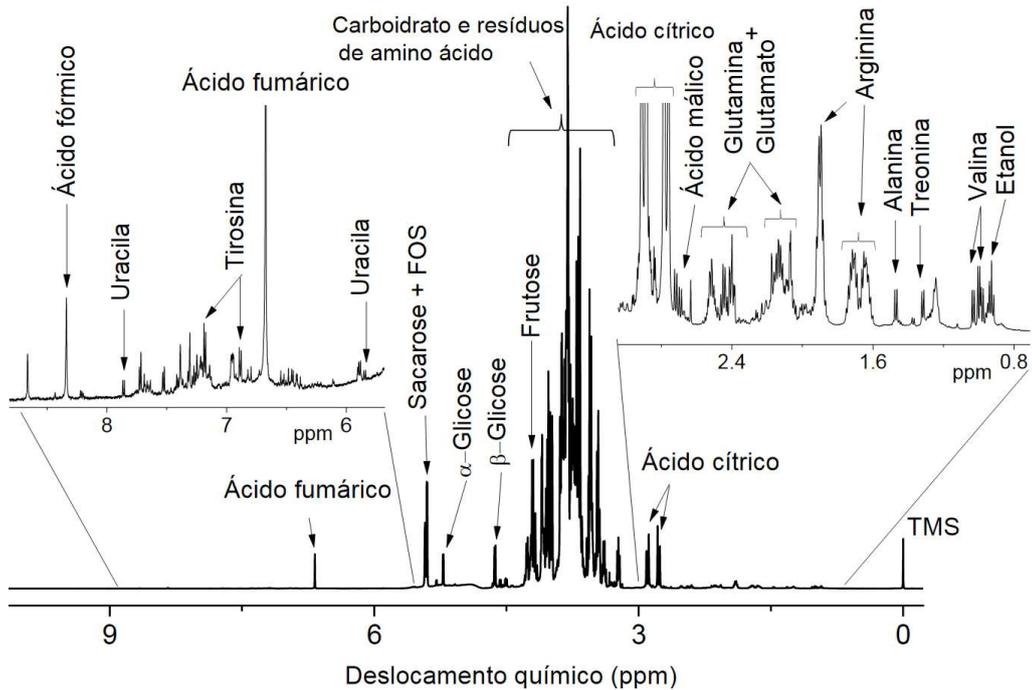
A turbidez e os parâmetros de cor do xarope de yacon apresentaram valores de $75,37 \pm 0,04 \text{ NTU}$ e L^* , $47,50 \pm 0,38$, a^* , $1,43 \pm 0,03$, b^* , $21,81 \pm 0,23$, respectivamente. A turbidez depende principalmente dos sólidos em suspensão e também é indicativo de qualidade. O xarope de yacon apresentou baixa turbidez por não possuir sólidos em suspensão como resultado da etapa de clarificação do material. O valor de L^* indicou elevado índice de luminosidade a baixa turbidez. O baixo valor de a^* e o elevado valor de b^* , indica um produto com uma coloração que tende ao amarelo - marrom.

O xarope de yacon apresentou atividade de água de 0,78, pH de $3,71 \pm 0,02$ e um conteúdo de sólidos solúveis de $71,03 \pm 0,06$ °Brix. A baixa atividade de água combinada com o baixo pH favorece a maior estabilidade do produto durante o armazenamento (BEUCHAT *et al.*, 2013). A atividade de água está relacionada com o teor de umidade e é responsável pelas reações bioquímicas. O xarope altamente concentrado pode também inibir o crescimento microbiano através da interrupção da osmose ou dos efeitos de desidratação (BROOKS *et al.*, 2012), considerando que o mínimo de a_w para o crescimento da maioria das bactérias é aproximadamente 0,87 (BEUCHAT *et al.*, 2013).

3.3.2 *Análise não alvo de metabólitos do xarope de yacon através de RMN*

A RMN é uma técnica de espectroscopia que permite a caracterização inequívoca de estruturas químicas em misturas, sem o uso de protocolos extensivos de separação e até mesmo o uso de padrões analíticos. Deste modo, o espectro de RMN do xarope de yacon (APÊNDICE L) mostra metabólitos primários de baixo peso molecular tais como aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos conforme ilustra a Figura 3.

Figura 3 – Espectro de RMN de ^1H do xarope de yacon, mostrando os sinais dos compostos identificados



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

Na região alifática, pode se observar sinais característicos de metabólitos como valina (duplete a 1,00 e 1,03 ppm para ambos $-\text{CH}_3$); etanol (triplete a 0,93 ppm para $-\text{CH}_3$); treonina (duplete a 1,32 ppm para $-\text{CH}_3$); alanina (duplete a 1,47 ppm para $-\text{CH}_3$); glutamina e glutamato (multipletos de 1,59 a 1,78 ppm para $-\text{CH}_2-$; multiplete de 1,84 a 1,95 ppm); ácido málico (duplete a 2,70 e 2,72 de $-\text{CH}_2-$); ácido cítrico (duplete a 2,77 e 2,79 de $-\text{CH}_2-$). Na região do açúcar, é observado o sinal característico do ácido málico (multiplete a 4,42 ppm para $-\text{CH}-$); frutose (multiplete sobreposto a 4,2 ppm para $-\text{CH}-$); β -glicose (duplete a 4,65 ppm para $-\text{CH}-$); α -glicose (duplete a 5,22 ppm para $-\text{CH}-$); sacarose (duplete a 5,42 ppm para $-\text{CH}-$) e o sinal característico de frutooligossacarídeos (singleto largo de 5,41 a 5,44 para $-\text{CH}-$). Na região aromática, observa-se os sinais de uracila (dupletos a 5,85 e 7,86 ppm); sinais de ácido fumárico (singleto a 6,68 ppm); aminoácido tirosina (dupletos a 6,89 e 7,18 ppm); e ácido fórmico (singleto a 83,4 ppm).

A RMN, além de mostrar a presença dos frutooligossacarídeos (FOS), também mostrou aminoácidos essenciais como a treonina e valina que são indispensáveis para o metabolismo humano e indispensáveis na dieta alimentar. A treonina tem diversas funções, dentre elas a síntese da proteína mucina que é necessária para manter a integridade e função intestinal, função imune, fosforilação e glicosilação de proteínas e síntese da glicina (WU, 2009). Já a valina participa, direta ou indiretamente de diferentes reações bioquímicas no

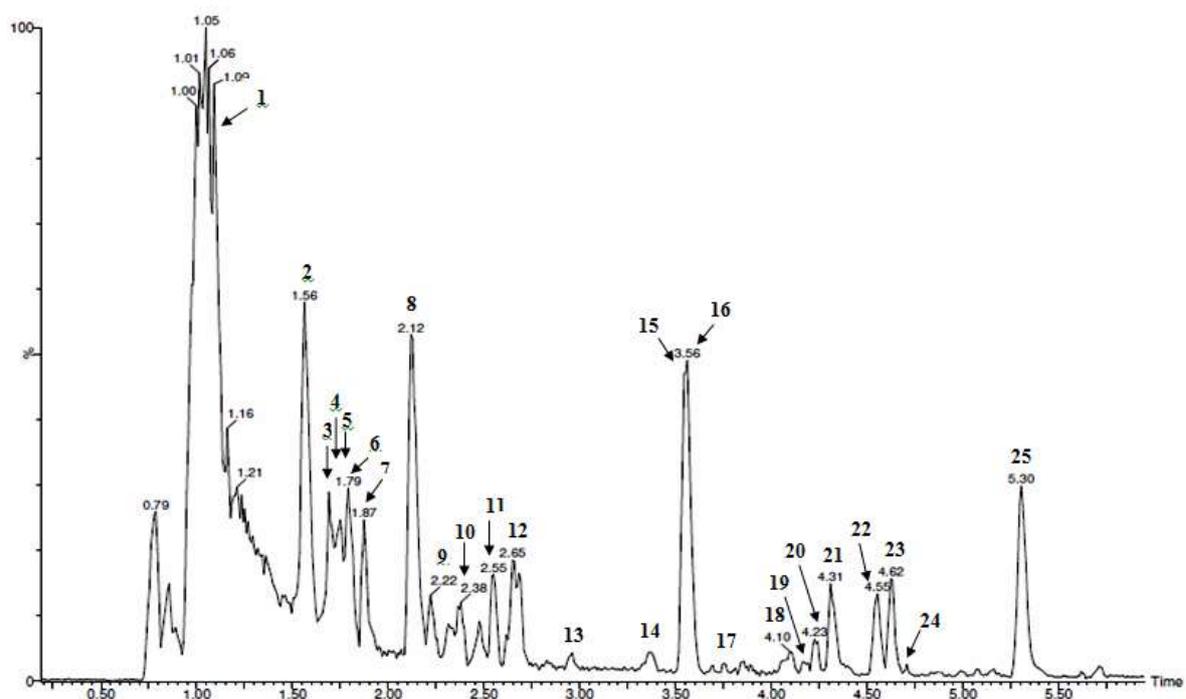
cérebro, tais como a síntese protéica, a produção de energia, a compartimentação do glutamato e a síntese do neurotransmissor serotonina (BRESTENSKÝ *et al.*, 2015; WU, 2009).

A presença dos ácidos orgânicos (fumárico, málico e cítrico) também é importante para a compreensão adequada da qualidade sensorial e microbiológica dos vegetais e produtos derivados. Especificamente, os ácidos orgânicos influenciam o sabor, a cor e a estabilidade microbiológica nos alimentos. Além disso, os ácidos orgânicos são amplamente utilizados como conservantes para uma ampla gama de produtos vegetais (TEMBO; HOLMES; MARSHALL, 2017). O ácido fórmico detectado ocorre naturalmente em frutas, legumes, folhas e raízes de plantas (DEL CAMPO *et al.*, 2010; MARCONE *et al.*, 2013).

3.3.3 Análises do xarope de yacon por UPLC-ESI-QToF-MS^E

O cromatograma de corrente iônica total do xarope de yacon é mostrado na Figura 4, onde os picos são numerados de acordo com a sua ordem de eluição. Para a determinação dos compostos, o tempo de retenção, a fragmentação da massa, a massa precisa (fórmula química) e a comparação com dados da literatura resultaram em 25 compostos tentativamente identificados, como mostra a Tabela 2.

Figura 4 – Cromatograma de corrente iônica total do xarope de yacon em modo negativo de ionização



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

Tabela 2 – Constituintes tentativamente identificados no xarope de yacon, usando o modo negativo ESI

Pico no.	TR (min)	Compostos	Fórmula	[M-H] ⁻ m/z (exp)	[M-H] ⁻ m/z (cal)	Erro (ppm)	Fragmentos de íons (intensidade) m/z (%)	Referência
1	1,02	Ácido cítrico	[C ₆ H ₇ O ₇] ⁻	191,0197	191,0192	2,6	111,0078 (100)	Baskaran, Pullencheri e Somasundaram (2016); Gao <i>et al.</i> (2017)
2	1,56	Ácido 4- <i>O</i> -cafeoil-2,7-anidro-D-glicero-β-D-galacto-oct-2-ulopiranosônico isômero 1	[C ₁₇ H ₁₇ O ₁₁] ⁻	397,0785	397,0771	0,3	235,0433 (40)	Takenaka e Ono (2003)
3	1,67	Ácido 3-cafeoilquinico (Ácido neoclorogênico)	[C ₁₆ H ₁₇ O ₉] ⁻	353,0872	353,0873	0,1	191,0202 (100), 179,0427 (60), 135,0452 (42)	Clifford <i>et al.</i> (2003); Clifford <i>et al.</i> (2005); Russo <i>et al.</i> (2015); Simonovska <i>et al.</i> (2003)
4	1,70	Cafeoilglucarato isômero 1	[C ₁₅ H ₁₅ O ₁₁] ⁻	371,0606	371,0614	2,2	353,0725 (80), 209,0272 (100), 191,0193 (80)	Bazytko <i>et al.</i> (2015); Cicek <i>et al.</i> (2012)
5	1,74	Cafeoilglucarato isômero 2	[C ₁₅ H ₁₅ O ₁₁] ⁻	371,0613	371,0614	0,3	353,0643 (8), 209,0260 (95), 191,0155 (100)	Bazytko <i>et al.</i> (2015); Cicek <i>et al.</i> (2012)
6	1,79	Ácido 4- <i>O</i> -cafeoil-2,7-anidro-D-glicero-β-D-galacto-oct-2-ulopiranosônico isômero 2	[C ₁₇ H ₁₇ O ₁₁] ⁻	397,0764	397,0771	1,8	235,0498 (40)	Takenaka e Ono (2003)
7	1,88	Triptofano	[C ₁₁ H ₁₁ N ₂ O ₂] ⁻	203,0823	203,0821	1,0	116,0504 (22), 74,0230 (22)	Gómez-Romero; Segura-Carretero; Fernández-Gutiérrez (2010); Liu <i>et al.</i> (2013); Yan <i>et al.</i> (1999)
8	2,12	Ácido clorogênico	[C ₁₆ H ₁₇ O ₉] ⁻	353,0873	353,0873	0,0	191,0496 (100)	Clifford <i>et al.</i> (2003); Clifford <i>et al.</i> (2005); Russo <i>et al.</i> (2015)
9	2,22	Ácido 4-cafeoilquinico (Ácido criptoclorogênico)	[C ₁₆ H ₁₇ O ₉] ⁻	353,0874	353,0873	0,3	191,0184 (100), 179,0410 (100), 173,0455 (60), 135,0451 (40)	Clifford <i>et al.</i> (2003); Clifford <i>et al.</i> (2005); Russo <i>et al.</i> (2015); Simonovska <i>et al.</i> (2003)
10	2,38	Ácido isopropilmálico	[C ₇ H ₁₁ O ₅] ⁻	175,0608	175,0606	1,1	157,0495 (5), 131,0243 (10), 115,0380 (70), 113,0245 (35)	Gómez-Romero, Segura-Carretero e Fernández-Gutiérrez (2010); Abu-Reidah <i>et al.</i> (2013)
11	2,54	NI	[C ₁₃ H ₁₅ O ₈] ⁻	299,0763	299,0767	1,3	191,0185 (40), 152,0092 (41), 108,0193 (70)	

continua

Tabela 2 – Constituintes tentativamente identificados no xarope de yacon, usando o modo negativo ESI

								continuação e conclusão
Pico no.	TR (min)	Compostos	Fórmula	[M-H] ⁻ m/z (exp)	[M-H] ⁻ m/z (cal)	Erro (ppm)	Fragmentos de íons (intensidade) m/z (%)	Referência
12	2,65	NI	[C ₁₈ H ₂₇ O ₉] ⁻	387,1664	387,1655	2,3	191,0166 (55)	
13	2,96	Ácido dicafeoilaltrárico isômero 1	[C ₂₄ H ₂₁ O ₁₄] ⁻	533,0929	533,0931	0,1	371,0579 (50), 209,0270 (100)	Takenaka <i>et al.</i> (2003); Schwaiger <i>et al.</i> (2006)
14	3,30	Ácido dicafeoilaltrárico isômero 2	[C ₂₄ H ₂₁ O ₁₄] ⁻	533,0930	533,0931	0,2	371,0568 (30), 209,0269 (100)	Takenaka <i>et al.</i> (2003); Schwaiger <i>et al.</i> (2006)
15	3,56	Ácido 4,5-di- <i>O</i> -cafeoil-2,7-anidro-D-glicero- <i>O</i> -β-galacto-oct-2-ulopiranosônico	[C ₂₆ H ₂₃ O ₁₄] ⁻	559,1083	559,1088	0,9	397,0822 (22), 235,0446 (40)	Takenaka e Ono (2003)
16	3,56	Ácido dicafeoilaltrárico isômero 3	[C ₂₄ H ₂₁ O ₁₄] ⁻	533,0922	533,0931	1,7	371,00573 (48), 209,0273 (100)	Takenaka <i>et al.</i> (2003); Schwaiger <i>et al.</i> (2006)
17	3,86	Ácido dicafeoilaltrárico isômero 4	[C ₂₄ H ₂₁ O ₁₄] ⁻	533,0937	533,0931	1,1	371,0594 (22), 209,0292 (100)	Takenaka <i>et al.</i> (2003); Schwaiger <i>et al.</i> (2006)
18	4,10	Ácido dicafeoilaltrárico isômero 5	[C ₂₄ H ₂₁ O ₁₄] ⁻	533,0923	533,0931	1,5	371,0607 (31), 209,0273 (100)	Takenaka <i>et al.</i> (2003); Schwaiger <i>et al.</i> (2006)
19	4,17	Ácido 3,4-dicafeoilquínico	[C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂] ⁻	515,1198	515,1190	1,6	353,0861 (30), 191,0229 (62), 179,0469 (63), 173,0390 (59)	Clifford <i>et al.</i> (2003); Clifford <i>et al.</i> (2005); Russo <i>et al.</i> (2015); Simonovska <i>et al.</i> (2003)
20	4,23	NI	[C ₂₆ H ₃₅ O ₁₁] ⁻	523,2166	523,2179	2,5	361,1678 (62), 191,0166 (22)	
21	4,31	Ácido 3,5-dicafeoilquínico	[C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂] ⁻	515,1185	515,1190	1,0	353,0854 (100), 191,0518 (100), 179,0325 (60), 135,0407 (15)	Clifford <i>et al.</i> (2003); Clifford <i>et al.</i> (2005); Russo <i>et al.</i> (2015); Simonovska <i>et al.</i> (2003)
22	4,56	Butanodioldiacetato	[C ₈ H ₁₃ O ₄] ⁻	173,0809	173,0814	2,9	131,0 685(100)	Rodríguez-Pérez <i>et al.</i> (2013)
23	4,62	Leeaoside	[C ₂₄ H ₃₉ O ₁₁] ⁻	503,2470	503,2492	4,4	371,2050 (30), 209,1558 (2)	Kaewkrud <i>et al.</i> (2007); Zhang <i>et al.</i> (2015)
24	4,66	Ácido 4,5-dicafeoilquínico/Ácido 3,4-dicafeoilquínico	[C ₂₅ H ₂₃ O ₁₂] ⁻	515,1182	515,1190	1,6	353,0812 (80), 191,0353 (50), 179,0385 (66), 173,0434 (93)	Clifford <i>et al.</i> (2003); Clifford <i>et al.</i> (2005); Russo <i>et al.</i> (2015); Simonovska <i>et al.</i> (2003)
25	5,32	Ácido 2,3,5- ou 2,4,5-tricafeoilaltrárico	[C ₃₃ H ₂₇ O ₁₇] ⁻	695,1252	695,1248	0,6	533,0893 (100), 371,0563 (81), 209,0290 (22)	Takenaka <i>et al.</i> (2003); Schwaiger <i>et al.</i> (2006)

NI – não indentificado.

Os principais componentes identificados foram os derivados do ácido caféico, triptofano e ácido clorogênico, em acordo com estudos prévios (YAN *et al.*, 1999; TAKENAKA *et al.*, 2003; CAMPOS *et al.*, 2012), além de ácidos orgânicos, ésteres e outros compostos polares.

O espectro de massa do composto **1** exibiu um íon molecular desprotonado $[M-H]^-$ de m/z 191,0197 ($C_6H_7O_7^-$) e íon produto de m/z 111,0078 $[M-H-CO_2-2H_2O]^-$ e foi tentativamente identificado como ácido cítrico (BASKARAN; PULLENCHERI; SOMASUNDARAM, 2016; GAO *et al.*, 2017). O ácido cítrico foi adicionado durante o processamento do yacon, pois a acidificação da polpa de yacon inativa as enzimas de escurecimento que participam de reações com compostos fenólicos, causando sua degradação e formando melanoidinas, tendo o ácido cítrico um papel fundamental na preservação dos compostos fenólicos.

Os compostos **2** e **6** apresentaram a mesma molécula desprotonada $[M-H]^-$ de m/z 397,0785, 397,0764 ($C_{17}H_{17}O_{11}^-$) com íon produto de m/z 235,0 $[M-C_9H_7O_3$ (fração caféico)] $^-$. Estes compostos foram análogos aos derivados do ácido octulosônico previamente isolados em *Smallanthus sonchifolius* (TAKENAKA; ONO, 2003). Assim, **2** e **6** foram tentativamente identificados como isômeros do ácido 4-*O*-cafeoil-2,7-anidro-D-glicero- β -D-galacto-oct-2-ulopiranosônico. O composto **15** apresentou uma molécula desprotonada $[M-H]^-$ de m/z 559,1083 ($C_{26}H_{23}O_{14}^-$) e produziu íons fragmentos de m/z 397,0 $[M-C_9H_7O_3]^-$ e m/z 235,0 $[M-C_{18}H_{13}O_6]^-$, correspondendo a um grupo cafeoil a mais que o composto **2**. Assim, **15** foi tentativamente identificado como ácido 4,5-di-*O*-cafeoil-2,7-anidro-D-glicero- β -D-galacto-oct-2-ulopiranosônico isolado anteriormente em *Smallanthus sonchifolius* (TAKENAKA; ONO, 2003). Derivados do ácido octulosônico são uma rara classe de produtos naturais, reguladores importantes do metabolismo dos lípidos e dos carboidratos e da sinalização inflamatória. Eles podem regular o processo de inflamação através da mediação de múltiplos alvos que estão envolvidos em várias vias bioquímicas e metabólicas (ZHAO *et al.*, 2014). A presença desses constituintes poderia explicar parcialmente as atividades anti-inflamatórias, hipoglicêmicas e antioxidantes relatadas do yacon.

Os compostos **3**, **8**, **9** e **19**, **21**, **24** mostraram os mesmos íons $[M-H]^-$ de m/z 353,0872, 353,0873, 353,0874 ($C_{16}H_{17}O_9^-$) e m/z 515,1198, 515,1185, 515,1182 ($C_{25}H_{23}O_{12}^-$), respectivamente. Os íons produtos de m/z 191,0, 179,0, 173,0 e 135,0 são característicos dos derivados do ácido quínico ou caféico de acordo com seu padrão de fragmentação característico determinados previamente (CHEN *et al.*, 2014; CLIFFORD *et al.*, 2003; CLIFFORD *et al.*, 2005). De acordo com a abundância relativa dos fragmentos de íons em MS², os compostos **3**,

9, 19, 21, 24 foram identificados como ácido 3-cafeoilquínico, ácido 4-cafeoilquínico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico ou 3,4-dicafeoilquínico, respectivamente (CHEN *et al.*, 2014; CLIFFORD *et al.*, 2005). O composto **8** foi identificado com ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) por comparação do tempo de retenção e dado espectral MS² com um autêntico padrão. O ácido clorogênico é o ácido hidroxicinâmico mais abundante presente em yacon (RUSSO *et al.*, 2015). Simonovska *et al.* (2003) reportaram a presença do ácido clorogênico e seus derivados em yacon. Particularmente, os ácidos clorogênicos possuem uma forte atividade antioxidante, sendo extremamente importantes porque são bem conhecidos na prevenção de doenças causadas por dano oxidativo (BENZIE; CHOI, 2014).

Os compostos **4** e **5** produziram a mesma molécula desprotonada [M-H]⁻ de *m/z* 371,0606 e 371,0613 (C₁₅H₁₅O₁₁⁻) com íons de fragmentações de *m/z* 353,0 [M-H₂O]⁻, 209,0 [M-H₂O-C₉H₇O₃]⁻, 191,0 [M-C₉H₇O₃-2H₂O]⁻. O íon produto de *m/z* 209,0 revela a presença de ácido glucárico em conformidade com os descritos na literatura (BAZYLKO *et al.*, 2015). Portanto, **4** e **5** foram designados como isômeros do ácido cafeoilglucárico. Derivados cafeoilglucárico também foram identificados em membros da família *Asteraceae* (CICEK *et al.*, 2012). O ácido glucárico, um composto que ocorre naturalmente em frutas, vegetais e mamíferos, tem sido investigado para uma ampla variedade de usos terapêuticos e comerciais, incluindo a redução do colesterol, tratamento de diabetes e terapia do câncer (SHIUE; PRATHER, 2014).

O composto **7** foi caracterizado como L-triptofano através da molécula desprotonada [M-H]⁻ de *m/z* 203,0823 (C₁₁H₁₁N₂O₂⁻) e o íon produto de *m/z* 116,0 [M-C₃H₆NO₂]⁻ do íon de núcleo indol (GÓMEZ-ROMERO; SEGURA-CARRETERO; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, 2010; LIU *et al.*, 2013). O triptofano é um aminoácido essencial que deve ser fornecido na dieta. Ele e o seu metabólito serotonina têm um repertório fisiológico expansivo, sendo fundamentais para a saúde. Atuam na microbiota intestinal, na regulação do cérebro e do comportamento em geral, com ênfase específica no seu impacto no metabolismo do triptofano e no sistema serotoninérgico (O'MAHONY *et al.*, 2015). Além disso, o triptofano tem a função de normalizar a tolerância aos hidrocarbonetos, aumentando o nível de insulina e como consequência, diminuindo a hiperglicemia, exercendo também efeitos positivos sobre o metabolismo dos carboidratos nos hepatócitos devido ao aumento da atividade da glicoquinase, hexoquinase e glicose-6-fosfato desidrogenase, que são as principais enzimas da troca de carboidratos (KHOKHLA *et al.*, 2016).

O composto **10** revelou um íon molecular $[M-H]^-$ de m/z 175,0608 ($C_7H_{12}O_5^-$) e íon fragmento de m/z 115,0 $[M-H-2CH_3]^-$, que pode ser correlacionado com o ácido isopropilmálico (GÓMEZ-ROMERO; SEGURA-CARRETERO; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, 2010). Este composto foi previamente identificado em membros da família *Asteraceae* (ABU-REIDAH *et al.*, 2013). O ácido isopropilmálico apresenta importância no sabor e odor de frutos e hortaliças e auxiliam na conservação dos produtos por maiores períodos de armazenamento, uma vez que produtos ácidos apresentam menor probabilidade de contaminação microbiana.

Os compostos **13**, **14**, **16-18** mostraram um íon $[M-H]^-$ de m/z 533,0929, 533,0930, 533,0922, 533,0937, 533,0923 ($C_{24}H_{21}O_{14}^-$) com íons de fragmentação de perdas sucessivas de dois grupos cafeoil a 371,0 $[M-C_9H_7O_3]^-$, 209,0 $[M-C_{18}H_{13}O_6]^-$. De acordo com o padrão de fragmentação, os compostos foram tentativamente identificados como isômeros do ácido dicafeoilaltrárico em conformidade com a literatura (TAKENAKA *et al.*, 2003). O composto **25** produziu a molécula desprotonada $[M-H]^-$ de m/z 695,1252 ($C_{33}H_{27}O_{17}^-$) e íons de fragmentação de m/z 533,0 $[M-C_9H_7O_3]^-$, 371,0 $[M-C_{18}H_{13}O_6]^-$ e 209,0 $[M-C_{27}H_{19}O_9]^-$ correspondendo um grupo cafeoil a mais do que o composto **13**. Assim, o composto **25** foi tentativamente identificado como ácido 2,3,5- ou 2,4,5-tricafeoilaltrárico (TAKENAKA *et al.*, 2003; SCHWAIGER *et al.*, 2006). Todos esses compostos possuem atividade antioxidante e o ácido 2,3,5- ou 2,4,5-tricafeoilaltrárico parece ser um dos compostos mais ativos na inibição da produção de espécies reativas de oxigênio, podendo ser tratado como um marcador de qualidade de matéria-prima (DUDEK *et al.*, 2016).

O composto **22** exibiu um íon $[M-H]^-$ de m/z 173,0809 ($C_8H_{13}O_4^-$) com um espectro de MS² com um íon de fragmento predominante de m/z 131,0 $[M-H-C_2H_3O]^-$, relativo a eliminação do grupo acetil. Composto semelhante e sua fragmentação foi previamente identificado em *Cucumis melo* (RODRÍGUEZ-PÉREZ *et al.*, 2013). Por conseguinte, o composto **22** foi tentativamente identificado com butanodioldiacetato. O butanodioldiacetato é um éster volátil que já foi descrito como um composto de aroma como odor terroso (LIGNOU *et al.*, 2014). O butanodioldiacetato não foi reportado ainda como presente na família, gênero ou espécie do yacon.

O composto **23** produziu uma molécula desprotonada $[M-H]^-$ de m/z 503,2470 ($C_{24}H_{39}O_{11}^-$) e mostrou íons de fragmentos de m/z 371,2 $[M-H-C_5H_8O_4]^-$ e m/z 209,1 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_{10}O_5]^-$, correspondendo a perda de pentoside e as perdas sucessivas de pentoside e glucoside, respectivamente. Os padrões observados de íons moleculares $[M-H]^-$ e de fragmentação foram semelhantes aos estudados em raízes aéreas de *Ficus pandurata* e folhas

de *Leea thorelii* (KAEWKURUD *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2015). Assim, o composto **23** foi tentativamente identificado como leeaoside ou isômero. O leeaoside não foi reportado ainda como presente na família, gênero ou espécie do yacon. Os compostos **11**, **12**, **20** não foram identificados.

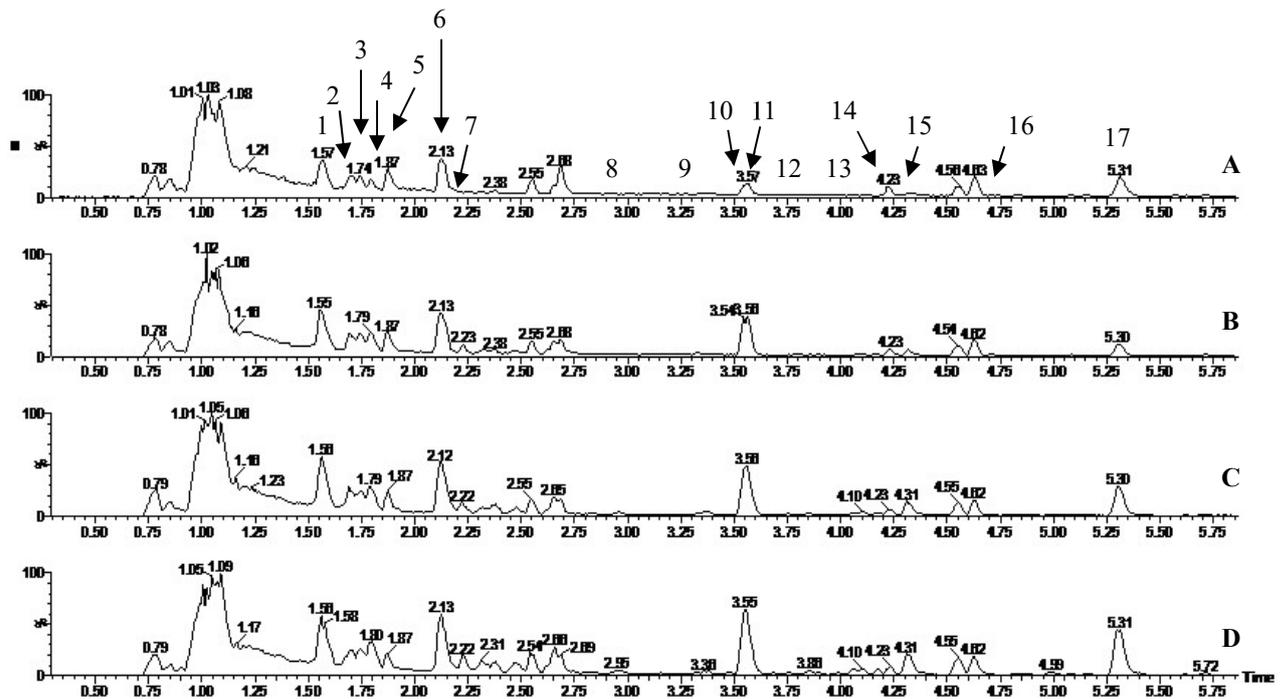
3.3.4 Efeito nas diferentes etapas do processamento no perfil de compostos fenólicos, e concentração de ácido clorogênico e frutooligossacarídeos

O xarope de yacon apresentou uma variedade de componentes importantes e com diferentes ações do ponto de vista nutricional e de saúde, especialmente os polifenóis, com destaque para derivados do ácido caféico como o ácido 4-*O*-cafeoil-2,7-anidro-D-glicero- β -D-galacto-oct-2-ulopiranosônico isômero 1 e o ácido 4,5-di-*O*-cafeoil-2,7-anidro-D-glicero-*O*- β -galacto-oct-2-ulopiranosônico, bem como, o ácido clorogênico e seus isômeros, e também frutooligossacarídeos, tornando-se, portanto, de fundamental relevância conhecer como se comportam esses compostos durante as etapas de produção do xarope de yacon.

3.3.4.1 Perfil de compostos fenólicos

Os cromatogramas de corrente iônica total dos compostos fenólicos de raízes de yacon nas diferentes etapas do processo para a produção de xarope de yacon (polpa de yacon, yacon macerado, yacon microfiltrado e xarope de yacon) podem ser visualizados na Figura 5, sendo os picos numerados de acordo com a sua ordem de eluição anteriormente mostrados na Tabela 2.

Figura 5 – Cromatograma de corrente iônica total das etapas da produção do xarope de yacon em modo negativo. Polpa de yacon – (A); yacon macerado – (B); yacon microfiltrado – (C); xarope de yacon – (D); 1: Ácido 4-*O*-cafeoil-2,7-anidro-*D*-glicero- β -*D*-galacto-oct-2-ulopiranosônico isômero 1; 2: Ácido 3-cafeoilquinico (Ácido neoclorogênico); 3: Cafeoilglucarato isômero 1; 4: Cafeoilglucarato isômero 2; 5: Ácido 4-*O*-cafeoil-2,7-anidro-*D*-glicero- β -*D*-galacto-oct-2-ulopiranosônico isômero 2; 6: Ácido clorogênico; 7: Ácido 4-cafeoilquinico (Ácido criptoclorogênico); 8: Ácido dicafeoilaltrárico isômero 1; 9: Ácido dicafeoilaltrárico isômero 2; 10: Ácido 4,5-di-*O*-cafeoil-2,7-anidro-*D*-glicero-*O*- β -galacto-oct-2-ulopiranosônico; 11: Ácido dicafeoilaltrárico isômero 3; 12: Ácido dicafeoilaltrárico isômero 4; 13: Ácido dicafeoilaltrárico isômero 5; 14: Ácido 3,4-dicafeoilquinico; 15: Ácido 3,5-dicafeoilquinico; 16: Ácido 4,5-dicafeoilquinico/Ácido 3,4-dicafeoilquinico; 17: Ácido 2,3,5- ou 2,4,5-tricafeoilquinico



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

De acordo com os cromatogramas obtidos, podemos observar que, qualitativamente, todos os compostos fenólicos da raiz de yacon foram identificados em todas as diferentes etapas da produção do xarope de yacon. Pode-se observar também que houve um aumento da intensidade dos picos ao longo dos diferentes processos empregados, mostrando que esses componentes podem ter se tornado mais disponíveis à medida que as etapas de produção eram realizadas. Exemplifica-se com o que ocorreu com os compostos **10**, **11** e **17** (ácido 4,5-di-*O*-cafeoil-2,7-anidro-*D*-glicero-*O*- β -galacto-oct-2-ulopiranosônico, ácido dicafeoilaltrárico isômero 3 e ácido 2,3,5- ou 2,4,5-tricafeoilquinico, respectivamente).

No presente trabalho, confirmou-se a UPLC-ESI-QToF-MS^E como sendo uma técnica analítica eficiente para a separação e detecção de compostos fenólicos em yacon. Assim, usando o método proposto, 17 compostos fenólicos foram tentativamente indentificados. Conforme a literatura, este trabalho é o primeiro estudo abrangente da composição fenólica de xarope de yacon. Além disso, nenhum outro trabalho caracteriza os compostos bioativos nas

diferentes etapas de processamento. Neste sentido, os resultados deste trabalho mostram claramente que o processo tecnológico desenvolvido não apresentou efeitos negativos para a degradação destes componentes.

3.3.4.2 Concentração de ácido clorogênico e frutooligossacarídeos

O ACG e os FOS são os compostos mais estudados e importantes no yacon do ponto de vista funcional, por isso tais compostos foram quantificados ao longo das diferentes etapas de processamento para obtenção do xarope de yacon. Neste momento, além da determinação de FOS, também foram determinados os diferentes graus de polimerização (GFs) destes componentes, pois, desta forma, se tivesse ocorrido despolimerização, poderia ser melhor caracterizada. Os resultados da determinação do ACG e FOS são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Conteúdo de ácido clorogênico (ACG) e frutooligossacarídeos (FOS) nas etapas da produção de xarope de yacon

Yacon	ACG ($\mu\text{g g}^{-1}$)	FOS (%)	GF ₆ (%)	GF ₅ (%)	GF ₄ (%)	GF ₃ (%)	GF ₂ (%)
Polpa	25,47 \pm 0,00 ^b	3,34 \pm 0,78 ^b	0,46 \pm 0,11 ^b	0,36 \pm 0,08 ^c	0,65 \pm 0,15 ^b	1,08 \pm 0,26 ^b	0,78 \pm 0,18 ^b
Macerado	25,60 \pm 0,17 ^b	4,73 \pm 0,29 ^b	0,61 \pm 0,04 ^b	0,86 \pm 0,05 ^b	0,98 \pm 0,06 ^b	1,13 \pm 0,07 ^b	1,14 \pm 0,07 ^b
Microfiltrado	23,92 \pm 2,03 ^b	4,34 \pm 0,42 ^b	0,58 \pm 0,06 ^b	0,40 \pm 0,04 ^c	0,71 \pm 0,07 ^b	1,45 \pm 0,14 ^b	1,20 \pm 0,12 ^b
Xarope	175,13 \pm 5,38 ^a	21,84 \pm 1,31 ^a	3,47 \pm 0,21 ^a	2,21 \pm 0,14 ^a	3,04 \pm 0,19 ^a	5,33 \pm 0,33 ^a	7,80 \pm 0,48 ^a
Fator de concentração	5,88	5,54	6,54	5,14	3,68	3,93	9,00

Resultados expressos como média \pm desvio padrão de determinações em triplicata. Valores em uma coluna seguido por diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Através da análise dos dados da Tabela 3, pode-se observar que os valores de FOS e de seus diferentes graus de polimerização não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as etapas de obtenção de polpa, maceração e microfiltração, com exceção do GF₅ na etapa de maceração. Isso demonstra que o processo proposto no presente estudo não afetou negativamente o conteúdo destes compostos, sendo extremamente interessante no sentido de aplicação industrial do processo. Além disso, embora não tenha ocorrido efeito estatisticamente significativo, pode-se observar uma tendência no aumento dos valores de FOS entre o processo de obtenção de polpa, maceração e clarificação, não conferindo uma degradação significativa do FOS e mostrando uma tendência de maior disponibilidade desses compostos. Para o ácido clorogênico, também não foi observado um efeito nas etapas de elaboração do xarope de yacon no conteúdo deste composto fenólico, mostrando um processo tecnológico que culmina na manutenção deste composto bioativo.

Fatores como tratamento térmico, luz e ácido podem degradar tanto os FOS quanto os compostos fenólicos durante os processos de elaboração e armazenamento de alimentos. Os FOS se degradam a temperaturas elevadas (FORGO *et al.*, 2013) e os oligossacárideos protonados são hidrolisados mais rapidamente a pH ácido do que a valores de pH neutros ou básicos (MATUSEK *et al.*, 2009). A hidrólise de frutanos ocorre pela remoção sequencial dos resíduos terminais de frutose pela enzima frutano-exohidrolases e Narai-Kanayama, Tokita e Aso (2007) sugeriram que a frutano-exohidrolase está relacionada com o declínio contínuo do FOS de baixo grau de polimerização durante o armazenamento. Já os polifenóis degradam, oxidam ou polimerizam rapidamente durante o processamento e armazenamento. Chen, Yu e Rupasinghe (2013) relataram que o processamento térmico pode causar complexas reações físicas e químicas que afetam a composição fenólica, incluindo a liberação de compostos fenólicos de suas formas ligadas, a degradação de polifenóis e a decomposição e transformação de compostos fenólicos. Estas reações são influenciadas pela composição e matriz do material vegetal. A hidroxilação, esterificação e a despolimerização são favorecidas em condições ácidas e baixo pH (TEMBO; HOLMES; MARSHALL, 2017).

Para a etapa de concentração a vácuo, como esperado, os valores para todas as variáveis avaliadas foram diferentes, com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) e valores de FOS e ACG elevados, quando comparamos com os valores das etapas de polpa, maceração e microfiltração. O uso da maceração enzimática aliada à tecnologia de membranas e concentração a vácuo possibilitaram condições necessárias para a manutenção desses compostos funcionais.

3.4 Conclusões

O xarope de yacon apresentou uma composição química diversificada, com destaque para o seu elevado conteúdo de FOS e ACG, além de diferentes compostos, como aminoácidos essenciais (valina e treonina), e diversos compostos fenólicos com potencial antioxidante. Ao analisar as etapas de produção do xarope de yacon, pode-se concluir que o processo tecnológico proposto não degradou os componentes funcionais do yacon, levando à uma concentração destes componentes (FOS e ACG) no xarope cerca de seis vezes maior do que a concentração encontrada na polpa de yacon. Desta forma, o xarope de yacon se mostrou como um produto diferenciado do ponto de vista nutricional e funcional, respondendo a um nicho de mercado ávido por produtos inovadores na área de alimentos funcionais, e o processo tecnológico utilizado foi adequado para a obtenção de um produto de elevada qualidade.

REFERÊNCIAS

- ABU-REIDAH, I. M. *et al.* Reversed-phase ultra-high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry as a powerful tool for metabolic profiling of vegetables: *Lactuca sativa* as an example of its application. **Journal of Chromatography A**, v. 1313, p. 212-227, Oct. 2013.
- AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application—the specific case of coffee antioxidants—a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 58, p. 21-39, Dec. 2016.
- ALAM, M. A. *et al.* Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. **Nutrition & Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 27, Apr. 2016.
- ALVES FILHO, E. G. *et al.* Non-targeted analyses of organic compounds in urban wastewater. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 53, n. 9, p. 704-710, Sep. 2015.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry International**. 18 ed. Gaithersburg: Associations of Official Analytical Chemists, 2005. 1015 p.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemits**. 17 ed. Arlington: AOAC Inc., v. 1 and v. 2, 2000.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington DC, USA: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF), 2012. 1360 p.
- BALAYSSAC, S. *et al.* 2D and 3D DOSY ¹H NMR, a useful tool for analysis of complex mixtures: application to herbal drugs or dietary supplements for erectile dysfunction. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 50, n. 4, p. 602-612, Nov. 2009.
- BASKARAN, R.; PULLENCHERI, D.; SOMASUNDARAM, R. Characterization of free, esterified and bound phenolics in custard apple (*Annona squamosa* L) fruit pulp by UPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 82, p. 121-127, Apr. 2016.
- BAZYLKO, A. *et al.* Aqueous and ethanolic extracts of *Galinsoga parviflora* and *Galinsoga ciliata*. Investigations of caffeic acid derivatives and flavonoids by HPTLC and HPLC-DAD-MS methods. **Phytochemistry Letters**, v. 11, p. 394-398, Mar. 2015.
- BENZIE, I. F. 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, Jul. 1996.
- BENZIE, I. F. F.; CHOI, S.-W. Antioxidants in food: content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 71, p. 1-53, 2014.

BEUCHAT, L. R. *et al.* Low–water activity foods: increased concern as vehicles of foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 1, p. 150-172, Jan. 2013.

BIAZON, A. C. B. *et al.* The in vitro antioxidant capacities of hydroalcoholic extracts from roots and leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) do not correlate with their *in vivo* antioxidant action in diabetic rats. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 4, n. 2, p. 15, Feb. 2016.

BRESTENSKÝ, M. *et al.* Branched chain amino acids and their importance in nutrition. **The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 5, n. 2, p. 197, Oct./Nov. 2015.

BROOKS, A. A.; ASAMUDO, N. U.; TAKON, I. Bacteriological stability of high sugar pediatric syrups probability of survival of contaminating bacteria. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 22, n. 13, p. 1-4, Jan. 2012.

BUCHNER, N. *et al.* Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 20, n. 21, p. 3229-3235, Nov. 2006.

BURGNER, E.; FEINBERG, M. Determination of mono- and disaccharides in foods by interlaboratory study: quantification of bias components for liquid chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p. 443-464, Mar. 1992.

CAETANO, B. F. R. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a food supplement: health-promoting benefits of fructooligosaccharides. **Nutrients**, v. 8, n. 7, p. 436, Jul. 2016.

CAMPOS, D. *et al.* Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1592-1599, Dec. 2012.

CHEN, X.-F. *et al.* Liquid chromatography coupled with time-of-flight and ion trap mass spectrometry for qualitative analysis of herbal medicines. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 1, n. 4, p. 235-245, Nov. 2011.

CHEN, F. *et al.* Analysis of phenolic acids of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) responding to salt-stress by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-8, Aug. 2014.

CHEN, Y.; YU, L. J.; RUPASINGHE, H. P. Effect of thermal and non-thermal pasteurisation on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice: a mini-review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 5, p. 981-986, Mar. 2013.

CHIANG, H.-M. *et al.* *Coffea arabica* extract and its constituents prevent photoaging by suppressing MMPs expression and MAP kinase pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 1, p. 309-318, Jan. 2011.

CICEK, S. S. *et al.* Caffeoyle-d-glucaric acid derivatives in the genus *Gnaphalium* (*Asteraceae: Gnaphalieae*). **Records of Natural Products**, v. 6, p. 311-315, May 2012.

- CLIFFORD, M. N. *et al.* Hierarchical scheme for LC-MS n identification of chlorogenic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2900-2911, Apr. 2003.
- CLIFFORD, M. N.; KNIGHT, S.; KUHNERT, N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS (n). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 3821-3832, May 2005.
- CONSTANTINOU, M. A. *et al.* ^1H NMR-based metabonomics for the diagnosis of inborn errors of metabolism in urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 542, n. 2, p. 169-177, Jun. 2005.
- DAVIS, A. L. *et al.* ^1H and ^{13}C NMR assignments of some green tea polyphenols. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 34, n. 11, p. 887-890, Nov. 1996.
- DE BRUYN, A.; VAN LOO, J. The identification by ^1H -and ^{13}C -NMR spectroscopy of sucrose, 1-kestose, and neokestose in mixtures present in plant extracts. **Carbohydrate Research**, v. 211, n. 1, p. 131-136, Apr. 1991.
- DEL CAMPO, G. *et al.* Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl) furfural in soluble coffees by ^1H NMR spectrometry. **Talanta**, v. 81, n. 1-2, p. 367-371, Apr. 2010.
- DIONÍSIO, A. P. *et al.* **Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*):** obtenção de extrato com manutenção das propriedades nutricionais e inativação de enzimas de escurecimento. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 206).
- DUDEK, M. K. *et al.* Caffeic acid derivatives isolated from the aerial parts of *Galinsoga parviflora* and their effect on inhibiting oxidative burst in human neutrophils. **Phytochemistry Letters**, v. 16, p. 303-310, Jun. 2016.
- FORGO, P. *et al.* Thermal degradation and consequent fragmentation of widely applied oligosaccharides. **Microchemical Journal**, v. 107, p. 37-46, Mar. 2013.
- FRANCO, T. S. *et al.* Effects of foam mat drying on physicochemical and microstructural properties of yacon juice powder. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 503-513, Mar. 2016.
- GAO, D. *et al.* Analysis of chemical constituents in an herbal formula Jitong Ning Tablet. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 140, p. 301-312, Jun. 2017.
- GENTA, S. *et al.* Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 2, p. 1-6, Apr. 2009.
- GEYER, M. *et al.* Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. **Digestion**, v. 78, n. 1, p. 30-33, Nov. 2008.
- GHINI, V. *et al.* Metabolomics profiling of pre-and post-anesthesia plasma samples of colorectal patients obtained via Ficoll separation. **Metabolomics**, v. 11, n. 6, p. 1769-1778, Dec. 2015.

GÓMEZ-ROMERO, M.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Metabolite profiling and quantification of phenolic compounds in methanol extracts of tomato fruit. **Phytochemistry**, v. 71, n. 16, p. 1848-1864, Nov. 2010.

HORWITZ, W. (Ed.). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17. ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2000. v. 2, p.15-18 (Chapter 50, met. 985.35 and 984.27).

HORWITZ, W.; LATIMER, J. R.; GEORGE, W. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18. ed. Gaithersburg: AOAC, 2005. p. 96-98 (Chapter 45, met. 999.03).

JAISSWAL, R.; DESHPANDE, S.; KUHNERT, N. Profiling the chlorogenic acids of *Rudbeckia hirta*, *Helianthus tuberosus*, *Carlina acaulis* and *Symphytotrichum novae-angliae* leaves by LC-MSⁿ. **Phytochemical Analysis**, v. 22, n. 5, p. 432-441, Sep./Oct. 2011.

JÁUREGUI, A. M. M. *et al.* Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. **Revista Socies Química**. v. 73, n. 3, p. 142-149, jul./set. 2007.

KAEWKRUD, W. *et al.* Leeaoside, a new megastigmane diglycoside from the leaves of *Leea thorelii* Gagnep. **Journal of Natural Medicines**, v. 61, n. 4, p. 449-451, Oct. 2007.

KARAR, M. G. E. *et al.* Neuraminidase inhibition of dietary chlorogenic acids and derivatives—potential antivirals from dietary sources. **Food & Function**, v. 7, n. 4, p. 2052-2059, Apr. 2016.

KHOKHLA, M. *et al.* Yacon's (*Smallanthus Sonchifolius* Poepp. and Endl.) effects on postprandial glucose under experimental diabetes *mellitus*. **Academia Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 029-036, Jun. 2016.

KOVACEVIC, V.; SIMPSON, A. J.; SIMPSON, M. J. ¹H NMR-based metabolomics of *Daphnia magna* responses after sub-lethal exposure to triclosan, carbamazepine and ibuprofen. **Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics**, v. 19, p. 199-210, Sep. 2016.

KUSKOSKI, E. M. *et al.* Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 25, n. 4, p. 726-732, Oct./Dec. 2005.

L'HOMME, C.; PUIGSERVER, A.; BIAGINI, A. Effect of food-processing on the degradation of fructooligosaccharides in fruit. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 533-537, Sep. 2003.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, Apr. 1997.

LIANG, X. C. *et al.* Effects of chlorogenic acid on mouse insulin resistance development induced by high fat emulsion. **Chinese Pharmacological Bulletin**, v. 29, n. 5, p. 654-658, 2013.

LIGNOU, S. *et al.* Sensory and instrumental analysis of medium and long shelf-life Charentais cantaloupe melons (*Cucumis melo* L.) harvested at different maturities. **Food Chemistry**, v. 148, n. 100, p. 218-229, Apr. 2014.

LIU, M.-H. *et al.* Rapid separation and identification of multiple constituents in traditional chinese medicine formula shenqi fuzheng injection by ultra-fast liquid chromatography combined with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 74, p. 141-155, Feb. 2013.

MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A.; HERMANN, M. **Yacon syrup: principles and processing.** Series: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: una década de investigación para el desarrollo (1993–2003), N° 8B, International Potato Center, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Erbacher Foundation Swiss Agency for Development and Cooperation, Lima, Perú, 31 pp, 2005.

MARCONE, M. F. *et al.* Diverse food-based applications of nuclear magnetic resonance (NMR) technology. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 729-747, May 2013.

MATUSEK, A. *et al.* Effect of temperature and pH on the degradation of fructo-oligosaccharides. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 3, p. 355-365, Jan. 2009.

MENG, S. *et al.* Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

MILLER, N. J. *et al.* A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, n. 4, p. 407-412, Apr. 1993.

NARAI-KANAYAMA, A.; TOKITA, N.; ASO, K. Dependence of fructooligosaccharide content on activity of fructooligosaccharide-metabolizing enzymes in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 6, p. S381-S387, Aug. 2007.

NORD, L. I.; VAAG, P.; DUUS, J. Ø. Quantification of organic and amino acids in beer by ¹H NMR spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 16, p. 4790-4798, Aug. 2004.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O.; TAYLOR, S. J. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 74, n. 2, p. 209-215, Jun. 1997.

O'MAHONY, S. M. *et al.* Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. **Behavioural Brain Research**, v. 277, p. 32-48, Jan. 2015.

PEREIRA, J. A. R. *et al.* Total antioxidant activity of yacon tubers cultivated in Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 5, p. 596-605, Sep./Oct. 2016.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, Apr. 2005.

REVUELTA-INIESTA, R.; AL-DUJAILI, E. A. S. Consumption of green coffee reduces blood pressure and body composition by influencing 11 β -HSD1 enzyme activity in healthy individuals: a pilot crossover study using green and black coffee. **BioMed Research International**, v. 2014, n. 8, p. 482704, Jul. 2014.

RITOTA, M. *et al.* HRMAS-NMR spectroscopy and multivariate analysis meat characterisation. **Meat Science**, v. 92, n. 4, p. 754-61, Dec. 2012.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, C. *et al.* Comparative characterization of phenolic and other polar compounds in Spanish melon cultivars by using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole-time of flight mass spectrometry. **Food Research International**, v. 54, n. 2, p. 1519-1527, 2013.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, Aug. 2010.

RUSSO, D. *et al.* Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 17696-17718, Jul. 2015.

SALVADOR, A. C. *et al.* Desarrollo de jalea de yacón de reducido valor calórico: caracterización físico-química, microbiológica y sensorial. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 39, n. 3, p. 72-77, Sep. 2012.

SCHEID, M. M. A. *et al.* Freeze-dried powdered yacon: effects of FOS on serum glucose, lipids and intestinal transit in the elderly. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 7, p. 1457-1464, Oct. 2014.

SCHWAIGER, S. *et al.* Development of an HPLC-PAD-MS assay for the identification and quantification of major phenolic edelweiss (*Leontopodium alpium* Cass.) constituents. **Phytochemical Analysis**, v. 17, n. 5, p. 291-298, Sep./Oct. 2006.

SHIOMI, N.; ONODERA, S.; SAKAI, H. Fructooligosaccharide content and fructosyltransferase activity during growth of onion bulbs. **New Phytologist**, v. 136, n. 1, p. 105-113, May 1997.

SHIUE, E.; PRATHER, K. L. J. Improving D-glucaric acid production from myo-inositol in *E. coli* by increasing MIOX stability and myo-inositol transport. **Metabolic Engineering**, v. 22, p. 22-31, Mar. 2014.

SIMONOVSKA, B. *et al.* Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography A**, v. 1016, n. 1, p. 89-98, Oct. 2003.

SIRHAN, A. Y.; TAN, G. H.; WONG, R. C. S. Determination of aflatoxins in food using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time of flight mass spectrometry (LC-ESI-QTOF-MS/MS). **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 35-44, May 2013.

- SISMOTTO, M. *et al.* A simple liquid chromatography coupled to quadrupole time of flight mass spectrometry method for macrolide determination in tilapia fillets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 2, p. 153-162, Jun. 2014.
- SOUSA, S. *et al.* Antioxidant properties of sterilized yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour. **Food Chemistry**, v. 188, p. 504-509, Dec. 2015.
- SUCUPIRA, N. R. *et al.* NMR Spectroscopy and chemometrics to evaluate different processing of coconut water. **Food Chemistry**, v. 216, p. 217-224, Feb. 2016.
- TAKENAKA, M.; ONO, H. Novel octulosonic acid derivatives in the composite *Smallanthus sonchifolius*. **Tetrahedron Letters**, v. 44, n. 5, p. 999-1002, Jan. 2003.
- TAKENAKA, M. *et al.* Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 793-796, Jan. 2003.
- TEMBO, D. T.; HOLMES, M. J.; MARSHALL, L. J. Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from Malawi. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 58, p. 40-51, May 2017.
- VASCONCELOS, C. M. *et al.* Evaluating strategies to control enzymatic browning of minimally processed yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 9, p. 1982-1994, Sep. 2015.
- WISHART, D. S. *et al.* HMDB: the human metabolome database. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. suppl 1, p. D521-D526, Jan. 2007.
- WU, G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 1-17, May 2009.
- WU, H. *et al.* Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 72, p. 267-291, Jan. 2013.
- YAN, X. *et al.* Extraction and identification of antioxidants in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4711-4713, Nov. 1999.
- YANG, M. *et al.* Phytochemical analysis of traditional Chinese medicine using liquid chromatography coupled with mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 11, p. 12045-2062, Mar. 2009.
- YE, Y. *et al.* Effects of food processing on the nutrient composition of *Pyropia yezoensis* products revealed by NMR-based metabolomic analysis. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 2, n. 10, p. 749-756, Jan. 2014.

ZHANG, X. *et al.* HPLC/QTOF-MS/MS application to investigate phenolic constituents from *Ficus pandurata* H. aerial roots. **Biomedical Chromatography**, v. 29, n. 6, p. 860-868, Jun. 2015.

ZHAO, J. *et al.* Octulosonic acid derivatives from Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*) with activities against inflammation and metabolic disorder. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 3, p. 509-515, Mar. 2014.

ZHOU, Y. *et al.* Qualitative and quantitative analysis of diterpenoids in *Salvia* species by liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 24, p. 4847-4858, Jun. 2009.

CAPÍTULO 4: XAROPE DE YACON: APLICAÇÃO EM ALIMENTOS E IMPACTO NA SACIEDADE EM VOLUNTÁRIOS SAUDÁVEIS

RESUMO

O xarope obtido a partir de raízes de yacon pode ser utilizado como um produto funcional devido ao seu alto teor de frutooligossacarídeos (FOS). Diante disso, examinamos as possíveis aplicações alimentares do xarope de yacon, utilizando a metodologia do grupo focal, e sua aceitabilidade sensorial quando incorporado em iogurte natural. Os efeitos benéficos do consumo de xarope de yacon foram estudados durante um período de 15 dias em um experimento controlado com placebo duplo-cego (denominado Teste A) e outro consistindo de apenas um dia de consumo de xarope de yacon (denominado Teste B) foi também avaliado. As doses de xarope de yacon para ambos os experimentos foram de 8,74 g de FOS/dia. A ingestão energética, a fome, a saciedade, a plenitude e o consumo potencial de alimentos foram avaliados com escalas analógicas no final de cada teste. Os resultados indicaram que o iogurte foi o alimento mais sugerido pelo grupo focal e a média das pontuações atribuídas aos atributos quando o xarope de yacon foi incorporado em um iogurte foram: 7,78 para a aparência; 7,72 para o aroma; 7,02 para o sabor e 6,96 para a aceitabilidade geral, correspondendo a "gostei moderadamente" a "gostei muito". Além disso, os resultados indicaram que o xarope de yacon tem efeito positivo sobre o apetite e seu efeito foi dependente de gênero e período de intervenção, sendo estatisticamente significativo ($P < 0,05$) em mulheres, após o período de 15 dias. Essas conclusões sugeriram que o aumento da ingestão de FOS poderia ajudar a aumentar a saciedade e, conseqüentemente, ser útil no manejo do diabetes tipo 2 ou no controle da prevalência elevada atual de sobrepeso ou obesidade.

Palavras-chave: *Smallanthus sonchifolius*. Grupo focal. Iogurte.

ABSTRACT

Syrup obtained from yacon roots can be used as a functional product due to its high fructooligosaccharides (FOS) content. Considering this, we examined the potential food applications of yacon syrup, using the focal group methodology, and its sensorial acceptability when incorporated in yoghurt. The beneficial effects of the consumption of yacon syrup were studied over a 15 days period in a double-blind placebo-controlled experiment (namely Test A), and other consistent of only one day of yacon syrup consumption (namely Test B) were also evaluated. The doses of yacon syrup for both experiments were 8.74 g of FOS/day. Energy intake, hunger, satiety, fullness and prospective food consumption were assessed with analogue scales at the end of each test. The results indicated that the yogurt was the food most suggested by the focus group, and the average of the scores given to the attributes when the yacon syrup was incorporated into a yogurt were: 7.78 for appearance; 7.72 for aroma; 7.02 for flavor and 6.96 for overall acceptability, corresponding to “like very much” and “like moderately”. Furthermore, the results indicated that yacon syrup has a positive effect on appetite and its effect was dependent of gender and period of intervention, being statistically significant ($P < 0.05$) in women, after 15 days period. These findings suggested that increasing FOS intake could help to increase satiety, and consequently, be helpful in the management of type 2-diabetes or control of the current high prevalence of overweight or obesity.

Keywords: *Smallanthus sonchifolius*. Focal group. Yogurt.

4.1 Introdução

O yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] é uma raiz tuberosa que é considerada um alimento funcional, pois contém frutooligossacarídeos (FOS), uma fibra dietética com propriedades prebióticas (CASTRO; VILAPLANA; NILSSON, 2017) e ácido clorogênico (ACG) (RUSSO *et al.*, 2015). O consumo de FOS melhora o crescimento de micro-organismos benéficos no cólon (principalmente *Bifidus* e *Lactobacillus*), aumenta a absorção mineral, o metabolismo gastrointestinal e desempenha um papel na regulação do colesterol sérico e da glicemia (DELGADO *et al.*, 2012). Além disso, dados publicados indicam que o consumo de alguns prebióticos pode promover uma modulação positiva de uma série de biomarcadores relacionados ao trato digestivo (por exemplo, grelina) ou a reserva de energia (por exemplo, insulina e leptina) e a supressão desses hormônios pode contribuir para a equilíbrio energético (GENTA *et al.*, 2009; CANI *et al.*, 2006).

O apetite, ponto central do balanço energético, pode ser dividido nos seguintes componentes: fome e saciedade. A fome está relacionada com as sensações que promovem o consumo de alimentos e envolve fatores metabólicos, sensoriais e cognitivos. A saciedade, por sua vez, é definida como a sensação de plenitude como consequência do comer e que inibe a retomada do comer no curto prazo, e está relacionada à próxima refeição, podendo reduzir seu volume ou diminuir o intervalo de tempo entre elas, sendo esses alguns dos parâmetros de saciedade avaliados (AMIN; MERCER, 2016; CLARK; SLAVIN, 2013; GIUNTINI *et al.*, 2015).

O xarope de yacon é um produto obtido por diversos processos tecnológicos, compreendendo tratamento ácido e enzimático, seguido de microfiltração e concentração. Este produto pode ser um produto funcional promissor devido às suas elevadas concentrações de compostos prebióticos. No entanto, os efeitos do consumo do xarope de yacon ainda precisam ser estudados. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi investigar o uso potencial do xarope de yacon em alimentos, utilizando a metodologia do grupo de foco, e avaliar os benefícios relacionados à saciedade após intervenção de xarope de yacon na dieta durante o consumo em curto e médio prazo com voluntários saudáveis.

4.2 Material e métodos

4.2.1 *Elaboração do xarope de yacon*

O xarope de yacon foi produzido em planta piloto de processamento de alimentos (Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará - Brasil). As raízes de yacon foram processadas para obtenção da polpa e, após o tratamento ácido do yacon (DIONÍSIO *et al.*, 2013), a polpa foi extraída e tratada com Pectinex[®] Ultra SP-L e Celluclast[®] 1.5 L (500 mg L⁻¹ de cada enzima, a 45 °C, 175 rpm, durante 120 minutos), e filtrada em sistema de microfiltração. Assim, o suco clarificado foi concentrado a 71 °Brix sob vácuo (560 mmHg) e temperatura de 60 ± 5 °C durante 4 horas. O xarope foi dividido em sachês de 40 g (correspondentes a 8,74 g de FOS, 71,74 kcal ou 300,30 kJ), armazenadas a 5 °C, e as amostras foram avaliadas através de análises microbiológicas, químicas, físicas e físico-químicas.

4.2.2 *Métodos de análises*

4.2.2.1 *Cor*

A cor foi determinada em um colorímetro (Minolta, modelo CR-400, Osaka, Japão), estando os resultados baseados em três coordenadas de cor: L*, a*, b*, em que L* varia de 0 (preto) a 100, a* varia do verde (-) ao vermelho (+) e b* varia de azul (-) ao amarelo (+). Com base nos valores de L*, a* e b*, calculou-se o valor de croma (c*), que é a saturação de cor, e a partir da relação entre a* e b*, o ângulo de cor h*, que indica o tom de cor, foi obtido. A diferença de cor (ΔE^*) foi definida pela seguinte equação:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Equação 1})$$

4.2.2.2 *Atividade de água, açúcares totais e redutores, e sólidos solúveis*

A determinação da atividade de água foi realizada à temperatura de 25 °C com o uso de um medidor de atividade de água (Aqualab Decagon Devices Inc. Pullman, modelo CX-2T, Washington, EUA).

Os açúcares totais e redutores foram determinados pelos métodos da Antrona (YEMN; WILLIS, 1954) e do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959), respectivamente.

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado utilizando um refratômetro (Atago, modelo Pocket PAL-3, Tóquio, Japão) a $20,0 \pm 0,5$ °C, conforme metodologia da AOAC (2005).

4.2.2.3 pH e acidez titulável

O pH foi mensurado utilizando um medidor de pH digital (Hanna Instruments, modelo HI2211, Romênia), e a acidez titulável expressa em g de ácido cítrico por 100 g de amostra, seguindo os métodos da AOAC (2005) (AOAC, 942.15).

4.2.2.4 Composição centesimal

A composição centesimal foi determinada, utilizando métodos oficiais de análise da *International Association of Official Agricultural Chemistry – AOAC* (AOAC, 2000). As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl (920.87 AOAC), utilizando 6,25 como fator de conversão de nitrogênio para proteína vegetal; O conteúdo total de lipídios foi determinado pelo método de extração de Soxhlet (925.38 AOAC); as cinzas foram determinadas por incineração a 550 °C em um forno mufla durante 6 h (923.03 AOAC), a umidade foi determinada pelo método AOAC 925.09; e carboidratos por diferença (AOAC, 2000).

4.2.2.5 Frutooligossacarídeos

Os frutooligossacarídeos foram determinados conforme descrito por Horwitz, Latimer e George (2005), e os resultados foram expressos como % de FOS na amostra.

4.2.2.6 Polifenóis totais

Os polifenóis totais foram determinados pelo método do Folin–Ciocalteu (OBANDA; OWUOR; TAYLOR, 1997) e os resultados foram expressos como $\mu\text{g AGE}$ (ácido gálico equivalente) por g de amostra.

4.2.2.7 Análises microbiológicas

A presença de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras foi avaliada de acordo com Feng, Weagant e Grant (2013). As contagens de bolores e leveduras foram avaliadas de acordo com Tournas *et al.* (2001) e os parâmetros microbianos de segurança *Salmonella* spp. de acordo com o Andrews, Jacobson e Hammack (2014). As análises foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pelo Manual de Análise Bacteriológica do Food and Drug Administration (FDA).

4.2.3 Análises sensoriais

O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará (UECE) (nº 56094516.4.0000.5534), de acordo com as normas do Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde (CONEP/MS) (ANEXO A). Todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes da participação.

4.2.3.1 Grupo focal

O grupo focal foi utilizado a fim de obter sugestões para aplicações do xarope de yacon em alimentos, bem como uma breve caracterização sensorial do produto. O teste foi conduzido de acordo com Della Lucia e Minim (2013), com 9 participantes, cinco homens e quatro mulheres, com idade entre 26 e 55 anos, recrutados a partir de seu envolvimento com áreas correlatas, como gastronomia, ciência de alimentos ou engenharia de alimentos e agronomia. Um moderador e um tomador de notas também participaram, e as discussões foram gravadas usando áudio. Os julgadores também marcaram um questionário (APÊNDICE M) com uma lista de termos descritos na literatura para mel e xaropes (BAYMA *et al.*, 2010; MARCAZZAN *et al.*, 2014; GARCÍA-QUIROGA *et al.*, 2015) aqueles que foram percebidos em xarope de yacon. As frequências de cada aplicação sugerida e os termos descritivos foram calculados.

4.2.3.2 Aceitabilidade de iogurte natural integral adicionado de xarope de yacon

Um iogurte natural integral comercial foi utilizado na aceitação sensorial, conforme definido no grupo focal. O iogurte foi preparado com uma porção de 200 g de iogurte, conforme estabelecido pelo RDC 359 (BRASIL, 2003), com a adição de 40 g de xarope de yacon, totalizando aproximadamente 8,74 g de FOS. Este valor foi baseado na sua caracterização como uma fonte de fibra por regulamentos do FDA para alegações de conteúdo de nutrientes e sendo abaixo das doses toleráveis (16 g/dia) (GRABITSKE; SLAVIN, 2009).

A avaliação sensorial da aceitação foi realizada com cinquenta provadores não treinados, como sugerido por Meilgaard, Civille e Carr (2015), usando escala hedônica estruturada em nove pontos (1: "desgostei muitíssimo" e 9: "gostei muitíssimo"). Na mesma sessão, os provadores expressaram sua opinião sobre o que pensavam ser o ideal para a doçura e a acidez, usando uma escala de 5 pontos (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2015). Os provadores também foram convidados a expressar a intenção de compra, se o produto estivesse à venda, em uma escala de 5 pontos, variando de "certamente não compraria" a "certamente compraria".

4.2.4 Caracterização do iogurte (controle) e do iogurte adicionado de xarope de yacon

Para apoiar os resultados indicados pelas análises sensoriais e caracterizar os produtos, foram realizadas as seguintes análises no iogurte (controle) e no iogurte adicionado ao xarope de yacon: pH, acidez titulável, açúcares totais, açúcares redutores e cor (L^* , a^* , b^* , croma, hue e ΔE^*), conforme descrito no item 4.2.2.

4.2.5 Estudo piloto: efeito na fome/saciedade em voluntários saudáveis

Os efeitos do xarope de yacon foram testados em dois ensaios diferentes. No primeiro, denominado Teste A, o xarope de yacon foi consumido diariamente, durante 15 dias; para o teste B, o xarope de yacon foi consumido em apenas um dia. Para ambos os testes, foram escolhidos voluntários em boa saúde geral (definida como a ausência de hipertireoidismo e doenças renais e gastrointestinais, sem diagnóstico prévio ou história familiar de diabetes *mellitus*) e não fazendo uso de qualquer medicação, particularmente antibióticos que poderiam afetar a digestão e absorção de alimentos durante o período do estudo. Voluntários classificados como sobrepeso/obesos (índice de massa corporal (IMC) $\geq 25 \text{ kg m}^{-2}$) ou abaixo do peso (IMC

$\leq 18,6 \text{ kg m}^{-2}$), segundo os critérios da *World Health Organization - WHO* (WHO, 1998), e aqueles que relataram qualquer doença, gravidez, amamentação ou tratamento de qualquer tipo (incluindo possíveis transtornos alimentares) não foram incluídos no estudo.

O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará (UECE) (nº 56094516.4.0000.5534), de acordo com as normas do Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde (CONEP/MS) (ANEXO A). Todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes da intervenção.

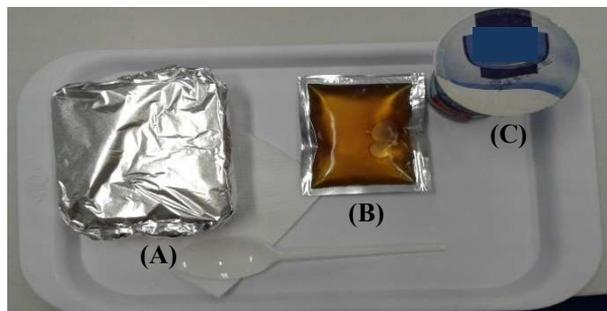
4.2.5.1 Modelo experimental: período de intervenção de 15 dias de xarope de yacon (Teste A)

Este estudo foi um ensaio duplo-cego, paralelo, controlado por placebo realizado ao longo de 15 dias. Ao final da intervenção, analisou-se a fome/saciedade e o consumo de energia. Vinte voluntários saudáveis do sexo masculino ($n = 10/\text{grupo}$) e do sexo feminino ($n = 10/\text{grupo}$) com idade média de $27,6 \pm 5,1$ anos foram incluídos neste estudo. Os voluntários foram divididos em dois grupos: o Grupo 1 (G1), que recebeu xarope de yacon (40 g) e o Grupo 2 (G2), que recebeu placebo (alimento à base de glicose – 40 g de xarope de milho, 71 °Brix, acidificado com 0,1% de ácido cítrico e 0,018% de corante caramelo). Todos os voluntários receberam 15 porções individuais do xarope de yacon ou placebo e foram instruídos a consumir a quantidade total do sachê diariamente, durante o café da manhã. No final do período de 15 dias, os voluntários foram convidados para uma refeição em regime de *buffet* “à vontade”, para realizar o teste de fome/saciedade. A ingestão alimentar desse último café-da-manhã foi estimada por meio de registro alimentar e a composição nutricional da refeição de energia, proteínas, carboidratos, lipídios e fibra alimentar foi determinada utilizando a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos/Unicamp (TACO). Essa ingestão alimentar também foi utilizada para avaliar o efeito da ingestão de yacon no apetite dos voluntários frente ao consumo de uma refeição. As avaliações de apetite foram feitas em escalas analógicas visuais (*visual analogue scale* – VAS) de 100 mm com o texto que expressa o escore mais positivo e o negativo ancorado em cada extremidade. (A) Saciedade: "Eu não aguento comer mais nada"; (B) Fome: "Eu nunca estive com tanta fome"; (C) Plenitude: “Totalmente cheio”; (D) Consumo potencial de alimentos: "Posso comer muito" (RABEN; TAGLIABUE; ASTRUP, 1995). A VAS foi utilizada para avaliar a fome, a saciedade, a plenitude e o consumo potencial de alimentos das refeições do teste (ANEXO B). Os voluntários registraram suas sensações no início de cada refeição (tempo 0) e ao longo do período após o café da manhã (0, 30, 60, 120 e 180 minutos).

4.2.5.2 Modelo experimental: período de intervenção de 1 dia de xarope de yacon (Teste B)

Os voluntários foram instruídos a visitarem o laboratório após 10 horas de jejum e depois consumiram um café da manhã de composição conhecida [sanduíche com queijo e presunto (1027 kJ ou 244 kcal unidade⁻¹) e iogurte natural integral comercial (324,6 kJ ou 77 kcal 100 mL⁻¹)], adicionado ao xarope de yacon (Grupo 3 – G3) ou ao placebo (Grupo 4 – G4), conforme pode ser visualizado na Figura 1. Os indivíduos compostos pelo G3 e G4 foram inalteráveis. No entanto, os testes foram aplicados em duas semanas consecutivas (na primeira semana, os voluntários receberam o xarope de yacon, e na semana seguinte, receberam o placebo). Antes e após o consumo de um café da manhã de composição conhecida, os voluntários responderam as escalas analógicas visuais (*visual analogue scale* – VAS) de 100 mm nos pontos de tempo 0, 30, 60, 120 e 180 min, semelhante ao aplicado no Teste A (item 4.2.5.1).

Figura 1 – Refeição padronizada (café da manhã) servida aos voluntários no teste de saciedade. Sanduíche com queijo e presunto – (A); porção de xarope de yacon – (B); iogurte natural integral – (C)



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

4.2.6 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Os efeitos do xarope de yacon e do placebo foram comparados por análise de variância (ANOVA), utilizando o modelo de medidas repetidas com fatores fixos de tratamento, tempo, interação tratamento e tempo e um fator aleatório do voluntário. A ingestão de energia e os macronutrientes entre as refeições do teste foram comparados, utilizando um teste t independente através do programa SPSS 20.0 para o sistema Windows (SPSS, Chicago IL, EUA). O nível de significância foi estabelecido a $P < 0,05$.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Caracterização do xarope de yacon

A composição química, física e físico-química do xarope de yacon pode ser visualizada na Tabela 1. Os resultados para as medições de cor das coordenadas (L^* , a^* e b^*) para o xarope de yacon foram $47,50 \pm 0,38$, $1,43 \pm 0,03$ e $21,81 \pm 0,23$, respectivamente. Lachman, Fernández e Orsák (2003) revisaram a composição química de yacon e mostraram que a raiz tuberosa apresenta carotenoides - uma classe de compostos responsáveis pela coloração amarelo-vermelho de muitas frutas e hortaliças - em uma concentração de 0,13 mg de β -caroteno 100 g^{-1} . Estes compostos, embora em baixa concentração, podem contribuir para a cor do yacon.

Tabela 1 – Caracterização do xarope de yacon

Caracterização	Xarope de yacon
<i>Composição centesimal</i>	
Umidade (%)	$31,46 \pm 0,13$
Cinzas (%)	$2,11 \pm 0,10$
Proteínas (%)	$1,61 \pm 0,05$
Lipídios (%)	$0,07 \pm 0,01$
Carboidratos (%)	$64,90 \pm 0,25$
<i>Características gerais</i>	
Cor	L^*
	a^*
	b^*
Atividade de água	$47,50 \pm 0,38$
pH	$1,43 \pm 0,03$
Acidez titulável (% ácido cítrico)	$21,81 \pm 0,23$
Sólidos solúveis (° Brix)	$0,78 \pm 0,00$
Açúcares totais (%)	$3,71 \pm 0,02$
	$2,82 \pm 0,04$
	$71,03 \pm 0,06$
	$56,31 \pm 2,49$
<i>Frutooligosacarídeos (FOS) e polifenóis totais</i>	
FOS (%)	$21,84 \pm 1,31$
Polifenóis totais ($\mu\text{g AGE g}^{-1}$)	$1.202,25 \pm 30,02$

Resultados expressos como média \pm desvio padrão de determinações em triplicata.

O conteúdo de água do xarope de yacon foi $31,46 \pm 0,13\%$, e a atividade de água (a_w) de $0,78 \pm 0,0$, como esperado para xarope. De acordo com Beuchat *et al.* (2013), os alimentos com $a_w < 0,85$ são considerados como alimentos de baixa- a_w , considerando que o mínimo de a_w para o crescimento da maioria das bactérias é de aproximadamente 0,87. Esse resultado está relacionado ao maior teor de açúcares totais ($56,31 \pm 2,49\%$) e sólidos solúveis

(71,03 ± 0,06 °Brix). O valor para sólidos solúveis está de acordo com outros trabalhos, como o xarope de yacon obtido por Genta *et al.* (2009) e Manrique, Párraga e Hermann (2005) com valores de 73 °Brix para ambos os produtos.

Como esperado, o xarope de yacon apresentou valores baixos de pH e altos valores de acidez e estão relacionados ao uso de solução de ácido cítrico para inativar as enzimas polifenoloxidasas (PPO). Além de evitar a ocorrência de escurecimento enzimático e preservar sua aparência, o passo de acidificação no processo é particularmente relevante para o yacon, que é rico em polifenóis e altamente susceptível ao escurecimento enzimático (DIONÍSIO *et al.*, 2015).

O yacon é rico em compostos fenólicos que exibem atividade antioxidante, incluindo ácido caféico, ácido ferúlico e ácido clorogênico (DIONÍSIO *et al.*, 2015; TAKENAKA *et al.*, 2003). Além dos constituintes fenólicos do yacon, os frutooligossacarídeos são os principais compostos bioativos, sendo reconhecidos pela literatura científica por suas propriedades funcionais, como os efeitos prebióticos (DIONÍSIO *et al.*, 2015). Como descrito na Tabela 1, o valor obtido para FOS em xarope de yacon foi cerca de 22%. Genta *et al.* (2009) e Geyer *et al.* (2008) obtiveram para xarope de yacon cerca de 40% e 32% de FOS, respectivamente. No entanto, Manrique, Párraga e Hermann (2005) produziram xarope de yacon utilizando duas diferentes cultivares (Cultivar CLLUNC118 - Hualqui e Cultivar AMM5163), e determinaram valores de 10,9 e 47,6% de FOS respectivamente, mostrando a dependência de vários fatores (especialmente a cultivar), na quantidade de FOS em diferentes raízes de yacon.

4.3.2 Grupo focal, aceitação sensorial e caracterização

As análises microbiológicas (Tabela 2) mostraram que o xarope de yacon foi adequado para consumo (coliformes totais e *E. coli*, bolores e leveduras e *Salmonella* spp. não foram detectados).

Tabela 2 – Especificações de propriedades microbiológicas para o xarope de yacon

Coliformes totais e <i>E. coli</i> (NMP mL ⁻¹)	Bolores e leveduras (UFC mL ⁻¹)	<i>Salmonella</i> spp.
< 0,3*	< 10*	Ausência

*Limite de detecção do método

Após o consumo de xarope de yacon por cada participante, o passo inicial foi fazer uma discussão de ideias e desenvolver uma lista de aplicações. Todos os participantes se

sentiram confortáveis uns com os outros e empreenderam a discussão. No final da sessão, os termos que receberam maior pontuação em aparência/cor, aroma, sabor/gosto/sensação bucal e consistência/viscosidade foram, respectivamente: aparência de xarope de cana-de-açúcar (89%), aroma doce (100%), sabor ácido (100%) e viscoso (100%) (Tabela 3).

Tabela 3 – Lista de frequências dos descritores nomeados pelos avaliadores durante a sessão do grupo focal do xarope de yacon

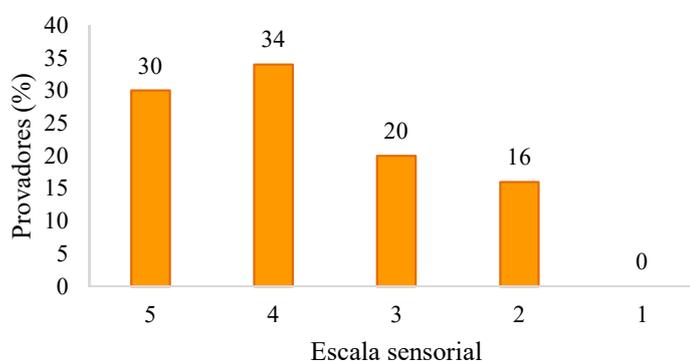
Aparência/cor	(%)	Aroma	(%)	Sabor/gosto/ sensação bucal	(%)	Consistência/ viscosidade	(%)
Mel de cana	89	Doce	100	Ácido	100	Viscoso	100
Xarope de glicose	78	Rapadura	56	Doce	78	Denso	56
Cobertura de pudim	78	Cana de açúcar	56	Melado	78	Pagajoso	44
Açúcar queimado	78	Frutal	44	Caramelizado	56	Suco concentrado	33
Caramelo	67	Açúcar queimado	44	Cítrico	56	Grosso	11
Brilhoso	67	Caramelo	33	Rapadura	44		
Mel medicinal com ervas	44	Ácido	33	Cana de açúcar	33		
Xarope de frutas em calda	44	Cítrico	22	Ervas	22		
Acobreado	44	Floral	22	Floral	22		
Amarelo	33	Medicinal	22	Adstringente	22		
Límpido	33	Fumaça	11	Açúcar queimado	22		
Marrom	33	Refrescante	11	Refrescante	22		
Transparente	22	Café	11	Frutal	22		
Laranja escuro	22	Ervas	11	Vegetal seco	11		
Cristalino	11	Vegetal verde	11	Pungente	11		
Queimado	11			Caramelo	11		
Refrigerante/guaraná	11			Travoso	11		
Clarificado	11			Vegetal verde	11		
Café fraco	11			Ardente	11		
Dourado	11			Medicinal	11		

Para as aplicações do xarope de yacon, as principais sugestões obtidas pelo grupo focal incluíram iogurte, salada de frutas e bebidas. De acordo com Tomic *et al.* (2017), o iogurte é um produto muito aceito e pode ser adicionado com um ingrediente de fibra, como forma de aumentar o seu consumo pelos consumidores. Além disso, a inulina e seus hidrolisados (oligofrutanos com grau de polimerização de 2 a 8) também são adicionados aos produtos lácteos, como o iogurte, para melhorar as propriedades da textura e a aceitação sensorial (CASTRO *et al.*, 2013). Assim, considerando o resultado do grupo de foco, o iogurte foi o produto selecionado para a próxima etapa deste trabalho, para avaliar a aceitação sensorial de um alimento adicionado com xarope de yacon (iogurte + xarope de yacon).

Os resultados obtidos para as análises sensoriais mostraram altos escores de aceitabilidade sensorial para o iogurte adicionado com xarope de yacon, considerando a

pontuação média dada pelos 50 provadores. As pontuações para cada atributo avaliado foram: 7,78 para a aparência; 7,72 para o aroma; 7,02 para o sabor e 6,96 para a aceitação global, correspondendo aos termos hedônicos "gostei moderadamente" a "gostei muito". Deve-se ressaltar que a boa aceitabilidade da amostra evidencia um possível sucesso de comercialização, o que pode ser verificado através da intenção de compra do produto que mostrou que 64% dos provadores indicaram atitude positiva (certamente ou provavelmente comprariam o produto) (Figura 2).

Figura 2 – Distribuição percentual da intenção de compra (5 = certamente compraria, 3 = talvez compraria/talvez não compraria e 1 = certamente não compraria) do iogurte adicionado de xarope de yacon



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

A adição de xarope de yacon influenciou todos os parâmetros avaliados no iogurte, tais como pH, acidez titulável, cor (valores L^* , a^* , e b^*), açúcares totais e açúcares redutores (Tabela 3).

Tabela 4 – Caracterização do iogurte (controle) e do iogurte adicionado de xarope de yacon

Variáveis	Iogurte	Iogurte + Xarope de yacon
pH	4,53 ± 0,01	4,02 ± 0,01
Acidez titulável (ácido cítrico) (%)	0,64 ± 0,01	1,07 ± 0,03
Açúcar total (%)	5,51 ± 0,24	10,96 ± 0,05
Açúcar redutor (%)	5,51 ± 0,24	10,96 ± 0,05
L^*	74,04 ± 0,69	70,19 ± 1,16
a^*	- 1,75 ± 0,04	- 0,82 ± 0,01
b^*	11,54 ± 0,11	13,76 ± 0,24
Croma	11,67 ± 0,11	13,79 ± 0,24
Hue	- 81,36 ± 0,12	- 86,59 ± 0,09
ΔE^*	-	4,63 ± 1,26

Resultados expressos como média ± desvio padrão de determinações em triplicata.

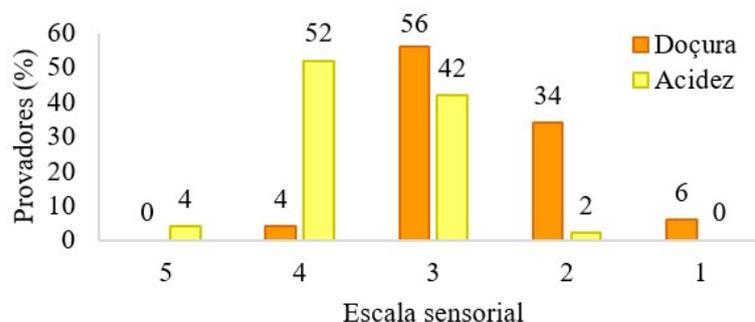
De acordo com os resultados químicos, físicos e físico-químicos (Tabela 3), a adição de xarope de yacon ao iogurte diminuiu a luminosidade (reduziu o valor de L^* quando comparado ao controle) e conferiu uma cor amarelo-esverdeada ao iogurte (aumentando os

valores de a^* e b^*). Sanz *et al.* (2008) avaliaram o efeito do método de extração de fibras sobre as propriedades reológicas, a cor e a aceitação sensorial de iogurte enriquecido com fibra funcional de espargos. Os autores concluíram que a fibra alterou os valores de L^* , a^* e b^* do iogurte, que também variou dependendo do método de extração e secagem, sendo mais colorido os iogurtes com fibras extraídas pela água. Dello Staffolo *et al.* (2004), adicionando fibra de maçã ao iogurte, mostraram diferenças de cor em relação ao controle. Os autores concluíram que as fibras modificaram certas características reológicas do iogurte, no entanto, os participantes consideraram aceitáveis os iogurtes suplementados.

Com o objetivo de determinar se as diferenças de cor entre os iogurtes que foram registrados em instrumentos de medição podem ser percebidas pelo olho humano, o parâmetro ΔE^* foi calculado, com os parâmetros de cor do iogurte controle (sem fibra adicionada) como ponto de referência. O iogurte adicionado de xarope de yacon apresentou maiores valores de ΔE^* do que o controle, o que indica que o olho humano o diferencia mais claramente do restante do iogurte branco [valores de $\Delta E^* \leq 3$ indicam diferenças evidentes para o olho humano] (FRANCIS; CLYDESDALE, 1975). Este comportamento de cor era esperado porque o iogurte com este tipo de fibra difere mais marcadamente do iogurte branco em termos de parâmetros L^* , a^* e b^* .

As mudanças causadas pela adição de xarope de yacon no pH e na acidez titulável, além do aumento de açúcares totais e açúcares redutores, foram um resultado esperado, considerando as características do xarope de yacon (Tabela 1). Assim, os resultados da aceitação sensorial (Figura 3) mostraram que o iogurte adicionado de xarope de yacon apresenta 56% e 42% dos valores localizados "escala ideal" de doçura e acidez, respectivamente.

Figura 3 – Distribuição percentual da doçura e acidez (5 = muito mais do que o ideal, 3 = ideal e 1 = muito menos do que o ideal) do iogurte adicionado de xarope de yacon



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

4.3.3 Efeito do xarope de yacon na saciedade em voluntários saudáveis

A ingestão total de fibra dietética, energia e de macronutrientes (proteína, carboidrato, gordura) durante o café da manhã no final do período de 15 dias (Teste A) foram equivalentes para ambos os grupos (xarope de yacon e placebo - G1 e G2, respectivamente) e são apresentados na Tabela 5. Para o Teste B, o café da manhã foi semelhante para todos os participantes, de acordo com o descrito no item 4.2.5.2.

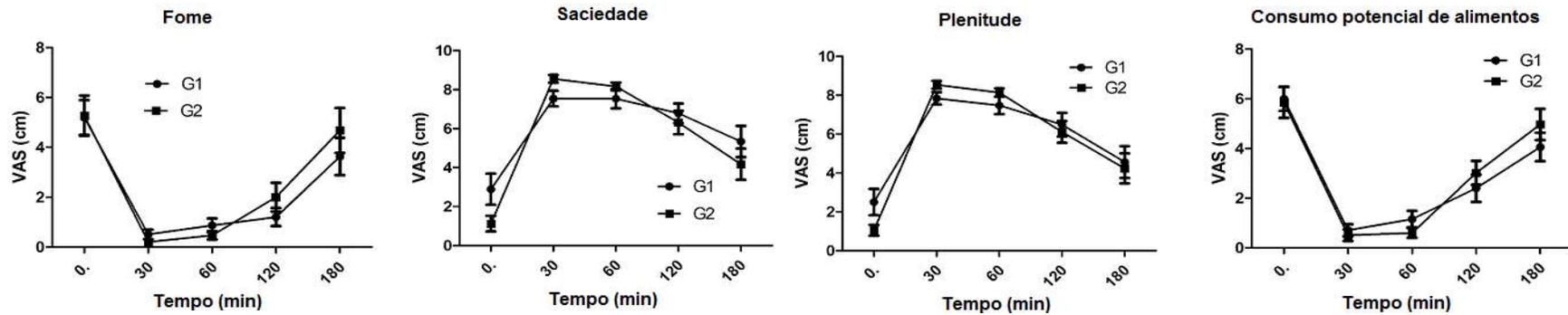
Tabela 5 – Comparação dos tratamentos (placebo e xarope de yacon) para o teste A (intervenção de 15 dias, e uma refeição *buffet* de livre escolha)

Ingestão dietética	Placebo (n = 10)	Yacon (n = 10)	P-valor*
Energia, kcal/dia	581,0 ± 218,2	603,6 ± 282,1	0,844
Proteínas, % energia	16,5 ± 4,2	14,1 ± 6,2	0,327
Carboidratos, % energia	52,0 ± 12,7	54,8 ± 16,0	0,681
Lipídios totais, % energia	31,5 ± 9,2	31,1 ± 11,3	0,926
Fibra dietética, g/dia	4,5 ± 1,7	3,7 ± 1,4	0,265

Resultados são expressos como média ± desvio padrão de determinações em duplicata. *Teste de Student.

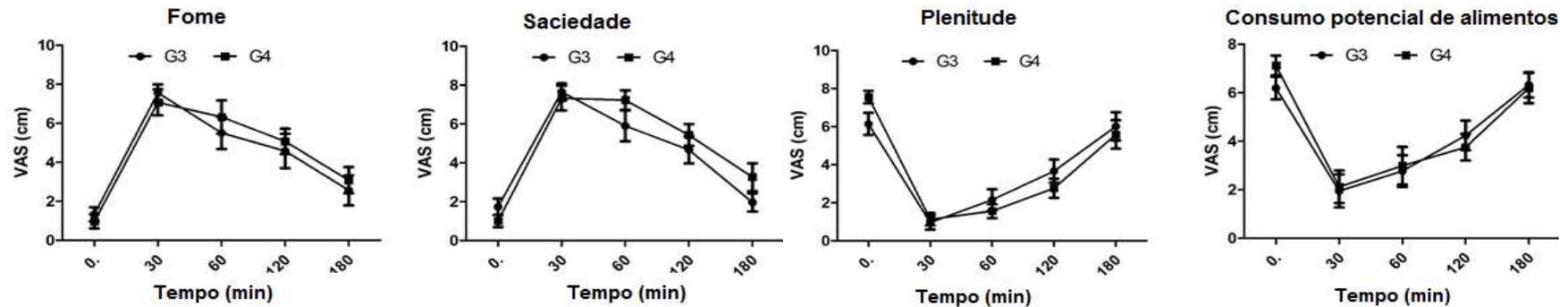
As figuras 4 e 5 mostraram não haver diferenças estatísticas ($P > 0,05$) para a fome, a saciedade, a plenitude e o consumo potencial de alimentos depois do período de curto prazo (Teste B) ou do período de intervenção de 15 dias com xarope de yacon (Teste A).

Figura 4 – Variação dos parâmetros “fome”, “saciedade”, “plenitude” e “consumo potencial de alimentos” no jejum (T0) e após o consumo de café da manhã com xarope de yacon (G1) ou placebo (G2) (T30, T60, T120 e T180 min) depois do período de intervenção de 15 dias de xarope de yacon (G1) e de controle (G2), em voluntários saudáveis (n = 20). Utilizando ANOVA, o modelo de medidas repetidas foi usado para a variável e os resultados são expressos como a média e o erro padrão da média. Fome: efeito do tratamento, $P = 0,497$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,607$. Saciedade: efeito do tratamento, $P = 0,372$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,063$. Plenitude: efeito do tratamento, $P = 0,639$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,251$. Consumo potencial de alimentos: efeito do tratamento, $P = 0,672$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,476$



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

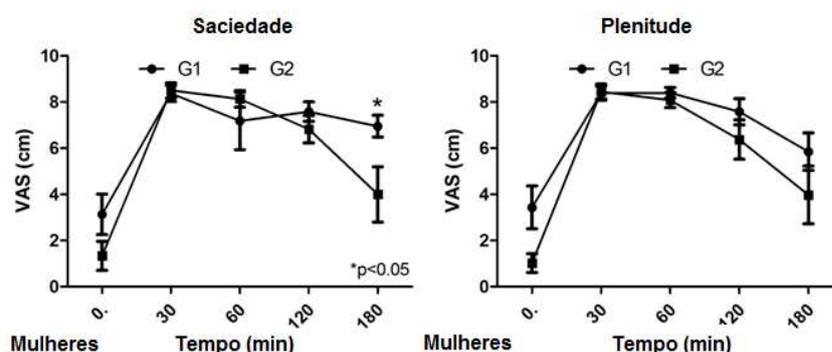
Figura 5 – Variação dos parâmetros de “fome”, “saciedade”, “plenitude” e “consumo potencial de alimentos” no jejum (T0) e após o consumo de café da manhã (T30, T60, T120 e T180 min) depois do consumo de xarope de yacon (G3) e placebo (G4), em voluntários saudáveis (n = 10). Utilizando ANOVA, o modelo de medidas repetidas foi usado para a variável e os resultados são expressos como a média e o erro padrão da média. Fome: efeito de tratamento, $P = 0,846$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,222$. Saciedade: efeito do tratamento, $P = 0,200$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,254$. Plenitude: efeito de tratamento, $P = 0,646$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,826$. Consumo potencial de alimentos: efeito do tratamento, $P = 0,715$; efeito do tempo, $P < 0,001$; efeito da interação do tempo de tratamento, $P = 0,825$



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

Após a estratificação por sexo, não foram encontradas diferenças estatísticas ($P > 0,05$) em todos os parâmetros testados para o teste B. No entanto, o perfil oposto foi observado para o teste A. Entre as mulheres, a variação da "saciedade" observou o efeito do tratamento ($P = 0,059$) e diferença no tempo T180 ($P < 0,05$) e efeito do tratamento ($P = 0,010$) em "plenitude" (Figura 6).

Figura 6 – Variação dos parâmetros de "saciedade" e "plenitude" no jejum (T0) e após o consumo de café da manhã (T30, T60, T120 e T180 min) depois do período de intervenção de 15 dias de xarope de yacon (G1) e controle (G2), em mulheres saudáveis ($n = 10$)



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

Estes resultados sugerem que a capacidade do xarope de yacon para afetar a saciedade pode não ser imediata, e é dependente do gênero. As diferenças de gênero nas respostas de saciedade foram observadas em estudos anteriores. Cornier *et al.* (2010) sugeriram que as mulheres teriam uma resposta prefrontal e parietal mais robusta a sugestões visuais alimentares do que os homens e também teriam maior sensibilidade a respostas de fome e saciedade ao comer do que os homens, resultando na capacidade de manter melhor o equilíbrio energético durante um regime de dieta "à vontade". Além disso, Scudine *et al.* (2016) mostraram diferenças no comportamento mastigatório entre homens e mulheres. Os autores mostraram que os homens têm menor tempo de mastigação e menos movimento de mastigação do que as mulheres, mostrando sua relação com a saciedade, que é maior nas mulheres.

As diferenças no consumo de fibras a curto e longo prazo em respostas de saciedade foram relatadas em estudos anteriores. Em intervenções humanas, um estudo piloto de 10 indivíduos saudáveis que consumiram FOS (16 g/dia no total) duas vezes ao dia, durante 15 dias, relatou aumento da saciedade após o café da manhã e o jantar, quando comparado ao placebo (CANI *et al.*, 2006). No entanto, consistente com os resultados encontrados, indivíduos que consumiram FOS (8 g) em uma barra de substituição de refeições por dois dias, uma ou duas vezes por dia, não afetaram o apetite de curto prazo (PETERS *et al.*, 2009).

O hipotálamo é a estrutura do sistema nervoso responsável pelo controle da ingestão alimentar (regulação a curto prazo da fome e da saciedade) e peso corporal (regulação a longo prazo). Recebe muitos sinais sob a forma de hormônios como a grelina que estimula a fome, e adrenalina, insulina, colecistoquinina, leptina e proteína PYY que estimula a saciação e/ou a saciedade (GIUNTINI *et al.*, 2015). Shi e Clegg (2009) revisaram as diferenças sexuais de regulação do peso corporal de humanos. Os autores mostraram diferenças na forma como os cérebros do sexo feminino e do sexo masculino respondem aos sinais que regulam a gordura corporal, e revelaram que os níveis de leptina são mais elevados nas fêmeas em comparação com os machos. Carroll *et al.* (2007) avaliaram o efeito do gênero nas respostas hormonais pós-prandiais e concluíram que os homens tiveram um declínio pós-prandial ligeiramente maior na leptina em comparação com as mulheres.

Assim, estes resultados são fundamentados por uma série de estudos que indicam que FOS têm um efeito sobre o apetite que é mais suscetível de ser detectado em mulheres e dentro de um estudo de maior duração. Essas conclusões sugerem que o aumento da ingestão total de fibras pode ajudar a aumentar a saciedade, especialmente nas mulheres e, conseqüentemente, ser útil no manejo da diabetes tipo 2 (FERNÁNDEZ *et al.*, 2013) ou no controle da atual prevalência elevada de obesidade e sobrepeso (CANI *et al.*, 2006). No entanto, esses resultados devem ser confirmados por estudos mais longos (> 15 dias) e avaliados em indivíduos com sobrepeso, obesidade e diabetes tipo 2.

4.4 Conclusões

Os resultados deste estudo demonstram que o xarope de yacon pode ser consumido como um único alimento ou como ingrediente de outro alimento, como o iogurte, de acordo com as observações realizadas no grupo focal. Além disso, o iogurte suplementado com o xarope de yacon apresentou boa aceitação sensorial e intenção de compra positiva. Após uma intervenção a médio prazo do xarope de yacon em voluntários saudáveis, os resultados mostraram diferenças importantes baseados no sexo nas respostas do apetite aos alimentos. Além disso, o efeito não foi observado em uma intervenção de curto prazo.

REFERÊNCIAS

- AMIN, T.; MERCER, J. G. Hunger and satiety mechanisms and their potential exploitation in the regulation of food intake. **Current Obesity Reports**, v. 5, n. 1, p. 106-112, Mar. 2016.
- ANDREWS, W. H.; JACOBSON, A.; HAMMACK, T. *Salmonella*. In: United States Food Drug Administration (Ed.). **Bacteriological Analytical Manual Online**. 8 ed. Rockville: FDA, 2014. Chap. 5. Available at: [http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory Methods/ucm070149.htm](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm)>. Accessed 15 Mar. 2017.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry International**. 18. ed. Gaithersburg: Associations of Official Analytical Chemists, 2005. 1015 p.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 17. ed. Arlington: AOAC Inc., 2000. v. 1 e v. 2.
- BAYMA, A. B. *et al.* Desenvolvimento do perfil sensorial de méis silvestres de *Apis mellifera* (africanizada) do Estado do Maranhão. **Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, v. 30, n. 1, p. 00-00, jan./jun. 2010.
- BEUCHAT, L. R. *et al.* Low-water activity foods: increased concern as vehicles of foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 1, p. 150-172, Jan. 2013.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Resolução – RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, nº 251, 26 de dezembro de 2003, Seção 1, p. 28.
- CANI, P. D. *et al.* Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 5, p. 567-572, May 2006.
- CARROLL, J. F. *et al.* Influence of BMI and gender on postprandial hormone responses. **Obesity**, v. 15, n. 12, p. 2974-2983, Dec. 2007.
- CASTRO, A. *et al.* Dietary fiber, fructooligosaccharides, and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 392-400, Jan. 2013.
- CASTRO, A.; VILAPLANA, F.; NILSSON, L. Characterization of a water soluble, hyperbranched arabinogalactan from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots. **Food Chemistry**, v. 223, p. 76-81, May 2017.
- CLARK, M. J.; SLAVIN, J. L. The effect of fiber on satiety and food intake: a systematic review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 32, n. 3, p. 200-211, Jul. 2013.
- CORNIER, M.-A. *et al.* Sex-based differences in the behavioral and neuronal responses to food. **Physiology & Behavior**, v. 99, n. 4, p. 538-543, Mar. 2010.

DELGADO, G. T. C. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)-derived fructooligosaccharides improves the immune parameters in the mouse. **Nutrition Research**, v. 32, n. 11, p. 884-892, Nov. 2012.

DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R. Grupo de foco. In: MINIM, V.P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. p. 85-109.

DELLO STAFFOLO, M. *et al.* Influence of dietary fibre addition on sensory and rheological properties of yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 14, n. 3, p. 263-268, Mar. 2004.

DIONÍSIO, A. P. *et al.* **Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): obtenção de extrato com manutenção das propriedades nutricionais e inativação de enzimas de escurecimento**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 206).

DIONÍSIO, A. P. *et al.* Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) functional beverage improve the diabetic state in rats. **Food Research International**, v. 77, Part 2, p. 171-176, Nov. 2015.

FENG, P. *et al.* Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. In: United States Food Drug Administration (Ed.). **Bacteriological Analytical Manual Online**. 8th ed. Rockville: FDA, 2013. Chap. 4. Available at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>. Accessed 15 Mar. 2017.

FERNÁNDEZ, E. C. *et al.* Impact of yacon landraces cultivated in the Czech Republic and their ploidy on the short-and long-chain fructooligosaccharides content in tuberous roots. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 80-86, Nov. 2013.

FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. **Food colorimetry: theory and applications**. AVI Publishing Co. Inc., 1975.

GARCÍA-QUIROGA, M. *et al.* Kiwifruit in syrup: consumer acceptance, purchase intention and influence of processing and storage time on physicochemical and sensory characteristics. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 11, p. 2268-2278, Nov. 2015.

GENTA, S. *et al.* Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 2, p. 1-6, Apr. 2009.

GEYER, M. *et al.* Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. **Digestion**, v. 78, n. 1, p. 30-33, Nov. 2008.

GIUNTINI, E. B. *et al.* Positive impact of a functional ingredient on hunger and satiety after ingestion of two meals with different characteristics. **Food Research International**, v. 76, Part 3, p. 395-401, Oct. 2015.

GRABITSKE, H. A.; SLAVIN, J. L. Gastrointestinal effects of low-digestible carbohydrates. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 49, n. 4, p. 327-360, Apr. 2009.

HORWITZ, W.; LATIMER, J. R.; GEORGE, W. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 18. ed. Gaithersburg: AOAC, , 2005. p. 96-98 (Chapter 45, met. 999.03).

LACHMAN, J.; FERNÁNDEZ, E. C.; ORSÁK, M. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. **Plant Soil Environmental**, v. 49, n. 6, p. 283-290, Jun. 2003.

MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A.; HERMANN, M. **Yacon syrup**: principles and processing. Series: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: una década de investigación para el desarrollo (1993–2003), N° 8B, International Potato Center, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Erbacher Foundation Swiss Agency for Development and Cooperation, Lima, Perú, 31 pp, 2005.

MARCAZZAN, G. L. *et al.* Sensory profile research on the main Italian typologies of monofloral honey: possible developments and applications. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 4, p. 426-437, Apr. 2014.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 5. ed. Boca Raton: CRC Press, 2015. 600 p.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Biochemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O.; TAYLOR, S. J. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 74, n. 2, p. 209-215, Jun. 1997.

PETERS, H. P. *et al.* No effect of added β -glucan or of fructooligosaccharide on appetite or energy intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, n. 1, p. 58-63, Jan. 2009.

RABEN, A.; TAGLIABUE, A.; ASTRUP, A. The reproducibility of subjective appetite scores. **British Journal of Nutrition**, v. 73, n. 04, p. 517-530, May 1995.

RUSSO, D. *et al.* Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 17696-17718, Jul. 2015.

SANZ, T. *et al.* Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 5, p. 1515-1521, Sep. 2008.

SCUDINE, K. G. O. *et al.* Assessment of the differences in masticatory behavior between male and female adolescents. **Physiology & Behavior**, v. 163, p. 115-122, Sep. 2016.

SHI, H.; CLEGG, D. J. Sex differences in the regulation of body weight. **Physiology & Behavior**, v. 97, n. 2, p. 199-204, May 2009.

TAKENAKA, M. *et al.* Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 793-796, Jan. 2003.

TOMIC, N. *et al.* Enrichment of yoghurt with insoluble dietary fiber from triticale—A sensory perspective. **LWT-Food Science and Technology**, v. 80, p. 59-66, Jul. 2017.

TOURNAS, V. *et al.* Yeasts, molds and mycotoxins. In: United States Food Drug Administration (Ed.). **Bacteriological Analytical Manual Online**. 8th Ed. Rockville: FDA, 2001. Chap. 18. Available at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>>. Accessed 15 Mar. 2017.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO Consultation on Obesity**, Geneva, 3-5 June 1997. Geneva: world Health Organization; 1998.

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, Jul. 1954.

CAPÍTULO 5: EFEITO DO XAROPE DE YACON NO APETITE E NO PERFIL GLICÊMICO, LIPÍDICO E INFLAMATÓRIO: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO CONTROLADO

RESUMO

Os frutooligossacarídeos (FOS) presentes no yacon caracterizam-se como componentes com efeito prebiótico. A utilização de prebióticos pode restaurar o equilíbrio da microbiota intestinal, afetando positivamente o metabolismo do hospedeiro. Esse estudo piloto objetivou avaliar o impacto do consumo de xarope de yacon no metabolismo glicêmico, lipídico e inflamatório e no apetite de indivíduos saudáveis. Trinta indivíduos saudáveis de ambos os sexos foram randomizados em 2 grupos que consumiram 40 g de produto durante 15 dias: xarope de yacon (8,74 g de FOS, n = 15) ou placebo (xarope de milho, n = 15). Foram realizadas avaliações antropométricas, efeitos gastrointestinais, perfil glicêmico e lipídico, e biomarcadores de inflamação e apetite no início e no fim do estudo. Os resultados mostraram que o perfil glicêmico e lipídico foram semelhantes entre os grupos antes e depois da intervenção, ocorrendo também um discreto aumento no hormônio relacionado com a saciedade, *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), embora não tenha ocorrido efeito significativo do consumo de xarope de yacon. Quanto ao trânsito gastrointestinal, alguns participantes relataram melhora com o consumo de xarope de yacon. Possivelmente, o tempo de estudo (15 dias) não foi suficiente para revelar modulação da microbiota intestinal, sugerindo que são necessários ensaios de duração mais prolongada que avaliem a microbiota intestinal, além de explorar seu potencial prebiótico e anti-inflamatório em mais detalhes.

Palavras-chave: Prebióticos. Metabolismo. Desordens metabólicas. Ensaio clínico.

ABSTRACT

Fructooligosaccharides present in the yacon are characterized as components with prebiotic effect. The use of prebiotics can restore the balance of the intestinal microbiota, positively affecting the metabolism of the host. This pilot study aimed to evaluate the impact of yacon syrup consumption on appetite and on glycemic, lipid and inflammatory metabolism in healthy subjects. 30 healthy subjects of both sexes were randomized into 2 groups consuming 40 g of product for 15 days: yacon syrup (8.74 g FOS, n = 15) or placebo (corn syrup, n = 15). Anthropometric assessments, gastrointestinal effects, glycemic and lipid profile, and biomarkers of inflammation and appetite were performed at the beginning and at the end of the study. The results showed that the glycemic and lipid profile were similar between the groups before and after the intervention, and there was also a slight increase in the satiety related hormone, *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), although there was no significant effect of the consumption of yacon syrup. Regarding gastrointestinal transit, some participants reported improvement with the consumption of yacon syrup. Possibly, the study time (15 days) was not sufficient to reveal intestinal microbiota modulation, suggesting that longer duration assays that evaluate the intestinal microbiota, as well as exploring its prebiotic and anti-inflammatory potential are needed in more detail.

Key words: Prebiotics. Metabolism. Metabolic disorders. Clinical trial.

5.1 Introdução

As raízes de yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] são amplamente cultivadas em países andinos e em diversos outros países, como o Brasil, e atraíram interesse recente devido aos seus efeitos antioxidantes e prebióticos (CASTRO; VILAPLANA; NILSSON, 2017). Armazenam seus carboidratos sob a forma de β -1,2-fruooligossacarídeos (FOS), que são capazes de resistir à hidrólise de enzimas da parte superior do trato gastrointestinal (DELGADO *et al.*, 2013).

Os FOS são seletivamente degradados no cólon por bactérias probióticas, resultando em modulação da microbiota e geração de metabólitos bioativos ou ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que são responsáveis por diversas funções, especialmente a modulação da concentração sérica de colesterol e dos níveis séricos de triglicerídeos (BIBAS BONET *et al.*, 2010; GENTA *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2016), além de ação hipoglicemiante (SCHEID *et al.*, 2014), hepatoprotetora (OLIVEIRA; BRAGA; FERNANDES, 2013), aumento no trânsito intestinal (GEYER *et al.*, 2008) e redução da insulina (GENTA *et al.*, 2009).

Uma maior produção intestinal de AGCC está associada ao aumento da saciedade e conseqüente redução da ingestão de alimentos, estando esses efeitos relacionados ao aumento do *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), que, em conjunto com a redução da grelina, ocasionam efeitos hipotalâmicos relacionados ao mecanismo de recompensa, pois a estimulação do hormônio GLP-1 melhora a resposta glicêmica e insulinêmica, exercendo um papel importante na redução do peso (GIBBONS *et al.*, 2013).

Revisão sistemática realizada por Kellow, Coughlan e Reid (2014) com 26 ensaios clínicos randomizados e 831 participantes avaliou os efeitos da suplementação de prebióticos na dieta sobre parâmetros bioquímicos associados ao desenvolvimento de anormalidades metabólicas. Entretanto, apenas um desses estudos foi realizado com xarope de yacon, como fonte de prebióticos, em mulheres obesas em período pré-menopáusico. Os resultados apontaram um aumento da saciedade auto relatada, além de intervenção no metabolismo da glicose, reduzindo significativamente a concentração pós-prandial de glicose e insulina. Os autores também reportaram uma redução significativa do peso corporal, circunferência da cintura e índice de massa corporal e aumento significativo da frequência de evacuações e da sensação de saciedade (GENTA *et al.*, 2009).

Geyer *et al.* (2008) investigaram os efeitos do xarope de yacon no tempo de trânsito do cólon em voluntários saudáveis e observaram que o xarope de yacon acelerou acentuadamente o trânsito colônico.

Pode-se observar que há evidências que relacionam o consumo de prebióticos com efeitos benéficos em humanos. Todavia, o entendimento da relação de prebióticos com apetite e no perfil glicêmico, lipídico e inflamatório ainda é escasso, mas de fundamental importância para a regulação metabólica. O yacon é uma excelente fonte desses compostos, e a sua concentração através de processos tecnológicos adequados e otimizados, torna-se uma alternativa mais prática para o consumo humano na forma de um xarope. Com isso, esse estudo piloto teve como objetivo avaliar o impacto do consumo de xarope de yacon no metabolismo glicêmico, lipídico e inflamatório e no apetite em indivíduos saudáveis.

5.2 Material e métodos

5.2.1 População e delineamento

Trata-se de um estudo piloto que avaliou o efeito do consumo de xarope yacon por 15 dias por meio de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. O plano de randomização foi realizado pelo site <http://www.randomization.com>. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará (UECE) (nº 56094516.4.0000.5534), de acordo com as normas do Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde (CONEP/MS) (ANEXO A). Todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes da intervenção. Constituíram critérios de inclusão no estudo: ambos os sexos; ter entre 20 a 59 anos; não apresentar doenças crônicas autodeclaradas; ter índice de massa corporal maior que 18,5 kg m⁻²; não estar em uso atual e nos últimos 30 dias de medicamentos hipoglicemiantes, hipolipemiente e anti-inflamatório; não participar de outro ensaio clínico; não apresentar consumo atual e nos últimos 30 dias de suplemento de fibras e frutooligossacarídeos. Constituíram critérios de exclusão no estudo: gravidez; fumante atual ou nos últimos 30 dias; consumo de etanol diário superior a 30 g para homens e 15 g para mulheres; uso de medicamentos hipoglicemiantes, hipolipemiente, antibióticos e anti-inflamatório durante a intervenção.

5.2.2 Elaboração dos produtos

O xarope de yacon foi produzido em planta piloto de processamento de alimentos (Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará - Brasil). As raízes de yacon foram processadas para obtenção da polpa e, após o tratamento ácido do yacon (DIONÍSIO *et al.*,

2013), a polpa foi extraída e tratada com Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L (500 mg L⁻¹ de cada enzima, a 45 °C, 175 rpm, durante 120 minutos), e filtrada em sistema de microfiltração. Assim, o suco clarificado foi concentrado a 71 °Brix sob vácuo (560 mmHg) e temperatura de 60 ± 5 °C durante 4 horas. O xarope foi dividido em sachês de 40 g (correspondentes a 8,74 g de FOS, 71,74 kcal ou 300,30 kJ), armazenadas a 5 °C para uso posterior. Para o placebo, utilizou-se alimento à base de glicose (40 g de xarope de milho, 71 °Brix, acidificado com 0,1% de ácido cítrico e 0,018% de corante caramelo).

5.2.3 Coleta de dados e análises bioquímicas

Foram selecionados 32 voluntários que foram randomizados em dois grupos (xarope de yacon e placebo). Apenas 2 indivíduos, sendo um do grupo xarope de yacon e outro do grupo placebo não completaram os 15 dias de intervenção. Finalizaram o estudo 30 voluntários, distribuídos nos grupos xarope de yacon (n = 15) e placebo (n = 15). Os voluntários consumiram, diariamente, 40 g de xarope de yacon ou 40 g de placebo (Figura 1) no período da manhã, *in natura* ou em alimentos habitualmente consumidos. Os voluntários foram orientados a não modificação de hábitos alimentares e estilo de vida durante a intervenção.

Figura 1 – Sachês (porções de 40 g) de xarope utilizados durante o estudo



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

5.2.4 Avaliações demográficas e antropométricas

No início do estudo, todos os voluntários foram entrevistados por um formulário estruturado, contendo dados referentes a: sexo, idade, raça (auto referida) e estado de saúde. Para avaliação do peso corporal, foi utilizada uma balança digital (Tanita®, modelo HD-313, Arlington Heights, IL, EUA) tipo plataforma, com capacidade para 150 kg, sensibilidade de 100 gramas. Os indivíduos foram pesados com roupas leves e descalços, foram posicionados

em postura ereta, com os pés inteiramente compreendidos na plataforma da balança, de forma paralela, com braços ao longo do corpo e olhar no horizonte. Para a aferição da altura foi utilizado um estadiômetro (Seca[®], modelo bodymeter 208, São Paulo, SP, Brasil) com escala em milímetros, a ser fixado na parede. A medida da circunferência da cintura foi realizada com a fita métrica posicionada sobre o ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca do indivíduo em pé, com a leitura feita no momento da expiração. Estes dados foram coletados por pesquisadores de campo previamente treinados no início e no final do estudo. Peso e altura foram utilizados para calcular o índice de massa corporal (IMC, kg m^{-2}), e assim como a circunferência da cintura (CC, cm) e quadril para cálculo da relação cintura-quadril (RCQ).

5.2.5 Coleta de sangue

A coleta da amostra de sangue foi realizada com agendamento prévio de acordo com a disponibilidade dos participantes. A coleta foi realizada por profissional capacitado (técnico de enfermagem) e em local reservado e equipado de modo a conferir segurança biológica ao indivíduo doador e coletor. Foram coletados, aproximadamente, 15 mL de material sanguíneo em tubos secos, EDTA (ácido etileno-diamino-tetraacético) e fluoreto por meio de punção venosa em jejum de 12 horas. Os tubos foram armazenados em isopor com gelo reciclável e transportados ao laboratório; onde foram centrifugados e processados em alíquotas de soro e plasma. Todas as alíquotas de soro e plasma para as determinações bioquímicas foram congeladas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.

5.2.6 Perfil glicêmico e lipídico

Foram analisadas as concentrações de colesterol total e triacilglicerol, colesterol na HDL no soro por métodos colorimétricos enzimáticos e glicemia de jejum em tudo de fluoreto por método UV enzimático (Hexoquinase). O conteúdo de colesterol associado à LDL foi estimado por meio de fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). A dosagem plasmática de insulina no soro foi realizada por método quimioluminescência. A apolipoproteínas B (Apo-B100) foi determinada por método imunoenensaio turbidimétrico (Autokits APOB100, Randox Chemicals USA Inc.; Richmond, VA, USA).

5.2.7 Biomarcadores de apetite e inflamação

Kits comerciais por *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) foram utilizados para avaliação de biomarcadores do apetite, como *glucagon-like peptide-1* - GLP-1 (MyBioSource) e grelina (MyBioSource) dosados no soro antes e após a intervenção. Foram dosados também biomarcadores inflamatórios, como lipopolysaccharides - LPS (MyBioSource) e proteína C-reativa ultrasensível (Imuno-turbidimétrico).

5.2.8 Avaliação dos efeitos gastrointestinais

Foi mantido um livro de ocorrências para anotação de efeitos colaterais relatados pelos participantes com o uso do xarope de yacon ou do placebo (náuseas, diarreia, etc.). O desconforto antes e após a intervenção foi avaliado pela presença de flatulência, dor abdominal e distensão. Alterações relacionadas à constipação foram avaliadas através de escala de constipação (pontuação mínima: 0; pontuação máxima: 30), segundo questionário proposto por Agachan *et al.* (1996) (ANEXO C).

5.2.9 Análise de dados

Foi realizada uma análise de intenção-de-tratar. Testes como *t* de Student e qui-quadrado foram utilizados para analisar diferenças entre os grupos de intervenção. Foram apresentadas as médias das diferenças entre os grupos de intervenção com seus intervalos de confiança de 95%, após análise de covariância (ANCOVA). Todas as análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico SPSS versão 20.0, com nível descritivo de teste de 0,05.

5.3 Resultados e discussão

A tabela 1 contém as características demográficas e variáveis laboratoriais que formaram os grupos analisados. No grupo estudado, a maioria era do sexo feminino e da raça autodeclarada branca ($n = 21$, 67,7%), 87,1% relataram ter estado de saúde muito bom/bom e tinha média de idade de $40,9 \pm 8,3$ anos. Os grupos xarope de yacon e placebo não diferiram entre si nas variáveis demográficas e bioquímicas basais.

Tabela 1 – Características pré-tratamento dos voluntários programados para participar do estudo

Variáveis [‡]	Xarope de yacon (n = 15)	Placebo (n = 15)	p [*]
Idade (anos)	41,7 ± 8,9	40,1 ± 8,0	0,585
Sexo feminino (%)**	10 (66,7%)	11 (68,8)	1,000
Raça autodeclarada branca (%)**	11 (80,0%)	9 (56,2)	0,252
Peso (kg)	69,1 ± 14,0	71,2 ± 16,4	0,712
CC (cm)	82,9 ± 8,2	82,9 ± 11,7	0,999
IMC (kg m ⁻²)	25,3 ± 3,3	25,0 ± 4,8	0,834
RCQ	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,741
Glicose (mg dL ⁻¹)	85 ± 6	84 ± 7	0,694
Insulina (μU mL ⁻¹)	9,2 ± 4,6	7,8 ± 3,6	0,337
Colesterol total (mg dL ⁻¹)	192 ± 27	191 ± 22	0,967
HDL-C (mg dL ⁻¹)	54 ± 13	56 ± 13	0,646
LDL-C (mg dL ⁻¹)	111 ± 21	112 ± 25	0,961
Apo B (mg dL ⁻¹)	93,7 ± 14,9	91,0 ± 16,6	0,633
Triglicérides (mg dL ⁻¹)	132 ± 81	117 ± 60	0,555
GLP-1 (pg mL ⁻¹)	295,6 ± 107,1	276,1 ± 123,1	0,642
Grelina (ng mL ⁻¹)	3,9 ± 1,3	4,9 ± 1,9	0,089
LPS (pg mL ⁻¹)	12,9 ± 4,2	15,3 ± 6,4	0,235
PCR-us (mg dL ⁻¹) [#]	0,13 (0,03-0,41)	0,15 (0,02-1,62)	0,922
Escala de constipação, pontuação [#]	6 (0-17)	5 (0-16)	0,520

*Teste t de Student ou Mann-Whitney. [‡]Resultados são expressos como média ± desvio padrão de determinações em duplicata. [#]Valores expressos em mediana (valores mínimo e máximo). **Expressos em n (%). CC: circunferência da cintura; IMC: índice de massa corporal; RCQ: relação cintura-quadril; LDL-C: *low-density lipoprotein*; HDL-C: *high-density lipoprotein*; Apo B: apolipoproteínas B; GLP-1: *glucagon-like peptide-1*; LPS: lipopolissacarídeos; PCR-us: proteína C-reativa ultrasensível.

O grupo teve média de IMC e CC de 25,2 ± 4,1 kg m⁻² e 82,9 ± 10,0 cm, respectivamente, e 45,2% apresentaram excesso de peso. O consumo de xarope de yacon por um período de 15 dias não foi capaz de afetar a circunferência da cintura (CC), índice de massa corporal (IMC) e relação cintura-quadril (RCQ) (Tabela 2). Não houve diferença na pontuação de escala de constipação entre o xarope de yacon e o grupo placebo ($\beta = -1,14$; $p = 0,252$).

Tabela 2 – Dados clínicos dos indivíduos antes e após 15 dias de tratamento com xarope de yacon ou com placebo

Variáveis antropométricas [#]	Xarope de yacon (n = 15)		Placebo (n = 15)		Diferença média [*]	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Beta	IC 95%
Peso (kg)	69,1 ± 14,0	69,2 ± 14,0	71,2 ± 16,4	71,2 ± 16,4	0,07	-0,26; 0,40
CC (cm)	82,9 ± 8,2	82,3 ± 8,0	82,9 ± 11,7	82,5 ± 12,3	-0,16	-0,98; 0,66
IMC (kg m ⁻²)	25,3 ± 3,3	25,3 ± 3,3	25,0 ± 4,8	25,0 ± 4,8	0,03	-0,08; 0,15
RCQ	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,06	0,8 ± 0,07	-0,01	-0,02; 0,01

[#]Resultados expressos como média ± desvio padrão de determinações em duplicata. ^{*}Regressão linear, valores expressos em coeficiente de regressão e intervalo de confiança de 95% (IC 95%). CC: circunferência da cintura; IMC: índice de massa corporal; RCQ: relação cintura-quadril.

No presente estudo, analisou-se o efeito da suplementação com xarope de yacon sobre as variáveis antropométricas em seres humanos e conforme pode ser observado os valores médios não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) antes e depois da intervenção.

Genta *et al.* (2009), em estudo com mulheres obesas (n = 40) no período pré-menopáusicas, observaram efeito na diminuição significativa do peso corporal, com uma

importante redução na circunferência da cintura e no IMC, não sendo observados esses efeitos no grupo controle (placebo), atribuindo o efeito ao consumo a longo prazo de xarope de yacon (120 dias). Liber e Szajewska (2013), em revisão sistemática sobre os efeitos de frutano tipo inulina no apetite, consumo de energia e peso corporal em crianças e adultos, também sugerem que a administração a longo prazo de frutanos tipo inulina pode contribuir para a redução de peso. Possivelmente, o grupo (n = 15) e o período curto de 15 dias utilizados nesse estudo, não foram suficientes para revelar esses efeitos.

Os prebióticos caracterizam-se como componentes capazes de modular o crescimento de micro-organismos probióticos e influenciar positivamente os seus efeitos sobre o organismo hospedeiro, tendo como principais produtos de fermentação desses micro-organismos no cólon os AGCC. Esses ácidos graxos têm sido relatados com propriedades de aumento da saciedade, com alguns pesquisadores sugerindo que eles podem explicar a associação inversa entre a ingestão de fibra dietética e peso corporal encontrados em alguns estudos observacionais (DARZI; FROST; ROBERTSON, 2011; BYRNE *et al.*, 2015).

O efeito do consumo de yacon no perfil glicêmico (glicose e insulina), lipídico (colesterol total, HDL-C, LDL-C, Apo B e triglicérideo), relacionados ao apetite (GLP-1 e grelina) e perfil inflamatório (LPS e PCR) podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3 – Níveis séricos de glicemia, insulina, lipídios e lipoproteínas e indicadores inflamatórios em jejum antes e após 15 dias de tratamento com xarope de yacon ou com placebo

Variáveis bioquímicas [#]	Xarope de yacon (n = 15)		Placebo (n = 15)		Diferença média [*]	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Beta	IC 95%
Glicose (mg dL ⁻¹)	85,0 ± 6,0	87,0 ± 6,0	84,0 ± 7,0	86,0 ± 7,0	0,43	-2,62; 3,47
Insulina (μU mL ⁻¹)	9,2 ± 4,6	12,3 ± 7,5	7,8 ± 3,6	8,6 ± 4,3	1,90	-0,26; 4,06
Colesterol total (mg dL ⁻¹)	192,0 ± 27,0	189,0 ± 25,0	191,0 ± 21,0	183,0 ± 24,0	6,19	-3,44; 15,82
HDL-C (mg dL ⁻¹)	54,0 ± 13,0	51,0 ± 13,0	56,0 ± 13,0	55,0 ± 11,0	-2,45	-5,17; 0,27
LDL-C (mg dL ⁻¹)	111,0 ± 21,0	115,0 ± 17,0	112,0 ± 25,0	107,0 ± 22,0	6,16	-1,97; 14,29
Apo B (mg dL ⁻¹)	93,7 ± 14,9	93,2 ± 14,5	91,0 ± 16,6	89,7 ± 15,9,0	2,44	-4,27; 9,15
Triglicérideo (mg dL ⁻¹)	132,0 ± 81,0	135,0 ± 96,0	117,0 ± 60,0	102,0 ± 56,0	17,84	-6,96; 42,65
GLP-1 (pg mL ⁻¹)	295,6 ± 107,1	320,2 ± 136,5	276,1 ± 123,1	278,4 ± 108,5	26,97	-37,81; 91,76
Grelina (ng mL ⁻¹)	3,9 ± 1,3	4,3 ± 1,2	4,9 ± 1,9	4,7 ± 1,3	0,03	-0,80; 0,85
LPS (pg mL ⁻¹)	12,9 ± 4,2	15,7 ± 4,9	15,3 ± 6,4	15,3 ± 5,2	1,68	-1,39; 4,75
PCR-us (mg dL ⁻¹)	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,6	0,5 ± 0,7	-0,15	-0,47; 0,17

[#]Resultados expressos como média ± desvio padrão de determinações em duplicata. ^{*}Regressão linear, valores expressos em coeficiente de regressão e intervalo de confiança de 95% (IC 95%). LDL-C: *low-density lipoprotein*; HDL-C: *high-density lipoprotein*; Apo B: apolipoproteínas B; GLP-1: *glucagon-like peptide-1*; LPS: lipopolissacarídeos; PCR-us: proteína C-reativa ultrasensível.

Pela observação dos resultados obtidos, embora não tenha ocorrido efeito significativo do consumo de xarope de yacon podemos perceber que o perfil glicêmico e lipídico foram semelhantes entre os grupos antes e depois da intervenção. Em estudo conduzido por Genta *et al.* (2009), a glicemia de jejum e lipídios séricos também não foram afetados,

sendo o único efeito positivo encontrado em níveis de LDL-colesterol sérico. Neste estudo, a utilização de xarope de yacon não alterou a homeostase da glicose nem o perfil lipídico em indivíduos saudáveis, o que pode ser explicado, em parte, pelo fato de que a glicose inicial e os lipídios de indivíduos saudáveis foram mantidos a um nível normal. Além disso, o período e a dosagem da suplementação podem não ter sido suficientes para que os FOS presentes no xarope de yacon exercessem os seus efeitos.

O hormônio gastrointestinal envolvido com o aumento da fome (grelina) não apresentou redução significativa, ocorrendo apenas um discreto aumento não significativo no hormônio relacionado com a saciedade (GLP-1). O aumento na produção de GLP-1 e redução de grelina estão associados à redução do consumo alimentar com consequente perda de peso (GIBBONS *et al.*, 2013).

Cani *et al.* (2006), em estudo piloto com humanos saudáveis, demonstraram saciedade reforçada e redução no consumo de energia após a suplementação com 8 g FOS duas vezes por dia durante duas semanas. Em contraste, um estudo de indivíduos com sobrepeso consumindo 21 g de FOS por dia durante 12 semanas (PARNELL; REIMER, 2009) demonstrou não haver diferença nos índices de apetite apesar das reduções no consumo de energia e diminuição do peso corporal, sugerindo que a redução do consumo de energia não pode estar associada a percepções subjetivas de maior saciedade (HESS *et al.*, 2011).

Os hormônios grelina e GLP-1 agem na regulação do apetite e são secretados após estímulos neuronais como consequência da distensão do estômago, da absorção de nutrientes e a partir da digestão de alimentos (BEWICK, 2012). Em humanos, o efeito sacietogênico relacionado às intervenções prebióticas (avaliado após 2 semanas a 3 meses de tratamento) está também relacionado ao aumento sacietogênico e/ou à diminuição dos peptídeos orexigênicos (estimulam o apetite e diminuem após alimentação), como a grelina (VERHOEF; MEYER; WESTERTERP, 2011). A produção de AGCC (nomeadamente acetato, propionato) após fermentação prebiótica poderia ser parte do aumento da secreção de peptídeos intestinais pelas células endócrinas (TOLHURST *et al.*, 2012).

O perfil anti-inflamatório representado pelos valores de PCR e LPS não apresentaram efeito estatisticamente significativo. Discretas elevações das concentrações de PCR, mesmo dentro da faixa de referência, podem prever o aparecimento de doenças cardiovasculares e diabetes, sendo a concentração de PCR um preditor específico de risco cardiovascular em indivíduos saudáveis e os seus valores se elevam à medida que o IMC aumenta. O aumento de LPS pode ocorrer por processos que envolvem um aumento na formação de quilomícrons, uma diminuição na integridade da barreira intestinal e/ou uma

diminuição da atividade da fosfatase alcalina, que é a enzima responsável pela clivagem de LPS no intestino (DELZENNE; NEYRINCK; CANI, 2013; TZOUNIS *et al.*, 2011).

Os efeitos positivos de prebióticos sobre biomarcadores inflamatórios podem ser influenciados pelas diferenças de etnia, genótipo, duração do estudo, dosagem, tipo e tempo de suplementação, estado patológico, bem como estado basal do estado inflamatório/anti-inflamatório dos indivíduos (ALIASGHARZADEH *et al.*, 2015).

Os principais produtos do metabolismo do FOS no intestino são AGCC. Os dados apresentados neste estudo demonstram que o xarope de yacon é uma excelente fonte de FOS, embora não tenha ocorrido diferença significativa entre intervenção e placebo nos índices medidos, houve uma manutenção dos mesmos e esses efeitos seriam provavelmente modulados via AGCC produzidos durante a fermentação do FOS no cólon. As alegações de propriedade funcional de um produto podem, ainda, fazer referência à manutenção geral da saúde e à redução do risco de doenças (ANVISA, 2017).

Quanto aos efeitos gastrointestinais do consumo de xarope de yacon, apenas um participante relatou desconforto relacionado a efeitos gastrointestinais adversos (diarreia e flatulência). Quanto ao trânsito gastrointestinal, alguns participantes relataram melhora com o consumo de xarope de yacon. Geyer *et al.* (2008), em um estudo duplo-cego, controlado por placebo, o xarope de yacon foi administrado a 16 indivíduos saudáveis (8 homens e 8 mulheres) em uma dose diária de 20 g (6,4 g FOS) durante 2 semanas, concluíram que o xarope de yacon foi bem tolerado e que não foram observados efeitos secundários graves da sua ingestão.

A partir dos resultados obtidos, foi possível observar também que é importante ajustar a ingestão de FOS/kg de peso corpóreo/dia para cada indivíduo participante com percentual de FOS que favoreça a modulação dos hormônios gastrointestinais, de modo a controlar a ingestão alimentar.

Dessa forma, é importante a continuidade desse estudo e sugere-se avaliar a capacidade de linhagens probióticas em fermentar o xarope de yacon e produzir AGCC, além de analisar outros hormônios gastrointestinais, parâmetros inflamatórios e oxidativos, a fim de obter mais estudos para amparar a utilização do xarope de yacon, em quantidades adequadas, com voluntários portadores de alguma patologia associada e um tempo maior de estudo, intensificando pesquisas neste contexto.

5.4 Conclusões

Os índices avaliados através dos testes clínicos não revelaram diferenças significativas durante a suplementação com xarope de yacon, possivelmente devido ao tempo do estudo, sugerindo que são necessários ensaios de duração mais prolongada que avaliem o crescimento e a atividade microbiana intestinal. Além disso, indivíduos com sobrepeso, obesidade e diabetes tipo 2 podem ser também avaliados. Estudos adicionais são justificados para explorar seu potencial prebiótico e anti-inflamatório em mais detalhes.

REFERÊNCIAS

- AGACHAN, F. *et al.* A constipation scoring system to simplify evaluation and management of constipated patients. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 39, n. 6, p. 681-685, Jun. 1996.
- ALIASGHARZADEH, A. *et al.* Resistant dextrin, as a prebiotic, improves insulin resistance and inflammation in women with type 2 diabetes: a randomised controlled clinical trial. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 02, p. 321-330, Jan. 2015.
- ANVISA. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Disponível: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acessado em: 15 mar. 2017.
- BEWICK, G. A. Bowels control brain: gut hormones and obesity. **Biochemical Medicine**, v. 22, n. 3, p. 283-297, Oct. 2012.
- BIBAS BONET, M. E. *et al.* Prebiotic effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on intestinal mucosa using a mouse model. **Food and Agricultural Immunology**, v. 21, n. 2, p. 175-189, May 2010.
- BYRNE, C. S. *et al.* The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 9, p. 1331-1338, Sep. 2015.
- CANI, P. D. *et al.* Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 5, p. 567-572, May 2006.
- CASTRO, A.; VILAPLANA, F.; NILSSON, L. Characterization of a water soluble, hyperbranched arabinogalactan from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots. **Food Chemistry**, v. 223, p. 76-81, May 2017.
- DARZI, J.; FROST, G. S.; ROBERTSON, M. D. Do SCFA have a role in appetite regulation? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 70, n. 01, p. 119-128, Feb. 2011.
- DELGADO, G. T. C. *et al.* Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): a functional food. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 222-228, Sep. 2013.
- DELZENNE, N. M.; NEYRINCK, A. M.; CANI, P. D. Gut microbiota and metabolic disorders: how prebiotic can work? **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. S2, p. S81-S85, Jan. 2013.
- DIONÍSIO, A. P. *et al.* **Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): obtenção de extrato com manutenção das propriedades nutricionais e inativação de enzimas de escurecimento.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 206).
- FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, Jun. 1972.
- GENTA, S. *et al.* Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 2, p. 1-6, Apr. 2009.

GEYER, M. *et al.* Effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on colonic transit time in healthy volunteers. **Digestion**, v. 78, n. 1, p. 30-33, Nov. 2008.

GIBBONS, C. *et al.* Comparison of postprandial profiles of ghrelin, active GLP-q, and total PYY to meals varying in fat and carbohydrate and their association with hunger and the phases of satiety. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 98, n. 5, p. E847-E855, May 2013.

HESS, J. R. *et al.* Effects of short-chain fructooligosaccharides on satiety responses in healthy men and women. **Appetite**, v. 56, n. 1, p. 128-134, Feb. 2011.

KELLOW, N. J.; COUGHLAN, M. T.; REID, C. M. Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: a systematic review of randomised controlled trials. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 7, p. 1147-1161, Apr. 2014.

LIBER, A.; SZAJEWSKA, H. Effects of inulin-type fructans on appetite, energy intake, and body weight in children and adults: systematic review of randomized controlled trials. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 63, n. 1-2, p. 42-54, Oct. 2013.

LIU, F. *et al.* Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 1, p. 9-20, Jan. 2016.

OLIVEIRA, G. O.; BRAGA, C. P.; FERNANDES, A. A. H. Improvement of biochemical parameters in type 1 diabetic rats after the roots aqueous extract of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.)] treatment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 256-260, Sep. 2013.

PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, n. 6, p. 1751-1759, Jun. 2009.

SCHEID, M. M. A. *et al.* Freeze-dried powdered yacon: effects of FOS on serum glucose, lipids and intestinal transit in the elderly. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 7, p. 1457-1464, Oct. 2014.

TOLHURST, G. *et al.* Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. **Diabetes**, v. 61, n. 2, p. 364-371, Feb. 2012.

TZOUNIS, X. *et al.* Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, n. 1, p. 62-72, Jan. 2011.

VERHOEF, S. P.; MEYER, D.; WESTERTERP, K. R. Effects of oligofructose on appetite profile, glucagon-like peptide 1 and peptide YY3-36 concentrations and energy intake. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. 11, p. 1757-1762, Dec. 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O uso de enzimas pectinolíticas e celulolíticas na clarificação do suco de yacon elevou o fluxo de permeado em cerca de 40% na etapa de microfiltração, comparando com o controle sem tratamento enzimático. Além da obtenção de um material límpido com baixa turbidez, ocorreu a manutenção dos compostos bioativos de interesse (frutooligossacarídeos e ácido clorogênico).
- O xarope de yacon apresentou uma composição diversificada, com destaque para o seu elevado conteúdo de frutooligossacarídeos e ácido clorogênico, além de apresentar aminoácidos essenciais (triptofano, valina e treonina), e diversos compostos fenólicos com potencial antioxidante. O processo tecnológico proposto não degradou os componentes funcionais do yacon, levando à uma concentração destes componentes ao final do processo, revelando o xarope de yacon como um produto diferenciado do ponto de vista nutricional e funcional.
- O xarope de yacon pode ser consumido como um único alimento ou como ingrediente de outro alimento, como o iogurte, de acordo com os resultados das análises sensoriais. Após uma intervenção a médio prazo do xarope de yacon em voluntários saudáveis, ocorreram diferenças importantes baseados no sexo nas respostas subjetivas do apetite aos alimentos.
- Para o ensaio clínico, os índices avaliados em indivíduos saudáveis foram mantidos a um nível normal. Possivelmente, o tempo de estudo (15 dias) não foi suficiente para modular a microbiota intestinal e revelar os efeitos prebióticos sugerindo que são necessários ensaios de duração mais prolongada que avaliem a microbiota intestinal, além de explorar seu potencial prebiótico e anti-inflamatório em mais detalhes.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas futuras, tem-se que:

- Avaliar a estabilidade microbiológica e dos componentes bioativos do xarope de yacon frente ao armazenamento prolongado;
- Realizar ensaios clínicos ampliando o tempo de duração, o número de voluntários envolvidos e as concentrações do xarope de yacon;
- Avaliar o uso do xarope em indivíduos com condições de saúde específicas (diabetes, obesidade etc.);
- Avaliar a capacidade de linhagens probióticas em fermentar o xarope de yacon e produzir ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), avaliando seus efeitos em células tumorais (ensaio antiproliferativo);
- Avaliar o índice glicêmico e a carga glicêmica do xarope de yacon.

APÊNDICES

APÊNDICE A – COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA OS SÓLIDOS SOLÚVEIS DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	13,27	0,24	54,63	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	0,05	0,09	0,56	0,5871
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	0,02	0,09	0,21	0,8360
Celluclast® 1.5 L (L)	0,07	0,09	0,85	0,4124
Celluclast® 1.5 L (Q)	0,16	0,09	1,72	0,1108
Temperatura (L)	0,04	0,09	0,46	0,6530
Temperatura (Q)	-0,03	0,09	-0,34	0,7416
Agitação (L)	0,12	0,09	1,43	0,1778
Agitação (Q)	-0,27	0,09	-3,01	0,0108
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	0,02	0,11	0,21	0,8387
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	0,03	0,11	0,33	0,7494
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	-0,05	0,11	-0,45	0,6637
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	0,02	0,11	0,21	0,8387
Celluclast® 1.5 L e Agitação	0,04	0,11	0,39	0,7060
Temperatura e Agitação	0,15	0,11	1,46	0,1710

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE B - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA OS AÇÚCARES TOTAIS DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	12,97	0,43	30,12	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	-0,04	0,15	-0,24	0,8137
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	0,16	0,16	-1,02	0,3287
Celluclast® 1.5 L (L)	0,24	0,15	1,55	0,1473
Celluclast® 1.5 L (Q)	-0,14	0,16	-0,89	0,3928
Temperatura (L)	0,08	0,15	0,55	0,5941
Temperatura (Q)	-0,06	0,16	-0,36	0,7251
Agitação (L)	-0,15	0,15	-0,97	0,3491
Agitação (Q)	-0,20	0,16	-1,25	0,2350
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	0,18	0,19	0,95	0,3631
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	-0,64	0,19	-3,42	0,0051
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	0,07	0,19	0,38	0,7090
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	-0,36	0,19	-1,94	0,0757
Celluclast® 1.5 L e Agitação	0,21	0,19	1,13	0,2793
Temperatura e Agitação	-0,05	0,19	-0,28	0,7830

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE C - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA OS AÇÚCARES REDUTORES DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	5,68	0,16	35,01	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	-0,08	0,06	-1,34	0,2059
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	0,08	0,06	1,28	0,2231
Celluclast® 1.5 L (L)	0,01	0,06	0,17	0,8644
Celluclast® 1.5 L (Q)	0,00	0,06	0,05	0,9599
Temperatura (L)	0,03	0,06	0,54	0,6005
Temperatura (Q)	-0,03	0,06	-0,50	0,6236
Agitação (L)	0,01	0,06	0,13	0,8981
Agitação (Q)	-0,02	0,07	-0,32	0,7555
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	-0,03	0,07	-0,36	0,7279
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	-0,05	0,07	-0,64	0,5336
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	0,08	0,07	1,16	0,2697
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	0,10	0,07	1,42	0,1798
Celluclast® 1.5 L e Agitação	0,00	0,07	0,05	0,9583
Temperatura e Agitação	0,01	0,07	0,09	0,9305

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE D - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA A SACAROSE DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	1,60	0,23	7,06	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	0,01	0,08	0,13	0,8987
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	-0,18	0,08	-2,12	0,0559
Celluclast® 1.5 L (L)	-0,04	0,08	-0,44	0,6663
Celluclast® 1.5 L (Q)	-0,19	0,08	-2,28	0,0418
Temperatura (L)	0,19	0,08	2,35	0,0370
Temperatura (Q)	-0,09	0,08	-1,01	0,3307
Agitação (L)	-0,19	0,08	-2,40	0,0337
Agitação (Q)	-0,02	0,08	-0,25	0,8077
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	0,08	0,10	0,85	0,4067
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	-0,10	0,10	-1,05	0,3140
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	0,01	0,10	0,07	0,9453
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	-0,06	0,10	-0,57	0,5813
Celluclast® 1.5 L e Agitação	-0,02	0,10	-0,24	0,8177
Temperatura e Agitação	0,21	0,10	2,18	0,0495

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE E - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA A FRUTOSE + GLICOSE DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	1,39	0,14	10,12	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	-0,02	0,05	-0,31	0,7633
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	-0,02	0,05	-0,46	0,6566
Celluclast® 1.5 L (L)	0,02	0,05	0,41	0,6884
Celluclast® 1.5 L (Q)	-0,10	0,05	-1,88	0,0840
Temperatura (L)	0,06	0,05	1,23	0,2413
Temperatura (Q)	-0,07	0,05	-1,28	0,2251
Agitação (L)	-0,17	0,05	-1,46	0,0047
Agitação (Q)	-0,02	0,05	-0,36	0,7258
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast	0,07	0,06	1,24	0,2398
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	-0,15	0,06	-2,43	0,0316
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	-0,02	0,06	-0,38	0,7125
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	-0,08	0,06	-1,40	0,1855
Celluclast® 1.5 L e Agitação	-0,02	0,06	-0,27	0,7898
Temperatura e Agitação	0,19	0,06	3,23	0,0072

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE F - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA O GF₆ DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	0,91	0,35	2,59	0,0238
Pectinex® Ultra SP-L (L)	0,00	0,12	0,00	0,9974
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	0,19	0,13	1,44	0,1757
Celluclast® 1.5 L (L)	0,05	0,12	0,42	0,6791
Celluclast® 1.5 L (Q)	0,17	0,13	1,25	0,2350
Temperatura (L)	-0,08	0,32	-0,63	0,5399
Temperatura (Q)	0,13	0,13	0,98	0,3481
Agitação (L)	0,00	0,12	0,03	0,9765
Agitação (Q)	0,01	0,13	0,11	0,9159
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	0,05	0,15	0,31	0,7644
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	0,01	0,15	0,05	0,9585
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	-0,10	0,15	-0,66	0,5228
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	0,09	0,15	0,58	0,5696
Celluclast® 1.5 L e Agitação	-0,09	0,15	-0,58	0,5696
Temperatura e Agitação	0,01	0,15	0,04	0,9649

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE G - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA O GF₅ DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	1,56	0,16	9,93	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	-0,02	0,06	-0,29	0,7754
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	-0,05	0,06	-0,88	0,3979
Celluclast® 1.5 L (L)	-0,03	0,06	-0,47	0,6458
Celluclast® 1.5 L (Q)	-0,04	0,06	-0,60	0,5587
Temperatura (L)	-0,08	0,06	-1,41	0,1826
Temperatura (Q)	0,03	0,06	0,58	0,5701
Agitação (L)	0,04	0,06	0,67	0,5180
Agitação (Q)	-0,05	0,06	-0,83	0,4204
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	-0,01	0,07	-0,14	0,8929
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	0,09	0,07	1,38	0,1915
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	-0,04	0,07	-0,52	0,6109
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	-0,04	0,07	-0,54	0,5986
Celluclast® 1.5 L e Agitação	0,07	0,07	1,07	0,3046
Temperatura e Agitação	0,14	0,07	-2,03	0,0656

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE H - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA O GF₄ DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	1,48	0,22	6,78	0,0001
Pectinex® Ultra SP-L (L)	-0,08	0,08	-1,04	0,3170
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	0,08	0,08	0,98	0,3462
Celluclast® 1.5 L (L)	0,06	0,08	0,74	0,4729
Celluclast® 1.5 L (Q)	0,13	0,08	1,64	0,1273
Temperatura (L)	-0,16	0,08	-2,03	0,0653
Temperatura (Q)	0,13	0,08	1,59	0,1373
Agitação (L)	0,03	0,08	0,43	0,6767
Agitação (Q)	0,08	0,08	1,00	0,3390
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	0,03	0,09	0,35	0,7316
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	-0,02	0,09	-0,25	0,8105
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	0,19	0,09	1,98	0,0710
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	-0,01	0,09	-0,09	0,9328
Celluclast® 1.5 L e Agitação	0,12	0,09	1,32	0,2120
Temperatura e Agitação	0,00	0,09	-0,05	0,9638

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE I - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA O GF₃ DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	3,22	0,29	10,94	0,0001
Pectinex [®] Ultra SP-L (L)	0,00	0,10	0,01	0,9937
Pectinex [®] Ultra SP-L (Q)	-0,14	0,11	-1,29	0,2203
Celluclast [®] 1.5 L (L)	0,20	0,10	1,92	0,0790
Celluclast [®] 1.5 L (Q)	-0,09	0,11	-0,84	0,4169
Temperatura (L)	0,03	0,10	0,30	0,7664
Temperatura (Q)	-0,18	0,11	-1,59	0,1384
Agitação (L)	0,09	0,10	0,86	0,4089
Agitação (Q)	-0,15	0,11	-1,35	0,2020
Pectinex [®] Ultra SP-L e Celluclast [®] 1.5 L	-0,23	0,13	-1,84	0,0904
Pectinex [®] Ultra SP-L e Temperatura	-0,11	0,13	-0,84	0,4160
Pectinex [®] Ultra SP-L e Agitação	0,00	0,13	0,04	0,9694
Celluclast [®] 1.5 L e Temperatura	-0,19	0,13	-1,48	0,1649
Celluclast [®] 1.5 L e Agitação	0,05	0,13	0,38	0,7091
Temperatura e Agitação	-0,29	0,13	-2,24	0,0445

Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE J - COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA O GF₂ DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	2,71	0,22	12,60	0,0001
Pectinex [®] Ultra SP-L (L)	0,06	0,08	0,85	0,4128
Pectinex [®] Ultra SP-L (Q)	-0,02	0,08	-0,20	0,8468
Celluclast [®] 1.5 L (L)	-0,03	0,08	-0,41	0,6886
Celluclast [®] 1.5 L (Q)	0,00	0,08	-0,04	0,9667
Temperatura (L)	0,11	0,08	1,51	0,1581
Temperatura (Q)	0,00	0,08	-0,01	0,9909
Agitação (L)	0,05	0,08	0,63	0,5408
Agitação (Q)	-0,04	0,08	-0,48	0,6426
Pectinex [®] Ultra SP-L e Celluclast [®] 1.5 L	0,19	0,09	2,02	0,0665
Pectinex[®] Ultra SP-L e Temperatura	-0,36	0,09	-3,87	0,0022
Pectinex [®] Ultra SP-L e Agitação	0,03	0,09	0,32	0,7581
Celluclast [®] 1.5 L e Temperatura	-0,08	0,09	-0,88	0,3971
Celluclast [®] 1.5 L e Agitação	0,10	0,09	1,03	0,3252
Temperatura e Agitação	-0,04	0,09	-0,44	0,6707

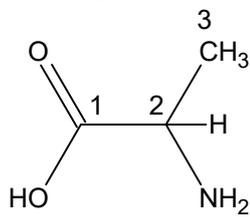
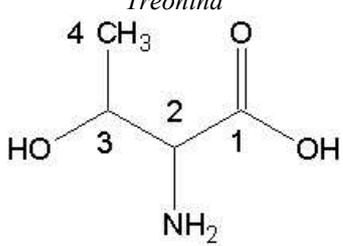
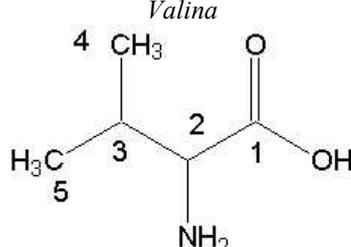
Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE K – COEFICIENTES DE REGRESSÃO DO DCCR PARA A TURBIDEZ DAS VARIÁVEIS UTILIZADAS PARA A MACERAÇÃO ENZIMÁTICA DO YACON

Fator	Coef. de regressão	Erro padrão	t(13)	p-valor
Média	6,79	5,41	1,25	0,2335
Pectinex® Ultra SP-L (L)	-0,18	1,91	-0,09	0,9269
Pectinex® Ultra SP-L (Q)	3,37	2,03	1,66	0,1229
Celluclast® 1.5 L (L)	0,70	1,91	0,37	0,7189
Celluclast® 1.5 L (Q)	1,23	2,03	0,61	0,5542
Temperatura (L)	-0,47	1,91	-0,25	0,8087
Temperatura (Q)	1,79	2,03	0,88	0,3957
Agitação (L)	-1,33	1,91	-0,70	0,4985
Agitação (Q)	3,37	2,03	1,66	0,1224
Pectinex® Ultra SP-L e Celluclast® 1.5 L	0,71	2,34	0,30	0,7678
Pectinex® Ultra SP-L e Temperatura	0,34	2,34	0,14	0,8870
Pectinex® Ultra SP-L e Agitação	0,45	2,34	0,19	0,8517
Celluclast® 1.5 L e Temperatura	0,01	2,34	0,00	0,9962
Celluclast® 1.5 L e Agitação	-0,87	2,34	-0,37	0,7157
Temperatura e Agitação	0,18	2,34	0,08	0,9388

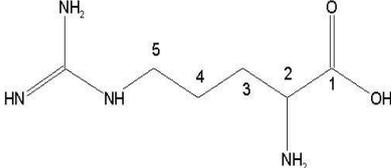
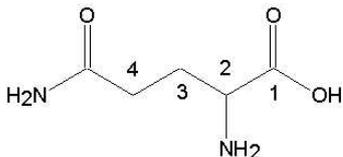
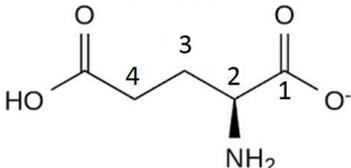
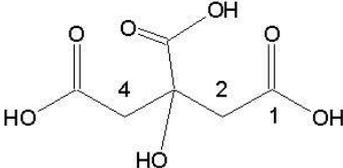
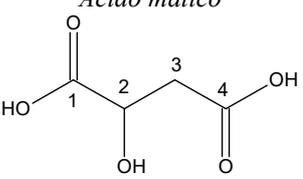
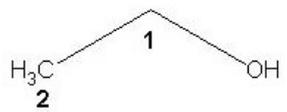
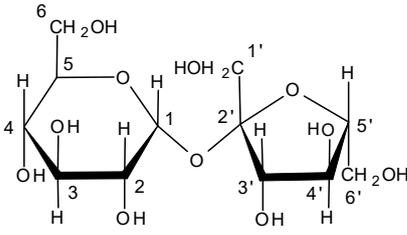
Fatores em negrito são estatisticamente significativos a 10% ($P < 0,10$).

APÊNDICE L – ESTRUTURAS IDENTIFICADAS POR RMN

Estruturas	$\delta^1\text{H}$ (multiplicidade* J em Hz)	HSQC ($\delta^{13}\text{C}$)	Ref. ^1H	Ref. ^{13}C
<p><i>Alanina</i></p> 	<p>3 – 1,47 (d 7,2) 2 – 3,81 (o)</p>	<p>19,3 (o)</p>	<p>1,52 (d, 7,3) 3,90 (q, 7,3)</p>	<p>53,4 19,1</p>
<p><i>Treonina</i></p> 	<p>2 – no 3 – 4,24 (o) 4 – 1,32 (d 6,6)</p>	<p>o 64,4 23,1</p>	<p>3,57 (d 4,87) 4,24 (m) 1,32 (d 6,58)</p>	<p>63,4 69,3 22,3</p>
<p><i>Valina</i></p> 	<p>2 – 3,62 (o) 3 – 2,28 (o) 4 – 0,98 (d 7,2) 5 – 1,03 (d 7,2)</p>	<p>o o 19,9 21,2</p>	<p>3,82 (d 4,4) 2,33 (m) 1,02 (d 7,1) 1,06 (d 7,1)</p>	<p>n 32,0 19,1 20,9 continua</p>

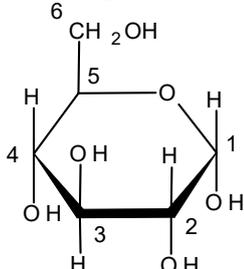
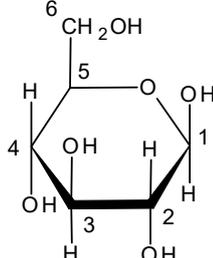
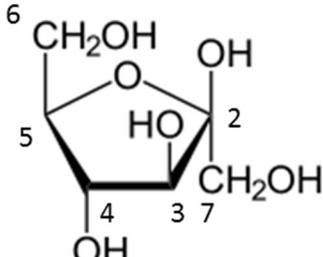
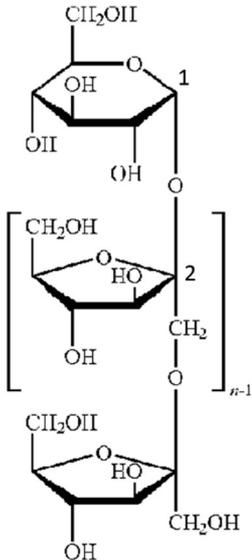
APÊNDICE L – ESTRUTURAS IDENTIFICADAS POR RMN

continuação

<i>Estruturas</i>	δ ¹ H (multiplicidade* J em Hz)	HSQC (δ ¹³ C)	Ref. ¹ H	Ref. ¹³ C
<p><i>Arginina</i></p> 	4 – 1,59 a 1,80 (m) 3 – 1,90 (m) 5 – 3,04 2 – 3,77	27,3 30,6 43,9 57,1	1,69 (m) 1,90 (m) 3,23 3,75	26,5 30,2 43,1 56,9
<p><i>Glutamina</i></p> 	4 – 2,37 a 2,48(m) 3 – 2,05 a 2,23(m) 2 – 3,77 (o)	32,8 29,5 o	2,45 (n) 2,13 (n) 3,77 (n)	33,6 29,0 57,0
<p><i>Glutamato</i></p> 	4 – 2,37 a 2,48(m) 3 – 2,03 a 2,10(m) 2 – 3,77 (o)	34,1 28,2 o	2,45 (n) 2,13 (n) 3,77 (n)	33,6 29,0 57,0
<p><i>Ácido cítrico</i></p> 	3 – 2,90 (d 15,6) 2 – 2,78 (d 15,6)	47,1 47,1	3,02 (d 15,8) 2,86 (d 15,8)	48,6 48,6
<p><i>Ácido málico</i></p> 	2 – 4,50 3 – 2,72; 2,85	72,1 43,3	4,29 2,34; 2,65	73,2 45,5
<p><i>Etanol</i></p> 	2 – 0,93 (t 7,63)	19,5	1,17	19,6
<p><i>Sacarose</i></p> 	1 – 5,42 (d 3,7) 2 – 3,56 (o) 3 – 3,76 (o) 4 – 3,48 (o) 5 – 3,85 (o) 6 – 3,82 (o) 1' – 3,82 (o) 2' – 3,89 (o) 3' – 4,05 (m) 4' – 4,22 (m) 6' – 3,68 (m)	95,5 74,1 75,5 72,3 75,5 63,1 65,2 84,3 77,0 79,9 64,5	5,44 (d 3,8) 3,89 a 3,57 (m) n n n n n n 4,08 (t 8,4) 4,24 (d 9,0) n	94,7 73,5 75,0 71,8 74,9 62,8 64,0 83,7 76,6 79,0 65 continua

APÊNDICE L – ESTRUTURAS IDENTIFICADAS POR RMN

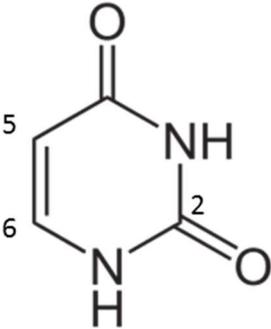
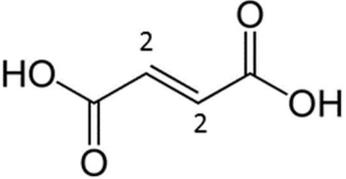
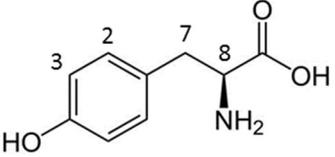
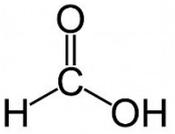
continuação

Estruturas	δ ^1H (multiplicidade* J em Hz)	HSQC (δ ^{13}C)	Ref. ^1H	Ref. ^{13}C
<p><i>α-glucose</i></p> 	<p>1 – 5,23 (<i>d</i> 3,8) 2 – 3,47 (<i>m</i>) 3 – 3,77 (<i>m</i>) 4 – 3,56 (<i>m</i>) 5 – 3,72 (<i>m</i>) 6 – 3,85 (<i>m</i>)</p>	<p>95,5 72,3 75,6 74,0 63,9 75,5</p>	<p>5,25 (<i>d</i> 3,8) 3,89 a 3,36 (<i>o</i>) n n n</p>	<p>95,4 72,2 76,0 72,8 64,2 74,5</p>
<p><i>β-glucose</i></p> 	<p>1 – 4,65 (<i>d</i> 7,90) 2 – 3,26 (<i>m</i>) 3 – 3,75 (<i>m</i>) 4 – 3,48 (<i>m</i>) 5 – 3,41 (<i>m</i>) 6 – 3,90 (<i>m</i>)</p>	<p>99,0 77,5 63,6 78,8 72,2 63,7</p>	<p>4,66 (<i>d</i> 8,1) 3,25 (<i>t</i> 8,4) n n n n</p>	<p>99,2 77,6 56,1 79,0 72,8 63,1</p>
<p><i>Frutose</i></p> 	<p>1 – 4,10 (<i>m</i>) 2 – 4,01 (<i>o</i>) 3 – 3,98 (<i>o</i>) 4 – 3,88 (<i>o</i>) 5 – 3,79 (<i>o</i>) 6 – 3,69 (<i>o</i>) 7 – 3,56 (<i>o</i>)</p>	<p>77,4 66,4 72,2 72,8 70,6 66,4 66,9</p>	<p>1 – 4,10 2 – 4,01 3 – 3,99 4 – 3,88 5 – 3,78 6 – 3,72 7 – 3,55</p>	<p>78,1 66,1 72,1 72,5 70,4 66,4 66,8</p>
<p><i>FOS</i></p> 	<p>1 – 5,30 (<i>m</i>) 2 – (-)</p>	<p>95,0 105,5</p>	<p>5,44 (-)</p>	<p>93,3 104,6</p>

continua

APÊNDICE L – ESTRUTURAS IDENTIFICADAS POR RMN

continuação e conclusão

<i>Estruturas</i>	δ ^1H (multiplicidade* J em Hz)	HSQC (δ ^{13}C)	Ref. ^1H	Ref. ^{13}C
<p><i>Uracila</i></p> 	<p>1 – 5,8 (m) 2 – 7,8 (o)</p>	<p>no no</p>	<p>5 – 5,8 6 – 7,5</p>	<p>103,7 146,2</p>
<p><i>Ácido fumárico</i></p> 	<p>1 – 6,7</p>	<p>138,0</p>	<p>1 – 6,5</p>	<p>138,0</p>
<p><i>Tirosina</i></p> 	<p>1 – 7,19 2 – 6,90 3 – 4,00 4 – 3,55 5 – 3,53</p>	<p>137,2 119,1 61,3 40,1 40,1</p>	<p>1 – 7,19 2 – 6,89 3 – 3,93 4 – 3,17 5 – 3,07</p>	<p>133,5 118,9 59,0 38,3 38,3</p>
<p><i>Ácido fórmico</i></p> 	<p>8,34</p>	<p>no</p>	<p>8,40</p>	<p>172,4</p>

s – simpleto; d – duplete; t – tripleto; o – sinal sobreposto; n – não informado; no – não observado.

APÊNDICE M – QUESTIONÁRIO UTILIZADO PELO GRUPO FOCAL

GRUPO FOCAL

Estamos realizando um estudo sensorial de um xarope de yacon com alegações de propriedades funcionais (prebiótico).

Nome: _____

Endereço: _____ Bairro: _____ Cidade: _____

CEP: _____ Telefone para contato: _____

Sexo: () masculino () feminino

Faixa etária: () 18 a 25 () 26 a 35 () 36 a 45 () 46 a 55 () mais de 55

Grau de instrução:

() ensino fundamental () ensino médio () ensino superior incompleto

() ensino superior completo () pós-graduação () outro

Profissão: _____

Quem faz as compras de produtos alimentícios na sua casa?

() você mesmo () outros: _____

Que tipo de produto funcional você normalmente utiliza em sua casa?

() produto prebiótico () produto rico em fibras () não utilizo produto funcional

Por favor, analise as amostras e caracterize-as marcando todos os itens que possam descrevê-la segundo os atributos abaixo:

Amostra: _____

Aparência/cor

- | | | | | |
|-------------------------------------|---------------------|--------------------|-----------------|------------------|
| () mel medicinal com ervas | () marrom | () cerveja Bok | () opaco | () transparente |
| () xarope de frutas em calda | () óleo de cozinha | () clarificado | () amarelo | () café fraco |
| () açúcar queimado | () cajuína | () cristalino | () queimado | () mel de cana |
| () cobertura de pudim | () acobreado | () wísque | () límpido | () alaranjado |
| () xarope de glicose (tipo “karo”) | () tons quentes | () brilhoso | () dourado | () caramelo |
| () refrigerante/guaraná | () conhaque | () laranja escuro | () avermelhado | () Outros: ____ |

Aroma

- | | | | | |
|---------------------|---------------|--------------|------------------|---------------|
| () Frutal | () ervas | () floral | () refrescante | () medicinal |
| () vegetal verde | () estragado | () álcool | () cítrico | () fumaça |
| () cana de açúcar | () café | () doce | () ácido | () rapadura |
| () açúcar queimado | () acobreado | () caramelo | () Outros: ____ | |

Sabor/gosto/sensação bucal

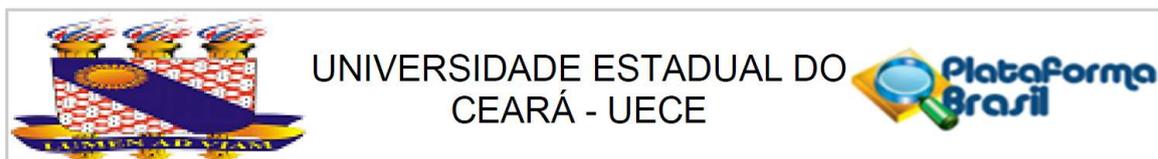
- | | | | | |
|---------------------|------------------|------------------|---------------|-------------|
| () cana de açúcar | () ervas | () vegetal seco | () ardente | () amargo |
| () frutal | () estragado | () caramelizado | () medicinal | () ácido |
| () açúcar queimado | () fumaça | () travoso | () floral | () melado |
| () vegetal verde | () pungente | () refrescante | () álcool | () remédio |
| () adstringência | () caramelo | () cítrico | () café | () doce |
| () rapadura | () Outros: ____ | | | |

Consistência/viscosidade

- | | | | | |
|----------------------|-----------|-------------|------------|--------------|
| () suco concentrado | () denso | () viscoso | () grosso | () pegajoso |
| () Outros: ____ | | | | |

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Benefícios metabólicos de nutracêuticos na saúde humana

Pesquisador: Helena Alves de Carvalho Sampaio

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 56094516.4.0000.5534

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ FUNECE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.634.748

Apresentação do Projeto:

O projeto pretende conhecer os benefícios metabólicos dos nutracêuticos obtidos dos alimentos yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson], pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale*), tamarindo (*Tamarindus indica* L.), e maracujá (*Passiflora edulis*) no perfil lipídico, glicêmico, apetite e inflamação em curto e longo prazo em humanos. Será realizado na Universidade Estadual do Ceará (UECE) e na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Serão selecionados e acompanhados, aproximadamente, 200 voluntários para o ensaio clínico randomizados nos dois grupos (intervenção e placebo) durante 90 dias. Os pesquisadores esperam que a pesquisa traga possíveis benefícios metabólicos aos voluntários, pois serão testados alimentos fontes de frutooligossacarídeos e compostos fenólicos que tiveram seus efeitos benéficos à saúde comprovados em estudos controlados anteriores.

Objetivo da pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito do consumo de nutracêuticos no perfil lipídico, glicêmico, apetite e inflamação em curto e longo prazo em humanos.

Objetivos Secundários:

Avaliar o efeito do consumo de xarope de yacon no perfil lipídico, glicêmico, apetite e inflamação em curto e longo prazo em humanos;

Avaliar o efeito do consumo de xarope de caju no perfil lipídico, glicêmico, apetite e inflamação em curto e longo prazo em humanos;

Avaliar o efeito do consumo de farinha de maracujá no perfil lipídico, glicêmico, apetite e inflamação em curto e longo prazo em humanos;

Avaliar o efeito do consumo de farinha de tamarindo no perfil lipídico, glicêmico, apetite e inflamação em curto e longo prazo em humanos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os benefícios e riscos estão bem descritos.

Riscos: Trata-se um estudo que utiliza alimentos que são habitualmente consumidos por humanos e que já foram testados em outros estudos, por isso, acredita-se que o risco da participação dos voluntários nesse estudo seja mínimo. Pode haver desconforto inerente a coleta de sangue, entretanto, tal etapa será realizada por profissional de enfermagem treinada, evitando assim, possíveis desconfortos. Caso ocorra algum efeito colateral do consumo do produto, o voluntário será imediatamente desvinculado da pesquisa e será encaminhado a serviço médico específico.

Benefícios: A pesquisa trará possíveis benefícios metabólicos aos voluntários, pois serão testados alimentos fontes de frutooligossacarídeos e compostos fenólicos que tiveram seus efeitos benéficos à saúde comprovados em estudos controlados anteriores. Os voluntários no final da pesquisa, também, terão acesso a todos os exames bioquímicos e avaliação antropométrica e de composição corporal analisados e que serão enviados por meio eletrônico ou carta.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A proposta de pesquisa é relevante para as áreas de Nutrição e Saúde Pública, apresenta valor científico e os métodos estão apropriados para atender aos objetivos do estudo. Os pesquisadores esperam que os resultados do estudo tragam possíveis benefícios metabólicos aos voluntários, pois serão testados alimentos fontes de frutooligossacarídeos e compostos fenólicos que tiveram seus efeitos benéficos à saúde comprovados em estudos controlados anteriores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de Rosto:

1) devidamente assinada e carimbada pelo responsável pela instituição proponente.

- Carta de anuência:

1) Foram apresentadas as cartas para os dois locais de coleta de dados (UECE e EMBRAPA) devidamente assinada e carimbada.

- TCLE:

1) atende a todas as exigências da Res. 466/2012.

- Orçamento:

1) adequado.

- Cronograma:

1) adequado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 12 de Julho de 2016

Assinado por:

Rhanna Emanuela Fontenele Lima de Carvalho
(Coordenador)

ANEXO B – FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DA SACIEDADE

Escalas analógicas visuais de 100 mm

Tempo _____

Grupo _____

Nome: _____

	Como está sua fome agora?	
Eu estou sem nenhuma fome	_____	Eu nunca estive com tanta fome
	Quanto saciado você se sente agora?	
Eu não estou nem um pouco saciado	_____	Eu não aguento comer mais nada
	Quanto cheio você se sente agora?	
Nada cheio	_____	Totalmente cheio
	Quanto você acha que pode comer agora?	
Nada	_____	Muito
	Você gostaria de comer algum alimento doce agora?	
Sim, muito	_____	Não, nada
	Você gostaria de comer algum alimento salgado agora?	
Sim, muito	_____	Não, nada
	Você gostaria de comer algum alimento temperado agora?	
Sim, muito	_____	Não, nada
	Você gostaria de comer algum alimento gorduroso agora?	
Sim, muito	_____	Não, nada

ANEXO C – FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DOS EFEITOS GASTROINTESTINAIS

Formulário de avaliação dos efeitos gastrointestinais

Fase _____

Nome: _____

Nos últimos 15 dias:

Como você classifica a consistência das suas fezes

0 (líquida) 1 (pastosa) 2 (regular) 3 (dura)

Houve nesses últimos dias desconfortos, como:

() presença de flatulência () dor abdominal () distensão abdominal

Escala de constipação (pontuação mínima: 0; pontuação máxima: 30)

Frequência de evacuações	Score
1-2 vezes por 1-2 dias	0
2 vezes por semana	1
Uma vez por semana	2
Menos do que uma vez por semana	3
Menos de uma vez por mês	4
Dificuldade: esforço com evacuação dolorosa	
Nunca	0
Raramente	1
Às vezes	2
Normalmente	3
Sempre	4
Completeness: sensação de evacuação incompleta	
Nunca	0
Raramente	1
Às vezes	2
Geralmente	3
Sempre	4
Dor: dor abdominal	
Nunca	0
Raramente	1
Às vezes	2
Geralmente	3
Sempre	4
Tempo: minutos no banheiro por tentativa	
Menos de 5	0
5-10	1
10-20	2
20-30	3
Mais de 30	4
Assistência: tipo de assistência	
Sem assistência	0
Laxantes	1
Assistência digital ou enema	2
Falha: tentativas malsucedidas na evacuação por 24 horas	
Nunca	0
1-3	1
3-6	2
6-9	3
Mais do que 9	4
História: duração da constipação ou prisão de ventre (anos)	
0	0
1-5	1
5-10	2
10-20	3
Mais de 20	4