



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ELISA BERNARDES MONTEIRO

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTUDO DAS PROPRIEDADES  
FUNCIONAIS BIOLÓGICAS *IN VIVO* DA FOLHA DE TAIOBA  
(*Xanthosoma sagittifolium*)

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán  
ORIENTADOR

Campinas, 2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ELISA BERNARDES MONTEIRO

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ESTUDO DAS PROPRIEDADES  
FUNCIONAIS BIOLÓGICAS *IN VIVO* DA FOLHA DE TAIOBA  
(*Xanthosoma sagittifolium*)

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição, na área de Nutrição Experimental aplicada à Tecnologia de Alimentos.

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán  
ORIENTADOR

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida por Elisa Bernardes Monteiro, aprovada pela comissão julgadora em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ e orientada pelo Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán.

---

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán

Campinas, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE  
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

M764c Monteiro, Elisa Bernardes  
Caracterização química e estudo das propriedades funcionais  
biológicas in vivo da folha de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*)  
/ Elisa Bernardes Monteiro. -- Campinas, SP: [s.n], 2011.

Orientador: Jaime Amaya-Farfán.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de  
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Taioba. 2. *Xanthosoma sagittifolium*. 3. Fibra alimentar.  
4. Compostos bioativos. I. Amaya-Farfán, Jaime. II.  
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia  
de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Chemical characterization and study of the biological  
functional properties in vivo of taioba's leaf (*Xanthosoma sagittifolium*)

Palavras-chave em inglês (Keywords):

Cocoyam

*Xanthosoma sagittifolium*

Dietary fiber

Bioactive compounds

Área de concentração: Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de  
Alimentos

Titulação: Mestre em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora:

Jaime Amaya-Farfán [Orientador]

Semíramis Martins Álvares Domene

Félix Guillermo Reyes Reyes

Data da defesa: 19/12/2011

Programa de Pós Graduação: Alimentos e Nutrição

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán  
Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP  
Orientador

---

Prof. Dr. Félix Guillermo Reyes Reyes  
Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP  
Membro

---

Profa. Dra. Semíramis Martins Álvares Domene  
Faculdade de Nutrição/UNIFESP  
Membro

---

Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UNESP  
Suplente

---

Prof. Dr. Luciano Bruno de Carvalho da Silva  
Faculdade de Nutrição/UNIFAL  
Suplente

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán, pela incrível oportunidade, confiança e amizade;

Aos professores da banca examinadora, pelas valiosas contribuições ao trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudos;

À querida amiga e companheira de trabalho Elisa Jackix, que dividiu comigo as muitas alegrias, dificuldades, dúvidas e inquietações que esse projeto nos trouxe. Sou muito grata pela nossa parceria!

Aos amigos do Laboratório de Fontes Protéicas: Carla Gregghi, Éder Müller, Carolina Moura, Priscila Morato, Pablo Lollo e Liane Rocha, pelo companheirismo, amizade, almoços, risadas e intermináveis horas de labuta, sempre regadas a muita música;

À Oneida Vieira e demais amigos do Laboratório CBO Assessoria e Análise, por toda a paciência e carinho a mim dispensados. Agradeço especialmente aos queridos Alessandro Esteves, Lizandre Maia, Telma Nascimento e Viviane Torres, por todo o empenho e disposição em me ajudar;

Ao Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi, à Rosely e demais amigos do Laboratório de Tecnologia de Alimentos, do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCFAr-UNESP, pela calorosa recepção e auxílio nas análises microbiológicas;

À bioterista Suzana Corrêa, por todo o auxílio no manejo dos animais e pela alegria sempre presente;

Aos funcionários e amigos do Departamento de Alimentos e Nutrição da FEA-UNICAMP, que comigo compartilharam muitas alegrias e fizeram parte da minha trajetória nesta Universidade;

Ao querido amigo Erick Almeida, pelos papos descontraídos e apoio psicológico durante os vôos de volta pra casa;

Aos presentes que ganhei na TP208: Anne Marques, Glaucia Carielo e Nathalia Dragano (chuchuzes), e à chuchu “agregada”, Cinthia Betim. Amo muito vocês! Agradeço em especial à querida amiga Anne, por ter dividido comigo todo o seu conhecimento em informática, e ao querido amigo Diogo Kolinski, por muito gentilmente ter viabilizado minhas idas à Araraquara;

À muito amada amiga Daniela Miotto, pelos ensinamentos culinários e amizade para a vida toda. Acordar às 6hs da manhã para estudar nunca foi tão prazeroso! Eu não teria conseguido sem você!

À Daniela Gasparetto, minha irmã, companheira de trabalho, companheira de casa, companheira de chocolate, revisora, consultora em assuntos diversos, incentivadora nos piores momentos, psicóloga de plantão, meu ombro amigo. Tenho a certeza de que estaremos sempre juntas, nem que seja “só” de coração;

Aos moradores da “Ilha”, a melhor rep do mundo: Adriana, Luiz Paulo, Natália, Natacha, Marília, Vanessa, Yara (“mu”), Taísa, Ana Júlia, Jacqueline, Marcos e Diego. Vocês são a família que escolhi ter! Muito obrigada por terem me aturado durante tanto tempo e por ao menos tentarem manter a cozinha limpa. Às queridas Elenice e Mária, parceiras de “cafezin”, brigadeiros e afins, vocês foram fundamentais nessa reta final, sempre me apoiando e dando aquele “gás”. A segunda-feira é frenética e a terça-feira é do sucesso!

Ao querido amigo Wellington Gomes, que esteve presente quando eu mais precisava. Nossa amizade é para sempre!

Aos amigos do “Coral Unicamp Ziper na Boca”, pelas cantorias, festas, churrascos, passeios, e por terem reacendido a minha paixão pela música;

Aos incontáveis amigos cariocas, por sempre me receberem de braços abertos em meus retornos para casa e por não reclamarem (muito) da minha ligeira mudança de sotaque;

À minha família, meu maior bem: meus pais, José Renato e Ausonia, minha irmã Lais e meu cunhado Renato, meus maiores incentivadores e exemplos de vida. Meu sucesso é, também, de vocês. Ao meu sobrinho Miguel, a maior das alegrias. Às famílias baiana e cearense, meus alicerces;

À Maria Inês Pinheiro da Silva, sempre presente em minha memória, em meus pensamentos e em meu coração.

## RESUMO

MONTEIRO, E.B. **Caracterização química e estudo das propriedades funcionais biológicas *in vivo* da folha de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*)**. 2011. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

A taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) é uma arácea comestível originária da América tropical de elevado valor nutritivo. Os órgãos subterrâneos da planta (cormos e cormilhos) são consumidos por algumas populações no mundo e constituem fonte energética importante na dieta; o consumo de suas folhas, no entanto, não é muito difundido, sendo considerada uma hortaliça não convencional. Visando-se o melhor conhecimento dessa fonte alimentar, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização da fibra da folha de taioba, bem como a avaliação de possíveis efeitos funcionais fisiológicos *in vivo* promovidos pelo consumo da folha. A folha de taioba foi coccionada, liofilizada e teve sua composição centesimal e aminoacídica determinadas, sendo a fibra alimentar analisada quantitativa e qualitativamente. Através de ensaio biológico, foram avaliados os efeitos na produção de ácidos graxos de cadeia curta, no metabolismo de ácidos biliares e na modulação da microbiota intestinal, parâmetros importantes na avaliação da atividade prebiótica. A folha de taioba liofilizada apresentou teores de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel de  $35,23 \pm 0,26\%$ ,  $6,82 \pm 0,06\%$  e  $28,04 \pm 0,21\%$ , respectivamente. O aminograma da folha liofilizada apontou os aminoácidos ácido aspártico, ácido glutâmico, arginina, alanina, leucina e lisina como os mais abundantes. A análise da composição monossacarídica demonstrou que a glicose é o monômero mais abundante (61%), sugerindo a presença de celulose e hemicelulose em grandes quantidades na folha. A frutose aparece como o segundo monossacarídeo mais abundante (29%), seguida dos demais monômeros analisados. Os monossacarídeos neutros constituíram em  $19,23 \pm 2,0\%$  da folha de taioba liofilizada. Os animais que foram alimentados com dieta contendo folha de taioba apresentaram a maior atividade fermentativa no cólon, estimada pelas concentrações de ácidos graxos totais (dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra da folha de taioba). No ceco, também foi observada maior atividade fermentativa nos animais do referido grupo, porém diferenças significativas só foram observadas em relação aos grupos 4 e 5, que receberam dietas com os maiores teores de fibra total (7,5%). Os grupos alimentados com taioba também apresentaram maiores proporções de ácido butírico no cólon e no ceco, em detrimento dos demais ácidos graxos. Apesar das dietas não terem influenciado as concentrações de ácidos biliares totais no ceco e no cólon, os animais que receberam dietas contendo 5% de fibra, sendo elas celulose (grupo 1) ou celulose acrescida de inulina (grupo 2), tiveram maiores percentuais de ácidos biliares secundários em detrimento dos primários. Comportamento inverso foi observado em animais alimentados com taioba. Análise preliminar da microbiota intestinal demonstrou que os microrganismos probióticos e o gênero *Clostridium* foram predominantes no ceco de todos os animais em estudo, enquanto que as contagens de enterobactérias e de *Bacteroides* sp. apresentaram grandes variações entre as dietas. A inulina pareceu exercer efeito repressor no crescimento de enterobactérias. Sugere-se no presente trabalho que a folha de taioba possa influenciar a

taxa fermentativa da microbiota intestinal e modular o perfil de ácidos graxos de cadeia curta. Sugere-se ainda que a folha de taioba possa exercer efeito benéfico no metabolismo de ácidos biliares.

**Palavras-chave:** Taioba. *Xanthosoma sagittifolium*. Fibra alimentar. Compostos bioativos. Propriedades funcionais biológicas *in vivo*.

## ABSTRACT

MONTEIRO, E.B. **Chemical characterization and study of the biological functional properties *in vivo* of taioba's leaf (*Xanthosoma sagittifolium*)**. 2011. Dissertation (Master on Food and Nutrition) – School of Food Engineering, University of Campinas.

Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) is an edible aroid originated from tropical America that exhibits significant nutritive value. Its tuberous portions (corms and cormels) are consumed by several populations worldwide and can provide an important part of the subsistence energy in these regions. However, the leafy portions of Taioba are generally discarded because of being considered as non-conventional vegetables. The main objective of this work was to determine and characterize the dietary fiber present in the Taioba's leaf, and to examine its possible *in vivo* physiological effects when fed to rats. The leafy portions of the plant were cooked, freeze-dried and chemically characterized, the dietary fiber determined both quantitative and qualitatively. Biological evaluation was conducted to assess the effect of leaf powder on the intestinal short-chain fatty acid production, bile acid metabolism and microflora modulation, all known to be indicators of prebiotic function. Total, soluble and insoluble dietary fiber contents in Taioba leaf powder (TLP) were  $35.23 \pm 0.26\%$ ,  $6.82 \pm 0.06\%$  and  $28.04 \pm 0.21\%$ , respectively. Amino acid composition showed that aspartic, glutamic acids, arginine, alanine, leucine and lysine were predominant in the TLP. Monosaccharide composition showed glucose as the main component (61%), suggesting the presence of cellulose. Fructose appeared as the second most abundant monosaccharide (29%), followed by other monosaccharides in less appreciable concentrations. Total neutral sugars constituted  $19.29 \pm 2.0\%$  of the TLP. Animals fed with diets containing the leaf powder (2.5% cellulose and 2.5% TLP) showed the highest fermentative rate in the colon, as estimated by the total short-chain fatty-acid concentrations. The same animals showed that butyric acid also had the highest concentrations in comparison to the other acids. In the cecum contents of these animals, great fermentative rates were also observed. The TLP seemed to improve the bile acid profile in both colon and cecum by diminishing the proportion of secondary acids, notwithstanding the total concentration remaining unchanged. Preliminary analysis of the intestinal microflora in cecum contents showed high proportions of probiotic organisms and *Clostridium* sp.. All diets showed great variations for *Enterobacter* sp. and *Bacteroides* sp.. Apparently, inulin inhibited *Enterobacter* sp. growth. The present study suggests that dietary fiber and/or other bioactive compounds in the TLP could beneficially influence fermentative rate, short-chain fatty acid profile and bile acid metabolism.

**Keywords:** Cocoyam. *Xanthosoma sagittifolium*. Dietary fiber. Bioactive compounds. Biological functional properties *in vivo*.

## SUMÁRIO

1.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
1.1.	TAIOBA ( <i>Xanthosoma sagittifolium</i> ).....	13
1.2.	FIBRA ALIMENTAR.....	16
1.3.	FIBRA COMO COMPONENTE DE ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	20
1.4.	AÇÃO PREBIÓTICA DA FIBRA ALIMENTAR.....	22
1.4.1.	MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL PELA FIBRA.....	22
1.4.2.	FIBRA ALIMENTAR E METABOLISMO DOS ÁCIDOS BILIARES.....	25
1.4.3.	FERMENTABILIDADE DA FIBRA ALIMENTAR.....	29
1.4.4.	PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA.....	32
2.	OBJETIVOS.....	36
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	36
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
3.	MÉTODOS.....	37
3.1.	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA FOLHA DE TAIOBA LIOFILIZADA.....	37
3.2.	ANÁLISE QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA FRAÇÃO FIBROSA DA FOLHA DE TAIOBA.....	37
3.2.1.	MÉTODO ENZÍMICO-GRAVIMÉTRICO.....	38
3.2.2.	MÉTODO ENZÍMICO-QUÍMICO.....	38
3.3.	ENSAIO BIOLÓGICO.....	38
3.3.1.	DELINEAMENTO DO ENSAIO E DIETAS.....	39
3.3.2.	FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL.....	40
3.3.3.	DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA EM CÓLON E CECO.....	41
3.3.4.	DETERMINAÇÃO DOS ÁCIDOS BILIARES EM CÓLON E CECO.....	42
3.3.5.	CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL.....	43
3.4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1.	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA FOLHA DE TAIOBA LIOFILIZADA.....	44
4.2.	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO AMINOACÍDICA DA FOLHA DE TAIOBA LIOFILIZADA.....	46
4.3.	COMPOSIÇÃO MONOMÉRICA DA FIBRA DA FOLHA DE TAIOBA.....	48
4.4.	ENSAIO BIOLÓGICO.....	53
4.4.1.	GANHO DE PESO DOS ANIMAIS, CONSUMO DE DIETA, EFICIÊNCIA ALIMENTAR E PESO DAS FEZES.....	53
4.4.2.	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO CECO E CÓLON DOS ANIMAIS.....	55
4.4.3.	PERFIL DE ÁCIDOS BILIARES NO CECO E CÓLON DOS ANIMAIS.....	61
4.4.4.	COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL NO CECO DOS ANIMAIS.....	69
5.	CONCLUSÕES.....	73
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
7.	ANEXO.....	90

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal de cormilhos, farinha e folha de taioba.....	15
Tabela 2. Teor de fibra total em alguns alimentos .....	19
Tabela 3. Composição das dietas utilizadas durante 28 dias de ensaio biológico.....	40
Tabela 4. Composição centesimal média da folha de taioba liofilizada.....	44
Tabela 5. Teores médios de fibra total, solúvel e insolúvel da folha de taioba liofilizada.....	45
Tabela 6. Composição aminoacídica média da folha de taioba liofilizada e da caseína .....	46
Tabela 7. Composição de monossacarídios neutros e lignina da fibra da folha de taioba .....	49
Tabela 8. Ganho médio de peso dos animais, consumo diário de ração, QEA e peso das fezes.....	53

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Produção de ácidos graxos de cadeia curta totais no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	56
Figura 2. Produção de ácidos graxos de cadeia curta no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	56
Figura 3. Produção de ácidos graxos de cadeia curta totais no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	57
Figura 4. Produção de ácidos graxos de cadeia curta no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	57
Figura 5. Conteúdo de ácidos biliares totais no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	63
Figura 6. Conteúdo de ácidos biliares no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	63
Figura 7. Conteúdo de ácidos biliares totais no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. ....	64
Figura 8. Conteúdo de ácidos biliares no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	64
Figura 9. População microbiana no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra.....	70

## INTRODUÇÃO

A espécie vegetal *Xanthosoma sagittifolium*, pertencente à família das aráceas, é bastante cultivada em regiões tropicais do centro-sul americano e em alguns países da África. É utilizada como parte da dieta local, constituindo por vezes importante fonte de subsistência em populações mais carentes da África, Ásia e América (ONWUEME, 1978). A porção tuberosa da planta é rica em amido, algumas vitaminas e minerais, contribuindo com o aporte energético da dieta (SEFA-DEDEH; AGYIR-SACKEY, 2004).

A folha, ou porção aérea da planta, pode ser valiosa fonte de nutrientes na alimentação humana, porém tem seu consumo pouco difundido no Brasil (SOUZA, 2008). Por ser uma hortaliça não usual, ainda são escassos os dados na literatura sobre esse alimento, tornando-se importante a caracterização de sua composição química e seu possível impacto na saúde.

A fibra alimentar possui importância crucial na alimentação humana e seus efeitos na saúde são bem descritos (GUILLON; CHAMP, 2000; PINTO, 2004; GIBSON et al., 2004; BAZANNO, 2008; BUTTRISS; STOKES, 2008; THEUWISSEN; MENSINK, 2008). Dentre eles, destacam-se os efeitos hipoglicemiante, hipocolesterolêmico e modulatório da microbiota intestinal de alguns tipos de fibra, sendo os ácidos graxos de cadeia curta produtos importantes do seu metabolismo fermentativo. Por conseguinte, a busca por alimentos que apresentam função prebiótica tem se tornado cada vez mais crescente.

Diante do exposto, o presente trabalho pretendeu elucidar a composição química da folha de taioba, bem como suas propriedades funcionais fisiológicas *in vivo*, visando contribuir com o conhecimento científico acerca desse alimento.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. TAIOBA (*Xanthosoma sagittifolium*)

A família *Araceae* constitui-se de monocotiledôneas e contém cerca de 110 gêneros e mais de 2000 espécies, sendo a grande maioria encontrada na região dos trópicos. São primariamente herbáceas e terrestres, e apresentam caules na forma de tubérculos ou rizomas alongados (nesse caso, mais corretamente chamados de cormos e cormilhos), de onde se origina a porção aérea da planta. O corno representa o caule primário ou principal da planta, enquanto que os cormilhos seriam os caules secundários ou ramificações do órgão subterrâneo; os últimos são muito apreciados na alimentação, sendo fonte importante de energia em várias populações do mundo (ONWUEME, 1978). As folhas geralmente possuem disposição alternada, encontram-se em pequeno número ou solitárias e nascem enroladas sobre o ponto vegetativo, com pecíolos longos e grande bainha invaginante. As flores são pequenas e possuem espiga floral chamada espádice, sempre protegidas por brácteas. Os frutos são do tipo baga e as sementes possuem tamanho e forma variados, com ou sem endosperma. Comumente apresentam ráfides ou cristais de oxalato de cálcio, em toda a extensão da planta; acredita-se que esses cristais são responsáveis, ao menos em parte, pela sensação de acridéz que pode ser produzida ao ingerir-se a planta. Alguns autores afirmam que a acridéz é ocasionada através do consumo da planta não cozida ou não desidratada (PLOWMAN, 1969; GRAZIANO, 1990; TAIZ; ZEIGER, 2004; OJINAKA; AKOBUNDU; IWE, 2009), enquanto que outros autores atribuem esse efeito às características morfológicas apresentadas pelas ráfides (SEFA-DEDEH; AGYIR-SACKEY, 2002).

O gênero *Xanthosoma*, pertencente à família das Aráceas, é originário da América tropical. É popularmente conhecida no Brasil como taioba, taiova, arão, aro, pé-de-bezerro, taiá, talo, mangarito, dentre outros (CARVALHO; CORDEIRO, 1990). No mundo, é conhecido como *malanga*, *yautia*, *tannia* ou *new cocoyam*, cujo nome foi assim dado para evitar-se a confusão com o gênero *Colocasia*, intimamente relacionado (*old cocoyam*) (PINTO, 1998). São plantas que se apresentam eretas e possuem caule grosso e carnoso.

Suas folhas são grandes ou até mesmo gigantescas em algumas variedades, em geral com 80 centímetros de comprimento e 60 de largura, de forma sagitada, largo-ovóide ou triangular. A planta em si pode ter até 2 metros de altura, sendo ela muito semelhante ao taro (*Colocasia esculenta*); o gênero *Xanthosoma* apresenta, no entanto, pecíolo folial na beirada do limbo da folha, saindo logo em seguida da junção dos lóbulos basais, que são separados. Possui nervuras em número de 4 a 10, divergentes da nervura central (ABRAMO, 1990).

As folhas de taioba são facilmente cultivadas em clima quente, sob temperaturas elevadas, cessando a produção em temperaturas muito baixas. Isso dificulta ou até mesmo impossibilita seu cultivo em regiões de elevada altitude. Requerem solo sempre úmido e do tipo argiloso-arenoso, rico em húmus, de pH variando entre 5,5-6,5; podem ainda tolerar solos salinos. No Brasil, seu ciclo completo (plantio à colheita) leva cerca de 4 a 5 meses, enquanto que em outros países pode levar até 10 meses (ABRAMO, 1990; PINTO, 1998).

Os sistemas subterrâneos da planta (cormos e cormilhos) são seu principal reservatório energético, destacando-se o seu alto teor de amido, que pode constituir até 40% do peso do tubérculo, em base úmida, e até 60% em base seca (LIMA et al., 2010). Os grânulos de amido presentes nos cormos e cormilhos de taioba, por apresentarem menor tamanho em comparação aos outros tubérculos como mandioca e batata doce, são mais facilmente digeríveis (OJINNAKA; AKOBUNDU; IWE, 2009). De acordo com Pérez, Schultz e Pacheco de Delahaye (2005), são grânulos de formato redondo ou elipsoidal com diâmetro variando entre 2 a 10µm. Os órgãos subterrâneos da taioba também são considerados fonte de vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina e ácido ascórbico, e minerais como cálcio e fósforo, sendo esse último mais abundante do que em tubérculos como mandioca e inhame (ONWUEME, 1978; PÉREZ; SCHULTZ; PACHECO DE DELAHAYE, 2005).

Sefa-Dedeh e Agyir-Sackey (2004) determinaram a composição química dos cormilhos de taioba; os valores são apresentados na Tabela 1. A grande variação observada se deve à porção do cormilho utilizada para análise (seção apical, mediana ou distal) e à variedade da espécie (variedade vermelha ou branca). Já Pérez et al. (2007) realizaram um estudo sobre a produção e caracterização da farinha de taioba; a composição centesimal da

farinha também se encontra na Tabela 1. É importante ressaltar que a farinha, nesse estudo, foi obtida a partir das partes comestíveis dos órgãos subterrâneos. A Tabela 1 traz ainda os resultados obtidos por Leterme et al. (2005), em trabalho sobre a composição química de folhas de taioba. Os valores variaram de acordo com a maturidade da folha (folha jovem ou madura). Os autores também analisaram a composição de aminoácidos e minerais na folha, sendo os mais expressivos arginina, leucina, lisina, fenilalanina e valina para aminoácidos, e potássio, cálcio, ferro e manganês para minerais.

Tabela 1: Composição centesimal de cormilhos, farinha e folha de taioba (g/100g)

	<b>Cormilhos<sup>1</sup></b>	<b>Farinha<sup>2</sup></b>	<b>Folha<sup>3</sup></b>
<b>Umidade</b>	54,5 a 77,4	11,04 ± 0,09*	86,1 a 90,1
<b>Proteínas*</b>	3,94 a 5,5	6,37 ± 0,17	23,1 a 24,0
<b>Carboidratos*</b>	12,2 a 36,6	72,49 ± 0,00	19,7 a 22,9
<b>Lipídios*</b>	0,28 a 0,74	0,88 ± 0,11	8,0 a 9,7
<b>Cinzas*</b>	1,98 a 3,93	4,25 ± 0,02	11,5 a 13,9
<b>Fibras totais*</b>	1,11 a 1,72	5,19 ± 0,01	12,4 a 13,0

\*Resultados expressos em base seca. <sup>1</sup> SEFA-DEDEH e AGYIR-SACKEY (2004), <sup>2</sup> PÉREZ et al. (2007), <sup>3</sup> LETERME et al. (2005).

Assim como outros vegetais folhosos, a folha de taioba é rica em carotenóides e outras substâncias de potencial antioxidante. Graebner et al. (2004), em estudo que avaliou a biodisponibilidade de carotenóides em vegetais folhosos verde-escuros nativos do Brasil, observaram que a folha de taioba apresentou maior teor de  $\alpha$ -caroteno em comparação aos outros vegetais analisados e que a biodisponibilidade relativa do  $\beta$ -caroteno na folha de taioba foi de 9%. Os autores concluíram que os vegetais analisados podem constituir boa fonte alternativa de vitamina A. Arruda, Siqueira e Souza (2004) relataram que a folha de taioba, quando oferecida em dieta para animais, apresentou efeito protetor contra o *stress* oxidativo causado pela deficiência de vitamina A e foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica tal como o  $\beta$ -caroteno isolado oferecido aos animais do grupo controle.

No mundo, os países que mais se destacam pela produção da taioba estão localizados no centro-sul americano (Cuba, Peru, Venezuela e República Dominicana) e na África (Gana e Nigéria), e a planta constitui parte importante da dieta de populações mais carentes (ONWUEME, 1978; FAO, 2007). No Brasil, a taioba é muito apreciada em Minas Gerais, Bahia e Rio de Janeiro, sendo inclusive utilizada em pratos típicos regionais (MANGAN et al., 2008). Porém, a cultura dessa planta no país ainda é pouco explorada e seu consumo pouco difundido. O baixo custo, a simplicidade de sua produção e o clima favorável deveriam ser fatores de incentivo ao amplo cultivo da taioba, podendo ser importante alternativa para a agricultura familiar e, assim, auxiliar na inclusão social e na melhoria do estado nutricional de populações mais carentes (SOUZA, 2008).

## 1.2. FIBRA ALIMENTAR

A fibra alimentar é classicamente definida como substâncias de origem vegetal que não são digeridas pelas enzimas do trato gastrointestinal de humanos, alcançando o intestino grosso e lá sendo parcial ou totalmente fermentadas pela microbiota presente (SOUTHGATE, 2001). Essa definição, porém, ainda gera controvérsias entre os autores por se tratar de uma classe de compostos de composição química bastante heterogênea; a fibra alimentar também pode ser classificada de acordo com seus efeitos fisiológicos. Tais controvérsias resultam na necessidade de se elaborar uma definição de fibra alimentar (ou dietética) e funcional que seja de consenso entre os especialistas.

Em 2001, a AACC (*American Association of Cereal Chemists*) elaborou a seguinte definição para fibra alimentar: “(...) é a parte comestível de plantas ou carboidratos análogos que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado, com fermentação completa ou parcial no intestino grosso. A fibra dietética inclui polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina, e substâncias associadas às plantas. A fibra dietética promove efeitos fisiológicos benéficos, incluindo laxação e/ou atenuação do colesterol sanguíneo e/ou atenuação da glicose sanguínea”. Essa definição é bastante abrangente, pois engloba compostos de diferentes origens químicas, a saber: homopolímeros de glicose (celulose, beta-glucanas), homopolímeros de frutose (inulina), heteropolímeros (arabinoxilanas,

arabinogalactanas), oligômeros (galactooligossacarídeos, oligofrutanas), lignina, carboidratos análogos (dextrinas resistentes, amido resistente, quitina, quitosanas, carboidratos sintéticos) e substâncias associadas (ceras, cutina, suberina, saponinas, taninos, fitatos). Tem-se ainda nessa definição a descrição dos principais efeitos metabólicos da fibra alimentar.

Em 2005, o *Institute of Medicine of the National Academies* (IOM) apresentou os conceitos de fibra total, funcional e dietética. A fibra dietética foi conceituada como sendo os carboidratos indigeríveis e lignina que são intrínsecos às plantas e permanecem intactos após digestão por enzimas do trato gastrointestinal, não sendo eficientemente absorvidos. A fibra funcional consiste de carboidratos indigeríveis isolados ou extraídos que apresentam efeitos fisiológicos benéficos no organismo humano, incluindo oligossacarídeos sintéticos e amido resistente. A fibra total é considerada o somatório das fibras dietética e funcional. Assim como na definição proposta pela AACC, são englobados compostos que podem ser considerados constituintes da fibra alimentar devido às suas características químicas e intrínsecas à molécula ou ainda devido aos efeitos fisiológicos promovidos através de seu consumo.

Dentre os diversos componentes da fração fibra alimentar, os polissacarídeos não-amido são o grupo de maior abundância, podendo ser classificados em polissacarídeos estruturais (constituintes de parede celular) ou não estruturais (SPILLER, 2001).

A celulose, um dos principais polímeros estruturais, constitui-se de cadeia linear de unidades de glicose unidas por ligações do tipo  $\beta$ -1,4, com alto grau de polimerização e elevada massa molecular. Devido à linearidade das moléculas, elas se dobram e interagem entre si através de ligações do tipo pontes de hidrogênio, formando uma estrutura tridimensional chamada de microfibrila. Essa estrutura característica confere grande força e resistência mecânica à parede celular do vegetal, porém pouca flexibilidade. As hemiceluloses possuem a estrutura básica da celulose, com unidades de glicose substituídas por outros monossacarídeos, tais como xilose, arabinose, galactose, manose, dentre outros; o monômero predominante dá o nome à molécula (galactanas, mananas, arabinoxilanas, etc.). Além disso, as hemiceluloses apresentam cadeia ramificada, o que lhes confere maior solubilidade em água em comparação à celulose. Na estrutura da parede celular, as

microfibrilas de celulose são revestidas em uma monocamada de moléculas de hemicelulose, que por sua vez está embebida em um gel de polissacarídeos pécticos (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2008). A pectina, por sua vez, é um polímero de ácido D-galacturônico com unidades de ramnose, galactose e arabinose em suas ramificações. Por fim, a lignina caracteriza-se por ser um polímero de alcoóis cumarílico, coniferílico e sinapílico, que se condensam formando macromoléculas reticuladas. Apesar de não ser de origem polissacarídica, é também um importante constituinte da parede celular dos vegetais, especialmente em cereais (EASTWOOD, 1992).

Os polissacarídeos não estruturais estão quimicamente ligados à parede celular do vegetal, mas não a compõem; gomas e mucilagens são inclusas nesse grupo. As gomas são exsudatos produzidos pelo tecido vegetal quando há injúria, já as mucilagens em geral formam complexos com os carboidratos de reserva no endosperma de sementes. Devido à alta capacidade de hidratação e viscosidade desses compostos, são empregados na indústria de alimentos como espessantes, estabilizantes, agentes de gelificação e emulsificantes em diversas formulações; exemplos são cereais matinais, produtos de panificação, laticínios e produtos cárneos (RODRÍGUEZ et al., 2006).

Algumas propriedades físico-químicas da fibra dietética influenciam diretamente em sua ação no organismo. Dentre elas, as propriedades de hidratação, solubilidade e viscosidade são as mais notadas (KNUDSEN, 2001). Em relação à solubilidade, as fibras podem ser divididas em dois grandes grupos, as solúveis e as insolúveis. As fibras solúveis se caracterizam por formar uma camada aquosa no lúmen intestinal que é responsável pelo aumento da viscosidade local e, conseqüentemente, pelo aumento no tempo de esvaziamento gástrico e do trânsito intestinal, além da diminuição da assimilação de nutrientes; elas são total ou parcialmente fermentadas pela microbiota colônica. Já as fibras insolúveis promovem tempo de trânsito intestinal menor, maior volume e maciez das fezes, sendo pouco utilizadas como substrato energético pela microbiota (GUILLON; CHAMP, 2000).

Alguns alimentos-fonte de fibra solúvel são as leguminosas, aveia e frutas cítricas, enquanto que a fibra insolúvel em geral é mais encontrada em cereais e seus farelos e vegetais folhosos, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Teor de fibra total em alguns alimentos

<b>Alimento</b>	<b>Fibra Total (g/100g)</b>
Farinha de centeio	15,5
Farelo de trigo	54,2
Arroz integral, Cozido	2,7
Farelo de arroz	51,4
Aveia em flocos	9,1
Abóbora, Cozida	2,5
Agrião	2,1
Almeirão, Cru	2,6
Chicória, Crua	2,2
Couve manteiga, Crua	3,1
Espinafre, Cru	2,1
Banana	2,0
Goiaba	6,2
Manga	1,6
Feijão carioca, Cozido	8,5
Lentilha, crua	16,9

Fontes: CLAYE; IDOURAINE; WEBER (1996); TACO (2006).

O consumo de vegetais pode ser feito através de diversos órgãos da planta, tais como folhas, órgãos subterrâneos, caules, inflorescências, frutos e sementes. A fibra alimentar presente na dieta humana é oriunda de uma variedade de estruturas da parede celular; sua composição é distinta e depende do tipo de órgão vegetal, da espécie vegetal e da quantidade a ser consumida (HOUNSOME et al., 2008). Estudos populacionais relatam que a ingestão diária de fibra alimentar em grande parte dos países, em especial em países desenvolvidos, é muito aquém da recomendação de 25-38g/dia (IOM, 2005). É preconizado o consumo de ao menos 3-4 porções de frutas e hortaliças ao dia para atender às

recomendações nutricionais. Apesar de as hortaliças possuírem menor quantidade de fibras em relação aos cereais integrais e às leguminosas, a grande variedade desses vegetais consumidos em uma dieta equilibrada pode ser responsável por até 50% da ingestão total de fibras.

### 1.3. FIBRA COMO COMPONENTE DE ALIMENTOS FUNCIONAIS

Alimentos funcionais são conceituados como aqueles que, além preencherem os requisitos nutricionais necessários, apresentam uma ou mais ações benéficas no organismo que contribuam para a manutenção da saúde, promoção do bem-estar do indivíduo e/ou diminuição do risco de doenças. Eles devem apresentar ação biológica em quantidades passíveis de serem consumidas na dieta habitual e ser veiculados na forma de alimento, não de medicamento (DIPLOCK et al., 1999).

O consumo de fibras promove alguns efeitos fisiológicos benéficos no organismo; dentre eles, a diminuição da glicemia e colesterolemia pós-prandiais são bem documentadas, em particular, em trabalhos conduzidos com fibras solúveis (KNOPP et al., 1999; MORICEAU et al., 2000; BAZANNO, 2008; BUTTRISS; STOKES, 2008; THEUWISSEN; MENSINK, 2008; EUFRÁSIO et al., 2009; JEONG et al., 2010). Os mecanismos envolvidos são múltiplos e dependem da estrutura da fibra, da integridade da parede celular, e de características intrínsecas como a capacidade de aumentar a viscosidade do bolo alimentar (GUILLON; CHAMP, 2000). Possivelmente, o aumento da viscosidade no lúmen intestinal causado pelo consumo de fibras solúveis constitui barreira física à ação das enzimas digestivas, incluindo a  $\alpha$ -amilase, responsável pela digestão do amido, o que resultaria no menor incremento da glicemia pós-prandial (ALEIXANDRE; MIGUEL, 2008). O mesmo pode ser observado na colesterolemia e na trigliceridemia, uma vez que o aumento da viscosidade pode acarretar em distúrbios na formação de micelas, diminuindo a absorção de lipídeos. Além disso, aumenta-se o tempo de esvaziamento gástrico, tornando também mais lenta a absorção dos nutrientes (FAVIER et al., 1997; DONGOWSKI et al., 2002).

Alguns tipos de fibras podem ter efeito “sequestrante”, complexando-se com a glicose, ácidos graxos, sais biliares ou colesterol e, conseqüentemente, diminuindo a biodisponibilidade desses compostos (NYMAN et al., 1990; FAVIER et al., 1997). Tais efeitos estão associados à maior sensibilidade à insulina, sendo de grande valia na prevenção e no tratamento de doenças crônicas não-transmissíveis como diabetes *mellitus*, obesidade e doenças cardiovasculares, a principal causa de morbi-mortalidade em países ocidentais (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

As fibras insolúveis são notadas por ocasionar o aumento da motilidade intestinal e conseqüentemente o menor contato dos nutrientes com a mucosa absorptiva, com implicações numa menor absorção (PINTO, 2004); diminui-se também o tempo de contato entre a mucosa e compostos de elevada toxicidade ou co-carcinógenos de origem dietética, endógena ou bacteriana, como por exemplo os ácidos biliares secundários. Tal ação fisiológica constitui-se de extrema importância na prevenção do câncer de cólon e de doenças inflamatórias intestinais tais como doença de Crohn e diverticulite (FERGUSON; CHAVAN; HARRIS, 2001; BROWNLEE, 2009).

É importante destacar que a menor biodisponibilidade de colesterol e de sais biliares gerada através do consumo de fibras culmina em menores reservas hepáticas de colesterol, já que este é precursor dos ácidos biliares. Como os sais biliares são indispensáveis à emulsificação de lipídeos e formação de micelas, a maior conversão de colesterol a ácidos biliares se faz necessária. Ainda assim, a solubilização de lipídios no lúmen intestinal se torna menos eficiente, aumentando sua excreção fecal e reduzindo a chegada de remanescentes de quilomícrons no tecido hepático (JONES, 2008).

Como resultado, as enzimas envolvidas no metabolismo de ácidos biliares e de colesterol (7- $\alpha$ -hidroxilase e 3-hidroxi 3-metilglutaril CoA redutase, respectivamente) são estimuladas para aumentar a síntese endógena de colesterol. Além disso, o organismo lança mão de um mecanismo adaptativo de *up-regulation* dos receptores hepáticos de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), o que resulta em menores concentrações de LDL circulante (THEUWISSEN; MENSINK, 2008). Outras alterações observadas na homeostase de colesterol são decréscimos na secreção hepática de lipoproteínas de muito

baixa densidade (VLDL) e na conversão de VLDL a LDL (BROWN et al., 1999; RIDEOUT et al., 2007; RIDEOUT et al., 2008).

#### 1.4. AÇÃO PREBIÓTICA DA FIBRA ALIMENTAR

Algumas fibras alimentares são consideradas alimentos funcionais, pois se inserem no grupo dos prebióticos. De acordo com Gibson e Roberfroid (1995), ele pode ser definido como “um ingrediente seletivamente fermentescível que permite mudanças específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, que conferem benefícios à saúde e bem-estar do hospedeiro”. Para ser considerado um prebiótico, o composto deve apresentar algumas características, tais como: resistência à acidez gástrica, à hidrólise enzimática e à absorção durante a passagem pelo trato gastrointestinal, ser fermentado pela microbiota intestinal e estimular seletivamente o crescimento e manutenção das bactérias benéficas ao hospedeiro. Dentre elas, os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são os mais notados. Como produto de seu metabolismo, tem-se os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) butírico, propiônico e acético, que comprovadamente modulam diversas funções metabólicas (GIBSON et al., 2004).

##### 1.4.1. MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL PELA FIBRA

A microbiota intestinal compreende mais de 400 espécies e 50 gêneros, sendo a maioria ainda pouco conhecida. Sabe-se, no entanto, que ela é composta em grande parte por gêneros anaeróbios obrigatórios e que somente 30 a 40 espécies perfazem 99% da população total (TANNOCK, 1998). A composição da microbiota é de grande importância para a saúde do hospedeiro; os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são considerados essenciais à saúde intestinal, além de algumas espécies de *Streptococcus*. Por outro lado, espécies de *Bacteroides*, *Clostridium* e certas enterobactérias são consideradas danosas e podem apresentar risco à saúde, como consequência de suas atividades metabólicas (MONTESI, 2005).

O trato gastrointestinal (TGI) humano apresenta uma grande variabilidade em número e tipo de população bacteriana entre o estômago, intestino delgado e intestino grosso. O estômago contém cerca de  $10^3$  unidades formadoras de colônias por mililitro de conteúdo gástrico (UFC/mL), sendo que no intestino delgado a população aumenta para  $10^4$  UFC/mL (FLOCH, 2002). Nesses locais, a microbiota é relativamente esparsa por conta das condições desfavoráveis ao crescimento bacteriano (acidez elevada, secreções biliares e pancreáticas, atividade motora no íleo terminal) e é oriunda principalmente da cavidade oral (GUARNER; MALAGELADA, 2003). O íleo é uma região transicional, com elementos da porção superior do TGI e do intestino grosso, tais como coliformes e anaeróbios. Na válvula íleo-cecal, é possível observar um grande aumento na composição e no número de bactérias, podendo chegar a  $10^6$ - $10^7$  UFC/g no íleo terminal, com predominância de espécies gram negativas como bacteróides e enterobactérias (MITAL; GARG, 1995; FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

O intestino grosso, por sua vez, possui um ecossistema microbiano complexo e denso com população em torno de  $10^{11}$  a  $10^{12}$  UFC/g (CUMMINGS; MACFARLANE, 1991). Os bacteróides são o grupo numericamente predominante no cólon; em menores proporções, estão presentes outros gêneros anaeróbicos estritos tais como *Bifidobacterium* sp., *Clostridium* sp., *Peptococcus* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Ruminococcus* sp. e *Eubacterium* sp., além de anaeróbios facultativos como *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., coliformes e *Enterobacterium* sp. (GUARNER; MALAGELADA, 2003). Os gêneros anaeróbicos são mais dominantes na região cecal e no cólon, enquanto que os aeróbios se tornam microbiota subdominante. A proporção na qual esses gêneros se encontram varia enormemente entre indivíduos, e ainda em um mesmo indivíduo em circunstâncias diferentes, como por exemplo em casos de diarreia aguda, tratamento com antibióticos ou, em menor extensão, em intervenções alimentares. Apesar de flutuante, o padrão da microbiota em cada indivíduo permanece relativamente constante (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

O cólon proximal é caracterizado pela maior disponibilidade de nutrientes, menor pH (5,5-6,0) por conta da maior concentração de ácidos orgânicos produzidos na fermentação e trânsito mais rápido que a região distal. É ainda uma região mais sacarolítica

que a distal; essa, por sua vez, apresenta maiores taxas de proteólise bacteriana (CUMMINGS; MACFARLANE, 1991).

O equilíbrio da microbiota intestinal é frequentemente associado à manutenção da saúde do hospedeiro. Dentre os efeitos benéficos promovidos, destacam-se: a exclusão de patógenos que podem colonizar o intestino, através da função de barreira (oferecendo resistência à colonização) ou pela competição por sítios de ligação; interação com o sistema imune intestinal (tecido linfóide associado à mucosa - GALT), contribuindo para a regulação da função imune e da tolerância à entrada de patógenos e antígenos; geração de produtos fermentativos que modulam o pH do meio, e assim influenciam as reações metabólicas locais; produção de bacteriocinas e substâncias de poder antimicrobiano, dificultando a proliferação de espécies deletérias; facilitação da conversão metabólica e absorção de alguns nutrientes, tais como vitaminas e fitoestrógenos; transformação e excreção de substâncias tóxicas (nitrosaminas, ácidos biliares, amins heterocíclicas); geração de volume fecal, que pode diminuir o tempo de trânsito e conseqüentemente a exposição do lúmen intestinal à substâncias tóxicas (ZIEMER; GIBSON, 1998; MAI; MORRIS, 2004; BOSSCHER et al., 2009).

Em indivíduos saudáveis, o equilíbrio da microbiota é mantido, uma vez que as espécies patogênicas co-habitam a região colônica em equilíbrio com as espécies probióticas. Distúrbios na homeostase colônica podem causar o desequilíbrio e o crescimento exacerbado das espécies deletérias, como ocorre em doenças inflamatórias intestinais (doença de Crohn, retocolite ulcerativa). As reações inflamatórias agudas podem ser causadas por diversos gêneros incluindo *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Bacteroides*, *Clostridium* e *Escherichia* (VASILJEVIC; SHAH, 2008; BOSSCHER et al., 2009). O emprego de microrganismos probióticos tem sido sugerido como boa alternativa no tratamento dessas doenças (SANDERS, 1998).

Algumas enzimas expressas por bactérias entéricas são implicadas na geração de carcinógenos, compostos mutagênicos e agentes promotores de tumor. Um exemplo é a enzima  $\beta$ -glicuronidase, envolvida na liberação de agliconas biologicamente ativas, que apresentam potencial carcinogênico. Outros exemplos são as enzimas azoredutase e nitroredutase, que catalisam a formação de amins aromáticas (McBAIN; MACFARLANE,

1998). O elevado risco de câncer de cólon tem sido associado à presença das espécies *Bacteroides vulgatus* e *Bacteroides stercoris*. Estudos epidemiológicos apontam para a maior incidência de câncer de cólon em populações que apresentam alto consumo de carnes vermelhas e gordura, especialmente a gordura saturada. Por outro lado, a elevada ingestão de frutas, hortaliças, cereais integrais, peixes e cálcio parece ser fator protetor na gênese da doença. O efeito da dieta no processo carcinogênico pode ser mediado através de mudanças na atividade metabólica e composição da microbiota colônica (GUARNER; MALAGELADA, 2003).

A modulação da microbiota pode ser conseguida através de duas abordagens dietéticas: o uso de prebióticos e probióticos. O uso de probióticos se baseia na ingestão do microrganismo viável, que deve estar presente no alimento em concentrações de  $10^8$  a  $10^9$  UFC/g ou mL, para exercer os efeitos benéficos alegados em humanos (LEE; SALMINEM, 1995). Diversos fatores, porém, inviabilizam ou dificultam a sobrevivência e a colonização do probiótico no TGI. Por essa razão, o uso de prebióticos pode ser mais factível (OUWEHAND et al., 1999). Alguns tipos de fibra alimentar podem atuar como prebióticos, porém poucas apresentam realmente esse *status*. A inulina e os fruto-oligossacarídeos são substâncias de potencial prebiótico comprovado, bem como os transgalactooligosacarídeos e a lactulose. Os dois últimos, apesar de considerados prebióticos por conta da vasta literatura que comprova seus potenciais em humanos, não têm sua indigestibilidade totalmente comprovada (GIBSON et al., 2004).

#### 1.4.2. FIBRA ALIMENTAR E METABOLISMO DOS ÁCIDOS BILIARES

Os ácidos biliares são conhecidos como moléculas de natureza anfipática e ação tensoativa que, juntamente com os fosfolípidios, facilitam a digestão e a absorção de lipídios. Após sua ação no lúmen duodenal, grande parte das moléculas (cerca de 95%) é reabsorvida na região distal do intestino delgado e alcançam o fígado via sangue portal, e lá são recicladas. Dos hepatócitos, são secretados contra o gradiente de concentração na bile, juntamente com o colesterol e os fosfolípidios, e assim são armazenados na vesícula biliar até a chegada do quimo no duodeno (MARTÍNEZ-AUGUSTIN; MEDINA, 2008). O tipo e

a quantidade de ácido biliar que escapa do ciclo enterohepático, ou seja, que não é reabsorvido e chega ao cólon, não é constante e é influenciado por fatores dietéticos, tempo de trânsito intestinal, estados patológicos, dentre outros (HOFMAN; HAGEY, 2008).

Os ácidos biliares primários são sintetizados no fígado e constituem-se principalmente pelos ácidos cólico e quenodesoxicólico. Eles são secretados na bile geralmente conjugados com os aminoácidos glicina ou taurina, o que aumenta sua solubilidade em água; em pH fisiológico do meio duodenal, eles se encontram na forma ionizada, e em geral formam sais com cátions monovalentes, especialmente o sódio (HOFMANN, 1999). Os ácidos biliares secundários são derivados dos primários através de modificações pela microbiota intestinal, sendo as principais delas desidroxilação e desconjugação; a desconjugação bacteriana causa a menor solubilidade das moléculas em meio ácido, característico das porções mais distais do intestino. Os ácidos biliares secundários de maior importância no organismo são os ácidos litocólico (oriundo da desidroxilação do ácido quenodesoxicólico) e desoxicólico (da desidroxilação do ácido cólico) (GOWDA et al., 2009).

Certas bactérias contêm maquinaria enzimática capaz de realizar as reações de desconjugação e desidroxilação, constituindo um complexo sistema metabólico. As principais enzimas envolvidas nesses processos são as enzimas hidrolase e  $7\alpha$ -desidroxilase ( $7\alpha$ -hidroxicolanil desidroxilase), sendo a primeira responsável pela clivagem da ligação peptídica que une os aminoácidos glicina ou taurina ao núcleo esteróide da molécula do ácido biliar (TANNOCK et al., 1994). A segunda enzima catalisa a remoção do grupo  $7\alpha$ -hidroxi do núcleo esteróide, transformando os ácidos biliares primários em secundários. Essa reação é irreversível e requer ambiente anaeróbico para ocorrer. A  $7\alpha$ -desidroxilase pode ser encontrada em diversas espécies bacterianas, mas somente algumas são realmente capazes de realizar a desidroxilação (MITAL; GARG, 1995). Algumas espécies que podem atuar no metabolismo de ácidos biliares são *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Bacteroides*, *Eubacteria*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus*, *Lactobacillus* e *Streptococcus* (FLOCH, 2002). A composição do *pool* dos ácidos biliares varia quando as condições de biotransformação são modificadas, tais como alterações na microbiota e no trânsito intestinal; o trânsito mais

lento favorece o maior contato da mucosa com os ácidos biliares secundários, potencialmente tóxicos e carcinogênicos (ZHANG et al., 1993).

Durante o ciclo enterohepático, os ácidos biliares são absorvidos ativamente na mucosa ileal, transporte que é acoplado ao de sódio e promovido pela proteína ASBT (*apical sodium-dependent bile acid transporter*). As moléculas conjugadas, e portanto mais hidrofílicas, são mais eficazmente absorvidas na mucosa ileal. Outras duas proteínas são envolvidas no transporte intracelular dos ácidos biliares até sua chegada no sangue venoso portal, sendo elas a IBABP (*ileal bile acid binding protein*), que é responsável pelo transporte basolateral, e o dímero OST  $\alpha/\beta$ , que regula a saída dos ácidos biliares do enterócito (HUANG et al., 2006; KEITEL; KUBITZ; HÄUSSINGER, 2008).

A absorção ileal é rigidamente regulada a fim de se adequar às demandas fisiológicas. O principal fator envolvido é o FXR (*farnesoid X receptor*), um receptor nuclear majoritariamente expresso na mucosa ileal, mas também em outros tecidos, como fígado, glândula adrenal e rins. Em tecido hepático, a ligação dos ácidos biliares com o FXR promove o aumento da conjugação e estimula a produção de bile. Nos enterócitos, a ativação do FXR culmina em menor expressão da ASBT e maiores de IBABP e OST  $\alpha/\beta$ , resultando em menor captação ileal e prevenção do estabelecimento de níveis tóxicos intracelulares. Os ácidos biliares são os principais ligantes do FXR e principais reguladores de seu metabolismo, em mecanismo de *feedback* (HOUTEN; WATANABE; AUWERX, 2006; KEITEL; KUBITZ; HÄUSSINGER, 2008; MARTÍNEZ-AUGUSTIN; MEDINA, 2008).

Após a absorção na mucosa colônica e chegada no tecido hepático, os ácidos biliares secundários são metabolizados por vias diferentes. O ácido desoxicólico é conjugado e incorpora o *pool* circulante de ácidos biliares, compondo cerca de 20% dos ácidos biliares totais na bile humana. O ácido litocólico é conjugado, frequentemente sulfatado e excretado na bile, porém pouca quantidade é reabsorvida no íleo e grande parte é excretada nas fezes (MARTIN et al., 2007; GOWDA et al., 2009).

Devido à sua propriedade tensoativa, os ácidos biliares são de crucial importância para a absorção de lipídios e de vitaminas lipossolúveis no intestino delgado. Seus papéis fisiológicos, no entanto, não se confinam somente ao nível intestinal, sendo também

reconhecidos como sinalizadores de funções endócrinas importantes envolvidas com o metabolismo energético, de glicose e de lipídios (WATANABE et al., 2004; WATANABE et al., 2006). Eles ainda são responsáveis pela solubilização de xenobióticos lipofílicos que são secretados na bile, pela ligação com metais pesados no trato biliar e pela ligação com cátions bivalentes, como cálcio e ferro, aumentando sua absorção no intestino delgado; os ácidos quenodesoxicólico e desoxicólico podem ainda atuar como osmosensores, estimulando o colonócito a secretar água e eletrólitos no lúmen. Podem atuar ainda como agentes bacteriostáticos, promovendo proteção à mucosa gastrointestinal em concentrações fisiológicas. A manutenção da função de barreira da mucosa intestinal ocorre através do estímulo à secreção de mucinas, adesão de enteropatógenos e de enterotoxinas; evita-se assim o supercrescimento da população microbiana local e a translocação bacteriana, bem como a invasão de bactérias entéricas para os tecidos adjacentes (HOFMANN, 1999; HOFMANN; HAGEY, 2008).

Os ácidos biliares estão relacionados à maior secreção de citocinas e outros mediadores químicos envolvidos na enteroproteção, tais como a interleucina IL-18 e angiogenina 1 (INAGAKI et al., 2006). Em níveis moderadamente elevados, os ácidos biliares se mostraram protetores em hepatócitos, acelerando sua regeneração; esse efeito foi particularmente associado ao ácido cólico (HUANG et al., 2006; KIM et al., 2007).

No entanto, evidências epidemiológicas entre exposição aos ácidos biliares e doenças gastrointestinais foram traçadas na literatura, em particular os estudos que associam elevados níveis séricos e fecais dos ácidos desoxicólico e litocólico à maior incidência de câncer colorretal (FOTIADIS et al., 2008). Os ácidos biliares secundários possivelmente influenciam a tumorigênese através do estímulo à proliferação do epitélio intestinal, da inibição da apoptose e à indução ao *stress* oxidativo celular, atuando como agentes pró-inflamatórios (JANSEN, 2007). Concentrações anormalmente elevadas de ácidos biliares, tanto intra quanto extracelulares, são frequentemente observadas em pacientes com doenças hepatobiliares; quanto mais hidrofóbica a molécula do ácido biliar, maior a toxicidade do mesmo (FOTIADIS et al., 2008). McMillan et al. (2000) comprovaram que os ácidos de maior toxicidade diminuíram o efeito apoptótico do ácido butírico em linhagens celulares de adenoma AA/C1, em concentrações compatíveis com as

normalmente encontradas em pacientes com câncer colorretal; tais efeitos, porém, foram revertidos com o aumento da dosagem do ácido butírico.

Foi demonstrado que alguns tipos de fibras têm capacidade de se ligar aos ácidos biliares, diminuindo sua reabsorção no íleo e aumentando sua excreção fecal. Essa alteração no ciclo enterohepático consequentemente diminui o *pool* hepático de sais biliares. Garcia-Diez et al. (1996), avaliando o efeito hipocolesterolêmico da pectina *in vivo*, observaram um aumento significativo de 168% na excreção fecal de ácidos biliares dos animais que receberam pectina na concentração de 7% da dieta, em comparação à dieta isenta de fibra. Além disso, o consumo da pectina promoveu menores níveis séricos e hepáticos de colesterol e ainda aumento na atividade das enzimas envolvidas em seu metabolismo, sendo todos esses efeitos favoráveis à hipocolesterolemia. Já Trautwein et al. (1998) não observaram o mesmo efeito, uma vez que os animais alimentados com dieta contendo 8% de pectina não apresentaram aumento na excreção fecal de ácidos biliares em relação ao controle celulose, bem como os animais que consumiram dieta contendo goma guar. Animais que receberam *psyllium* como fonte de fibra, no entanto, apresentaram aumento significativo nas concentrações desses ácidos nas fezes, em comparação aos demais grupos.

#### 1.4.3. FERMENTABILIDADE DA FIBRA ALIMENTAR

A fermentabilidade da fibra alimentar é influenciada por fatores tais como sua solubilidade em água, fonte alimentar, composição monomérica dos sacarídeos e tipos de ligação glicosídica da cadeia, grau de polimerização e de ramificação da molécula, arranjo estrutural adquirido, presença de grupos funcionais na cadeia, grau de lignificação da parede celular, grau de processamento e tempo de trânsito intestinal (MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON; 2003). A solubilidade da molécula é grande preditora do seu grau de fermentabilidade; quanto maior a dispersibilidade em água, mais facilmente a bactéria terá condições de penetrar em sua estrutura e ter acesso ao polissacarídeo para seu metabolismo (SCHNEEMAN, 1999). No caso da fibra insolúvel, a fermentabilidade é controlada pela porosidade, tamanho da partícula e superfície disponível ao contato com a bactéria (GUILLON; CHAMP, 2000). O trânsito intestinal influencia o tipo e a quantidade

de substratos disponíveis à fermentação que chegam ao cólon, o que indiretamente influencia a atividade fermentativa da microbiota. Além de estimular o crescimento da microbiota, o trânsito intestinal acelerado diminui a absorção de AGCC e conseqüentemente o pH do lúmen intestinal; há também aumento da massa fecal (EL OUFIR et al., 2000). A celulose e as hemiceluloses podem ser digeridas em até 50 a 80%, respectivamente; já as gomas, pectina e certos oligossacarídeos podem ser totalmente fermentados pela microbiota intestinal. A lignina é pouco fermentada devido aos pequenos espaços intracelulares que limitam, além da hidratação, a ação das enzimas bacterianas (SPILLER, 2001).

Dietas humanas variam enormemente em relação aos tipos e quantidades de substratos fermentáveis, o que afeta a quantidade e o padrão dos AGCC a serem produzidos. Os carboidratos são os principais substratos para a fermentação colônica, porém polifenóis e proteínas resistentes à hidrólise enzimática são associados à fração insolúvel da fibra alimentar e podem ser fermentados pela microbiota. A proteína resistente é utilizada como fonte de nitrogênio e como fonte de energia secundária, na medida em que as fontes de origem carboidrácida vão sendo consumidas. Cerca de 3,5% da fibra insolúvel pode ser constituída de proteína resistente em vegetais (GOÑI et al., 2009). Cerca de 6 a 18g de compostos nitrogenados chegam ao cólon diariamente, sendo grande parte constituída por proteínas de origem endógena. As proteínas de origem dietética contribuem com 3 a 9g desse total. A proteólise bacteriana é mais frequente no cólon distal, e gera ácidos graxos de cadeia ramificada e alguns produtos considerados tóxicos ao organismo, dentre eles amônia e compostos sulfurados (EGERT, 2006; KOVATCHEVA-DATCHARY et al., 2009).

Dentre os substratos mais utilizados na fermentação colônica, destaca-se o amido resistente. Cerca de 5 a 20% do amido dietético não é digerido e absorvido no intestino delgado, alcançando o intestino grosso e atuando como fibra alimentar (SAURACALIXTO, 2006; MENEZES et al, 2010). Estudos comprovam que a fermentação do amido resistente leva à maior produção dos ácidos graxos acético e, principalmente, butírico; podem ser observadas mudanças na concentração luminal desses ácidos, em sua excreção ou em ambos, o que reflete modificações na produção, absorção e no trânsito

intestinal (LE BLAY et al., 1999; GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001). O grau de fermentação varia de acordo com o tipo de amido resistente em questão (forma naturalmente encontrada no alimento, amido retrogradado ou amido quimicamente modificado) (MENEZES et al., 2010).

A fibra dietética é o segundo substrato energético mais utilizado pela microbiota. As fibras insolúveis, apesar de pouco fermentadas, podem se ligar a substratos fermentescíveis, tais como oligossacarídeos não digeríveis e o próprio amido resistente, e carregá-los durante a passagem pelo trato gastrointestinal até o sítio de fermentação. Já as fibras solúveis, em geral, são mais amplamente fermentadas. Estudo de Kishimoto et al. (1995) demonstrou que a fermentação de fibras solúveis como dextrinas resistentes e pectina ocorre em maior extensão do que a fermentação da fibra de milho, tida como insolúvel. A produção de AGCC foi significativamente maior em material cecal de ratos alimentados com as fibras solúveis, em comparação aos animais que receberam a fibra insolúvel, e ainda aos animais que receberam dieta isenta de fibra. Harris, Tasman-Jones e Ferguson (2000), visando avaliar o efeito de diferentes tipos de fibras no metabolismo fermentativo, observaram concentrações similares de AGCC em ceco de ratos alimentados com fibra de trigo (insolúvel) em relação ao grupo controle (isento de fibra), enquanto que em grupo suplementado com pectina, observou-se um aumento de 3 vezes na concentração dos AGCC em relação ao controle. Os autores salientam que, embora a produção de AGCC não tenha diferido entre os grupos controle e fibra de trigo, a proporção de ácido butírico foi cerca de 3 vezes maior no grupo que recebeu fibra de trigo.

Os gêneros bacterianos sacarolíticos predominantes são *Bacteroides* sp., *Bifidobacterium* sp., *Eubacterium* sp., *Lactobacillus* sp. e *Clostridium* sp.. A maioria das espécies sacarolíticas atua no cólon proximal e metaboliza carboidratos pela via *Embden-Meyerhoff-Parnas*, originando como principais produtos finais AGCC de cadeia linear e gases, principalmente CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> (EL OUFIR et al., 2000). O grupo majoritário de bactérias sacarolíticas pertence ao gênero *Bifidobacterium*, que constitui 25% da população bacteriana total no adulto e 95% no recém-nascido; esse gênero metaboliza a glicose pela via da frutose-6-fosfato (via bífida), devido à presença da enzima frutose-6-fosfato fosfocetolase. Essa enzima catalisa a reação de hidrólise da frutose no extremo não

reduzido de alguns açúcares em posição  $\beta$ -2,1, originando como principais produtos finais os ácidos acético e lático (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

#### 1.4.4. PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA

Os AGCC são ácidos orgânicos com 1 a 6 átomos de carbono e são os principais produtos do metabolismo fermentativo das bactérias colônicas, a partir da fermentação de polissacarídeos, oligossacarídeos, proteínas, peptídeos e glicoproteínas. O processo fermentativo envolve uma série de reações em meio anaeróbico, com a degradação da matéria orgânica à energia utilizável pela microbiota intestinal para seu crescimento e manutenção, além de outros produtos como água e os gases metano, H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. Os principais efeitos dos AGCC se dão ao nível intestinal e se relacionam com a função colônica, embora também possam ser substrato metabólico para outros tecidos (WONG et al., 2006).

A produção de AGCC é determinada por fatores tais como número e tipo de microrganismos presente no cólon e ceco, fonte de substrato e tempo de trânsito intestinal. Ceco e cólon proximal são os principais sítios de fermentação; no cólon distal, água e substratos para a fermentação são escassos. Apesar de a produção dos AGCC não ser uniforme dentre as diferentes regiões do intestino grosso, as concentrações *in situ* podem até ser semelhantes, uma vez que a capacidade absorptiva pode variar entre as regiões. De modo geral, porém, a concentração total de AGCC no cólon proximal é maior que no distal, acarretando em menores valores de pH nesse local (TOPPING; CLIFTON, 2001).

A absorção dos AGCC no cólon e ceco é muito eficiente, sendo 5 a 10% excretado nas fezes. Por essa razão, intervenções em humanos são menos precisas, já que a dosagem de AGCC em fezes não reporta, necessariamente, a real concentração dos mesmos *in loco* (TOPPING; CLIFTON, 2001). Alguns mecanismos absorptivos propostos são difusão passiva dos ácidos protonados através da membrana lipídica, troca iônica ou difusão paracelular da forma aniônica. O processo absorptivo no cólon está associado ao transporte de água, à maior absorção de sódio e maior excreção de bicarbonato, e parece ser maior no cólon distal que no proximal (CUMMINGS et al., 1987; VELAZQUEZ et al., 1997;

SENGUPTA et al., 2006). Uma vez absorvidos, os AGCC podem ser metabolizados nos seguintes tecidos: células epiteliais do ceco e cólon, que utilizam o ácido butírico (70 a 90%) como principal fonte energética; hepatócitos, que metabolizam o ácido butírico residual e o ácido propiônico na gliconeogênese, e ainda 50 a 70% do ácido acético captado pelo tecido; células musculares, que oxidam o ácido acético residual para geração de energia. A energia oriunda da oxidação dos ácidos graxos supre 60 a 70% da energia necessária para o metabolismo dos colonócitos, reduz a oxidação da glicose, e poupa piruvato e glutamina, sugerindo uma hierarquia no uso de combustíveis energéticos (WONG et al., 2006).

O ácido acético é o principal AGCC produzido pela microbiota; ele é rapidamente absorvido e transportado para o fígado, sendo pouco utilizado pelos colonócitos. A presença de acetil CoA sintetase no citoplasma de glândulas mamárias e tecido adiposo permite a utilização do acetato na lipogênese, uma vez na circulação sistêmica; a acetil CoA sintetase mitocondrial no músculo esquelético, rins e coração permite sua utilização como substrato energético. Em estudos com humanos o ácido acético é usado para monitorar eventos colônicos, pois é o ácido graxo mais abundante em sangue periférico (TOPPING; CLIFTON, 2001; VOGT et al., 2004).

O ácido acético é substrato primário para síntese de colesterol; no entanto, alguns estudos comprovam o papel dos AGCC na inibição da síntese de colesterol e na diminuição da trigliceridemia. Essa ação hipolipidêmica varia de acordo com o substrato utilizado na fermentação, uma vez que diferentes substratos podem gerar diferentes padrões de produção de AGCC, e conseqüentemente diferentes efeitos fisiológicos. A fermentação da lactulose, por exemplo, aumenta a produção de acetato e a captação hepática do mesmo, estimulando a lipogênese hepática (JENKINS et al., 1991; VOGT et al., 2004). Fibras solúveis com propriedades de aumentar a viscosidade, como o *psyllium* e goma guar, podem reduzir a lipidemia por aumentar a excreção fecal de ácidos biliares. Além disso, a fermentação das fibras viscosas gera maior quantidade de propionato, que é atribuída à hipolipidemia, superando o efeito do acetato na lipogênese (ROBERFROID et al., 2010).

O ácido propiônico é relatado como sendo inibidor da síntese de colesterol no tecido hepático, culminando no efeito hipolipidêmico. Ele parece modular a atividade de

enzimas-chave na biossíntese de colesterol, a saber, as enzimas 3-hidroxi 3-metilglutaril CoA (HMGCoA) redutase e sintase (BROWN et al., 1999; THEUWISSEN; MENSINK, 2008). Aparentemente a razão acetato:propionato é mais preditora do efeito hipocolesterolêmico e hipolipidêmico do que o propionato isoladamente. Estudo de Wolever et al. (1991) relatou que a infusão retal de 180 mmol de propionato em humanos não afetou as concentrações séricas de lipídios, mas com a combinação de 60 mmol de propionato e 180 mmol de acetato, houve decréscimo da lipídemia e impediu-se o aumento de LDL-c observado com a infusão de acetato sozinho. Em estudo posterior, Wolever et al. (1996) observaram correlação positiva entre a razão acetato:propionato e o nível de colesterol sanguíneo em homens. Outros autores, no entanto, observaram efeito inverso e ainda sugerem um possível papel hipocolesterolêmico também para o acetato (BRIDGES et al., 1992, HARA et al., 1998).

Outro efeito fisiológico importante atribuído ao ácido propiônico diz respeito ao seu papel na homeostase glicídica. Ele parece ter funções contrárias e competitivas, atuando tanto como substrato quanto inibidor na gliconeogênese. Como substrato, ele participa da via entrando no ciclo de Krebs ao nível de succinil CoA, e assim forma-se glicose *de novo*. Seu papel inibitório tem a ver com seus produtos de metabolismo intermediário, metilmalonil CoA e succinil CoA, inibidores da piruvato carboxilase. Em ruminantes, o propionato é o principal precursor da gliconeogênese, mas o metabolismo em humanos é menos compreendido (TOPPING; CLIFTON, 2001; WONG et al. 2006).

O ácido butírico é primariamente metabolizado pelos colonócitos e parece estar envolvido na proteção e manutenção da integridade da mucosa colônica; ele é frequentemente associado à prevenção do câncer de cólon, uma vez que atua no metabolismo, na proliferação e no controle da diferenciação celular de colonócitos (CHERBUT, 2002; GOÑI; MARTÍN-CARRÓN, 2001). Foi demonstrado que o ácido butírico pode exercer efeito apoptótico em células tumorais no câncer colorretal, concomitante ao estímulo à proliferação celular em linhagens normais, especialmente na mucosa atrófica devido à privação de energia. Tal efeito foi chamado de “paradoxo do butirato”, e pode ser explicado através das diversas condições de experimento: ensaios *in vitro* x *in vivo*, estágio de desenvolvimento do câncer e momento de administração do ácido

butírico, quantidade a ser fornecida, tempo de administração, fonte de fibra alimentar oferecida, interação com lipídeos da dieta. Em outras palavras, os efeitos na proliferação e apoptose celular parecem estar mais relacionados às condições nas quais essas linhagens se encontram, e não necessariamente às diferenças entre células normais e neoplásicas (LUPTON, 2004; SENGUPTA et al., 2006). Outros mecanismos atribuídos ao butirato na proteção ao câncer colorretal estão ligados à maior produção de mucina e à modulação da expressão de genes relacionados ao *stress*, à carcinogênese e ao metabolismo de drogas (FERGUSON et al., 2001; SCHARLAU et al., 2009).

O ácido butírico também está implicado na prevenção e tratamento de doenças inflamatórias intestinais, tais como colite ulcerativa e doença de Crohn, por conta do efeito trófico na mucosa e da ação anti-inflamatória exercida. Possivelmente, ele atua inibindo a produção e a secreção de mediadores inflamatórios, como as citocinas interleucina-6 (IL-6), IL-8 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) (GALVEZ et al., 2005).

Estudos populacionais comprovam que a proporção de ácidos graxos produzidos se dá em torno de 60:20:15 dos ácidos acético, propiônico e butírico, respectivamente (EASTWOOD, 1992). Outros ácidos orgânicos, tais como os ácidos láctico, valérico ou succínico, podem ser encontrados em menores quantidades, bem como ácidos graxos de cadeia ramificada, como o isobutírico e isovalérico. Mudanças dietéticas podem acarretar em mudanças no padrão de produção e na absorção dos compostos (TOPPING; CLIFTON, 2001; ROBERFROID et al., 2010).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar a composição da fibra da folha de taioba e algumas propriedades funcionais biológicas *in vivo* promovidas pelo consumo da folha liofilizada.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter e caracterizar quimicamente a folha de taioba liofilizada;
- Purificar e fracionar a fibra em solúvel e insolúvel, através de método enzimico-gravimétrico;
- Determinar parcialmente a composição da fibra mediante o uso de método enzimico-químico;
- Desenvolver ensaio biológico para determinar o efeito do consumo da folha de taioba liofilizada:
  - No perfil de ácidos graxos no cólon e no ceco dos animais;
  - Na composição dos ácidos biliares no cólon e no ceco dos animais;
  - Na modulação da microbiota intestinal dos animais, visando avaliar um possível efeito prebiótico.

### 3. MÉTODOS

#### 3.1. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA FOLHA DE TAIOBA LIOFILIZADA

As folhas de taioba foram adquiridas na Central de Abastecimento de Campinas S.A. – CEASA, Campinas, SP. Para obtenção do liofilizado, as folhas foram lavadas, picadas, coccionadas e secas em liofilizador (Modelo LP 1010, Liobrás Ind. e Com. Ltda, São Carlos, SP) para posterior moagem em micro-moinho (Modelo TE 048, Tecnal, Piracicaba, SP), para obtenção de pó com granulometria de 10 mesh.

Os teores de proteína bruta, umidade e cinzas foram determinados segundo os métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995) e o teor de lipídeos determinado conforme metodologia de Bligh & Dyer (1959). O conteúdo de carboidratos totais foi estimado por diferença. Para cálculo do teor protéico, foi utilizado o fator de conversão nitrogênio: proteína de 5,22, adequado para hortaliças (SOSULSKI; IMAFIDON, 1990).

Os aminoácidos totais presentes na farinha foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) após hidrólise em meio ácido e derivatização com fenilisotilcianato, segundo metodologia modificada de White, Hart e Kry (1986) e Hangen, Frost e Augustin (1989).

#### 3.2. ANÁLISE QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA FRAÇÃO FIBROSA DA FOLHA DE TAIOBA

A fibra alimentar foi caracterizada quantitativa e qualitativamente por duas abordagens metodológicas.

### 3.2.1. MÉTODO ENZÍMICO-GRAVIMÉTRICO

O método utilizado foi o descrito por Prosky et al. (1988) e recomendado pela AOAC (Método 985.29), cujo princípio se baseia na digestão enzimática da amostra com fim de extrair o amido e a fração protéica, seguida da precipitação em etanol, acetona e separação das fibras solúvel e insolúvel. As enzimas utilizadas no procedimento foram  $\alpha$ -amilase termoestável, protease e amiloglicosidase (Sigma, Missouri, EUA). Os valores encontrados na análise são corrigidos para cinzas e proteínas conforme preconizado pela metodologia.

### 3.2.2. MÉTODO ENZÍMICO-QUÍMICO

Utilizou-se o método descrito por Englyst, Quigley e Hudson (1994). A amostra foi submetida às etapas de digestão enzimática e precipitação em solução ácida de etanol, de forma semelhante ao método descrito anteriormente. Em seguida, procedeu-se com a hidrólise ácida da fibra em ácido sulfúrico durante 30 minutos a 35°C, com liberação dos monômeros constituintes. Os monômeros foram identificados e quantificados através de análise por HPLC (cromatógrafo Dionex modelo ICS3000, Sunnyvale, Califórnia, EUA; coluna Dionex modelo CarboPac PA1, 4x250mm, Sunnyvale, Califórnia, EUA; detector PAD; eletrodo de referência AgCl; descrição da forma de onda: Potencial Padrão Quaternário). Utilizou-se como fase móvel a água (fluxo de 0,7mL/min) e reação pós coluna com NaOH 200mM (fluxo de 0,3mL/min). O volume de injeção foi de 25 $\mu$ L e as temperaturas do forno e do detector foram de 21°C.

A lignina foi quantificada por método gravimétrico (THEANDER et al., 1995).

### 3.3. ENSAIO BIOLÓGICO

Realizou-se ensaio biológico para determinar as características nutricionais primárias da fibra na taxa de crescimento do rato e conversão alimentar, bem como seu possível efeito como prebiótico.

### 3.3.1. DELINEAMENTO DO ENSAIO E DIETAS

Foram utilizados ratos Wistar recém-desmamados com 21 dias, livres de patógenos específicos (SPF), provenientes do Centro Multidisciplinar de Investigação Biológica (CEMIB/UNICAMP). Após um período de 3 dias de adaptação, os animais foram divididos randomicamente em 5 grupos distintos:

- Grupo 1 (G1): dieta AIN 93-G padrão com 5% de celulose (controle negativo);
- Grupo 2 (G2): dieta AIN 93-G modificada com 2,5% de celulose 2,5% de inulina (controle positivo 5% de fibra);
- Grupo 3 (G3): dieta AIN 93-G modificada com 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba (experimental 5% de fibra). Para fornecimento de 2,5% de fibra, a folha de taioba foi adicionada de modo a constituir 7% da dieta;
- Grupo 4 (G4): dieta AIN 93-G com 5% de celulose e suplementação com 2,5% de fibra de taioba (experimental 7,5% de fibra). Para fornecimento de 2,5% de fibra, a folha de taioba foi adicionada de modo a constituir 7% da dieta;
- Grupo 5 (G5): dieta AIN 93-G com 5% de celulose e suplementação com 2,5% de inulina (controle positivo 7,5% de fibra).

As dietas foram preparadas segundo as recomendações da AIN 93-G (REEVES et al., 1993) com concentração de proteína de, no mínimo, 12% (GOENA, 1989). A quantidade de caseína adicionada às dietas não foi modificada nos diferentes grupos pelo fato de que a adição ou substituição de 2,5% de fibra de taioba não acarretaria em alterações significativas no teor protéico (incremento de 1,4% de proteína).

Na Tabela 3 é apresentada a formulação das dietas utilizadas no presente estudo.

Tabela 3. Composição das dietas utilizadas durante 28 dias de ensaio biológico

Ingredientes (g/kg)	Dietas				
	Grupo 1 (G1)	Grupo 2 (G2)	Grupo 3 (G3)	Grupo 4 (G4)	Grupo 5 (G5)
Óleo de soja	70	70	70	70	70
Celulose	50	25	25	50	50
Inulina	---	25	---	---	25
Fibra de taioba	---	---	25	25	---
AIN-93 Mix Minerais	35	35	35	35	35
AIN-93 Mix Vitaminas	10	10	10	10	10
L-cistina	3	3	3	3	3
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
TBHQ	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
Caseína (89%)	134,83	134,83	134,83	134,83	134,83
Amido de milho	438,48	438,48	438,38	413,73	422,81
Maltodextrina	145,62	145,62	145,62	137,4	140,42
Sacarose	110,42	110,42	110,42	104,18	106,47

AIN 93-G (REEVES et al., 1993).

A inulina (Raftline®HP-Gel) foi cedida pela Orafti (Clariant S.A., São Paulo, Brasil) e foi utilizada no grupo controle positivo devido ao seu potencial prebiótico comprovado em literatura (MUNJAL et al., 2009).

Foram utilizados 9 animais em cada grupo, em ensaio com duração de 28 dias, temperatura do ambiente controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade relativa entre 40 e 60%, em ciclo claro/escuro de 12 horas, tendo os animais livre acesso à dieta e à água. Todas as dietas tiveram sua composição centesimal determinada. Durante o período de experimento, o consumo de dieta e água, bem como do ganho ponderal, foram registrados a cada 2 dias.

### 3.3.2. FINAL DO PERÍODO EXPERIMENTAL

No dia do sacrifício, os animais permaneceram em jejum por 12 horas e, após eutanásia, foram coletadas as porções proximais do intestino grosso (ceco e cólon) para a realização de análises referentes ao perfil de ácidos graxos na região, composição de ácidos

biliares e microbiota (métodos descritos a seguir). Para as análises de AGCC e ácidos biliares, os conteúdos cecais (n=6-7/grupo) e colônicos (n=9/grupo) dos animais foram coletados utilizando-se tesouras e pinças estéreis e armazenados em tubos plásticos, na temperatura de -80°C até o momento das análises.

Para as análises microbiológicas, o conteúdo cecal de 2-3 animais/grupo foi coletado próximo à chama do bico de Bunsen, utilizando-se tesouras, pinças e espátulas estéreis, transferido para placas de Petri estéreis e imediatamente armazenado em jarra de anaerobiose (Probac do Brasil, São Paulo, SP) com gerador de anaerobiose Anaerobac (Probac do Brasil, São Paulo, SP). A jarra de anaerobiose foi mantida à temperatura de -80°C até o momento das análises (SPANHAAK et al., 1998). As fezes dos animais foram coletadas e pesadas 48 horas antes do sacrifício.

O ensaio biológico foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (CEUA/IB/UNICAMP), Protocolo Número 2140-1 (em anexo).

### 3.3.3. DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA EM CÓLON E CECO

Foi realizada de acordo com a metodologia da AOAC (1997). Foram pesados 100-200mg de amostra, adicionados 2,5mL de acetona e homogeneizado em vórtex, com posterior incubação em banho ultrassom por 15 minutos. As amostras foram submetidas à filtração em membrana de 0,45µm, transferência para o vial e posterior injeção de alíquota de 5µL em cromatógrafo gasoso (Young Lin, modelo 6000 series GC System Controller, detector FID, Anyang, Coréia), utilizando-se coluna Ohio Valley Capilar OV- 1 Bonded (30 m x 0,32 µm x 0,50 µm, Ohio, EUA). As condições cromatográficas foram as seguintes: temperaturas do injetor e do detector de 260 e 285°C, respectivamente; fluxo de 2,0mL/min; temperatura do forno de 60°C nos primeiros 5 minutos, com aumento de 15°C/min até 100°C, sendo mantida a temperatura por 1 minuto, e posterior aumento de 100°C/min até 320°C, sendo mantida a temperatura por 10 minutos. O gás carreador utilizado foi o gás hélio e a razão de split foi de 15:1. Os AGCC foram identificados e

quantitativamente determinados pela comparação dos tempos de retenção e das áreas dos picos da amostra, com os padrões (ácidos acético, propiônico e butírico; Sigma, Missouri, EUA).

#### 3.3.4. DETERMINAÇÃO DOS ÁCIDOS BILIARES EM CÓLON E CECO

Foi realizada de acordo com a metodologia de Batta et al. (1999). Foram pesados 100-200mg de amostra, adicionados de 0,8mL de N- butanol e 0,15mL de ácido clorídrico, sendo incubados em banho-maria a 60°C por 4 horas, com agitação suave. Após a hidrólise ácida, as amostras foram centrifugadas (4000gx5min) e alíquotas de 0,2mL foram retiradas para posterior secagem sob fluxo de nitrogênio. O resíduo foi adicionado de 0,2mL de solução derivatizante hexametildisilazano:trimetilclorosilano:piridina (Sigma, Steinheim, Alemanha) na proporção de 3:1:9 v/v, e a mistura foi incubada em banho-maria a 55°C por 30 minutos com agitação suave, seguido de secagem sob fluxo de nitrogênio. Ao trimetilsilil derivado formado, foram adicionados 0,2mL de hexano (Fisher Scientific, Nova Jersey, EUA), com posterior filtração em membrana de 0,45µm, transferência para o vial e injeção de alíquota de 2µl em cromatógrafo gasoso (Young Lin, modelo 6000 series GC System Controller, detector FID). Utilizou-se a coluna SGE Capilar BD20 (60m x 0,25 µm x 0,25 µm, SGE International Pty. Ltda, Austrália), gás hélio e razão de split 5:1. As condições cromatográficas foram as seguintes: temperaturas do injetor e detector de 260°C e 285°C, respectivamente; fluxo de 2,0 mL/min; temperatura do forno de 150°C nos primeiros 2 minutos, com posterior aumento de 20°C/min até 278°C, sendo mantida a temperatura por 50 minutos. Os ácidos biliares foram identificados e quantitativamente determinados pela comparação dos tempos de retenção e das áreas dos picos da amostra, com os padrões (ácidos cólico, quenodesoxicólico, desoxicólico e litocólico; Sigma, Missouri, EUA).

### 3.3.5. CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL

Os conteúdos intestinais de 2-3 animais por grupo foram descongelados e homogeneizados a fim de se formar um *pool*. Um grama do *pool* cecal foi transferido assepticamente para sacos estéreis (Nasco, EUA), suspenso em 99 mL de água peptonada e homogeneizado durante 6-12 minutos em homogeneizador de amostras para análise microbiológica (Nova Ética, Brasil). Diluições seriadas foram preparadas para plaqueamento em superfície (0,1mL) nos meios específicos para cada microrganismo, conforme descrito a seguir.

Para a contagem de *Lactobacillus* sp., foi utilizado o ágar Man Rogosa e Sharp (MRS, Acumedia, EUA) com incubação a 37°C/48h em anaerobiose (YOSHIOKA; ISEKI; FUJITA, 1983); para as bifidobactérias, foi utilizado o meio *Bifidobacterium* medium 25 (BIM-25) com incubação a 37°C/72h em anaerobiose (MUNOA; PARES, 1988); para as enterobactérias, foi usado o ágar MacConkey (Acumedia, EUA) com incubação a 37°C/48h (BRIGIDI et al., 2001); para a contagem de clostrídios, foi utilizado o ágar *Reinforced Clostridium Agar* (RCA, HiMedia Lab Ltda., Índia) com incubação a 37°C/48h em anaerobiose (MARZOTTO et al., 2006); por fim, para o gênero *Bacteroides* sp., foi utilizado o ágar *Bile Esculin Agar* (BBE, Acumedia, EUA) com incubação a 37°C/72h em anaerobiose (LIVINGSTON et al., 1978).

### 3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste *post hoc* de Duncan, utilizando-se o software SPSS 11.0 *for Windows*. As diferenças foram consideradas significativas seguindo o nível de significância de  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA FOLHA DE TAIOBA LIOFILIZADA

A composição centesimal da folha de taioba liofilizada encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4. Composição centesimal média da folha de taioba liofilizada

<b>Composição</b>	<b>g/100g em base seca</b>
<b>Carboidratos</b>	53,89 ± 1,42
<b>Proteínas</b>	24,52 ± 1,48
<b>Lipídeos</b>	10,63 ± 0,26
<b>Cinzas</b>	8,24 ± 0,06
<b>Umidade</b>	2,72 ± 0,07

Valores expressos em média ± EP

Diversos autores têm estudado a composição química de vegetais folhosos e os benefícios de seu consumo na alimentação humana. O teor protéico encontrado na folha de taioba foi maior que os teores encontrados nas folhas de repolho, couve, nabo e amendoim, relatados em pesquisa de Mosha e Gaga (1999). Pinto et al. (2001), em estudo que avaliou a composição centesimal da folha de taioba, encontraram teor de proteína maior do que o observado no presente trabalho (28% em base seca), divergindo também no teor de cinzas (15%) e de lipídios (6%). Já Leterme et al. (2005) obtiveram resultado similar ao encontrado no presente estudo para o teor de proteína na folha de taioba (cerca de 24% em base seca). Kala e Prakash (2004) observaram menores teores de lipídios em folhas de amaranto, espinafre e shepu, uma hortaliça amplamente utilizada na Índia, em comparação à folha de taioba. Em relação ao teor protéico, somente a folha de shepu apresentou superioridade ao teor encontrado no presente estudo.

A folha de taioba apresentou maior teor de cinzas em comparação às folhas de couve e repolho, e menor teor em comparação às folhas de espinafre e amaranto (MOSHA; GAGA, 1999; KALA; PRAKASH, 2004). Gupta et al. (2005), avaliando a composição química de hortaliças de consumo pouco difundido na Índia, encontraram teores de cinzas e lipídeos menores que os observados na folha de taioba, sendo o teor de proteínas bastante variável entre as espécies estudadas.

Os teores de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel da folha de taioba liofilizada encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Teores médios de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel da folha de taioba liofilizada

<b>Fibra alimentar</b>	<b>g/100g em base seca</b>
<b>Total</b>	35,23 ± 0,26
<b>Solúvel</b>	6,82 ± 0,06
<b>Insolúvel</b>	28,40 ± 0,21

Valores expressos em média ± EP

A fibra alimentar total compõe 35,23% do liofilizado, com predominância da fração insolúvel (28,4%) em relação à solúvel (6,82%). Khanum et al. (2000) avaliaram o teor de fibra em diferentes alimentos comumente consumidos na Índia. Dentre os vegetais folhosos analisados, as folhas de repolho, shepu e feno-grego apresentaram valores de fibra alimentar total e fibra insolúvel próximo aos encontrados na folha de taioba; o repolho, diferentemente das demais, apresentou maior teor de fibra solúvel em comparação à taioba. Já as folhas de couve-flor, amaranto e espinafre apresentaram maior conteúdo de fibra alimentar total e de fibra insolúvel, sendo a proporção de fibra solúvel similar à encontrada na folha de taioba. É possível observar que os vegetais analisados no referido estudo, assim como a taioba, apresentaram predominância da fração insolúvel da fibra alimentar; a fração insolúvel compõe de 79 a 88% da fibra total, para as folhas de repolho e shepu, respectivamente, enquanto que na folha de taioba, o percentual encontrado foi de 81%.

Tanya, Mbofung e Keshinro (1997), visando conhecer o teor de fibra alimentar em alimentos tipicamente consumidos em Camarões, encontraram teores ligeiramente maiores de fibra alimentar total para a folha de mirtilo (39%), sendo maior a proporção de fibra insolúvel (35%) e menor a de fibra solúvel (4%), em comparação à folha de taioba. A folha de taioba apresentou ainda menores teores de fibra total e suas frações em comparação às folhas de amaranto e dente-de-leão (ESCUADERO et al.,1999; ESCUADERO et al., 2003), e valor semelhante ao de fibra total encontrado em folha de batata-doce (MOSHA et al., 1995).

#### 4.2. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO AMINOACÍDICA DA FOLHA DE TAIOBA LIOFILIZADA

A composição aminoacídica da folha de taioba liofilizada encontra-se na Tabela 6.

Tabela 6. Composição aminoacídica média da folha de taioba liofilizada e da caseína (g de aminoácido/100g de amostra seca)

<b>Aminoácidos</b>	<b>Folha de taioba (g/100g)</b>	<b>Caseína (g/100g)</b>
<b>Asp</b>	1,9 ± 0,1	6,2 ± 0,0
<b>Glu</b>	2,4 ± 0,0	19,8 ± 0,0
<b>Ser</b>	1,0 ± 0,0	4,8 ± 0,0
<b>Gly</b>	1,2 ± 0,0	1,4 ± 0,0
<b>His</b>	0,4 ± 0,0	2,2 ± 0,0
<b>Arg</b>	1,5 ± 0,0	3,1 ± 0,0
<b>Tre</b>	0,9 ± 0,0	3,7 ± 0,0
<b>Ala</b>	1,5 ± 0,0	2,4 ± 0,0
<b>Pro</b>	1,0 ± 0,0	9,1 ± 0,0
<b>Tir</b>	1,0 ± 0,0	4,7 ± 0,0
<b>Val</b>	1,3 ± 0,0	5,5 ± 0,0
<b>Met</b>	0,2 ± 0,0	2,4 ± 0,0

Cont. Tabela 6. Composição aminoacídica média da folha de taioba liofilizada e da caseína (g de aminoácido/100g de amostra seca)

<b>Aminoácidos</b>	<b>Folha de taioba (g/100g)</b>	<b>Caseína (g/100g)</b>
<b>Cys</b>	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0
<b>Ile</b>	1,0 ± 0,0	4,7 ± 0,0
<b>Leu</b>	2,0 ± 0,0	7,9 ± 0,0
<b>Phe</b>	1,3 ± 0,0	4,0 ± 0,0
<b>Lys</b>	1,6 ± 0,0	6,8 ± 0,0
<b>Total</b>	20,3 ± 0,2	89,0 ± 0,0

Valores expressos em média ± EP

Diferenças foram detectadas no conteúdo de proteína através da determinação de Kjeldahl ( $24,52 \pm 1,48\%$ ) e do aminograma ( $20,27 \pm 0,2\%$ ). Observa-se que pelo método de Kjeldahl o teor de proteínas é maior, pelo fato de que este método quantifica o nitrogênio protéico e não protéico. A folha de taioba, por conter grandes quantidades de clorofila, a qual possui nitrogênio em sua estrutura química, apresenta alto teor de nitrogênio não protéico.

Analisando-se o aminograma da folha de taioba, é possível observar que os aminoácidos presentes em quantidades mais expressivas foram os ácidos aspártico e glutâmico, arginina, alanina, leucina e lisina. Freiburger et al.(1998) avaliaram o perfil aminoacídico de sete hortaliças comumente consumidas na Nigéria. Dentre as hortaliças estudadas, a espécie *Corchorus tridens* apresentou o maior conteúdo de proteína (19-25% em base seca), dado esse semelhante ao encontrado no presente estudo; a maioria dos folhosos avaliados, no entanto, não apresentou teor maior que 15%. A espécie *Corchorus tridens* também apresentou o perfil de aminoácidos que mais se assemelhou ao da folha de taioba, seguida das espécies *Amaranthus viridus*, *Moringa oleifera* e *Maerua crassifolia*.

Comparando-se a composição aminoacídica da folha de brócolis com a da folha de taioba, pode-se observar que a folha de brócolis possui menores concentrações de todos os aminoácidos analisados, com exceção da histidina (CAMPAS-BAYPOLI et al., 2009). O perfil aminoacídico da folha de batata-doce demonstra grande similaridade ao perfil

apresentado pela folha de taioba, sendo que somente os aminoácidos arginina e lisina foram encontrados em maiores concentrações na folha de taioba, enquanto que ácido aspártico, serina e cisteína estavam presentes em menores quantidades (ISHIDA et al., 2000).

O perfil aminoacídico da folha de taioba demonstra que, embora ela contenha aminoácidos indispensáveis, eles não estão presentes em quantidades significativas, assim como em grande parte das proteínas de origem vegetal (WHO/FAO, 2007; HOUNSOME et al., 2008). No presente estudo, a adição da folha de taioba liofilizada na dieta incrementou em 1,4% o teor protéico total, além do mínimo recomendado de 12% (GOENA, 1989). Por isso, optou-se por não considerar a contribuição da proteína da farinha de taioba no teor protéico total, devido tanto à pequena quantidade adicional quanto à baixa qualidade da proteína vegetal, contrapondo-se à da caseína.

#### 4.3. COMPOSIÇÃO MONOMÉRICA DA FIBRA DA FOLHA DE TAIOBA

A composição monossacarídica da molécula influencia em sua estrutura química e conformacional, e conseqüentemente em suas propriedades físico-químicas e funcionais (KNUDSEN, 2001). Por essa razão, é de suma importância conhecer-se o perfil monomérico da fibra alimentar. A análise da fibra alimentar vem sendo conseguida através de diferentes abordagens metodológicas. O uso da cromatografia gasosa é antigo, sofrendo diversas adaptações ao longo dos anos (THEANDER; WESTERLUND, 1986; THEANDER et al., 1995). A cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica mais recente e amplamente relatada na literatura (JAIME et al., 2002; RUPÉREZ; TOLEDANO, 2003; YADAV; JOHNSTON; HICKS, 2007; NISHIBATA et al., 2009).

Na Tabela 7 é apresentada a composição de monossacarídeos neutros e de lignina na folha de taioba.

Tabela 7. Composição de monossacarídeos neutros e lignina da fibra da folha de taioba (g/100g de amostra seca)

<b>Monossacarídeo/Lignina</b>	<b>g/100g em base seca</b>
<b>Arabinose</b>	0,12 ± 0,01
<b>Xilose</b>	0,73 ± 0,06
<b>Manose</b>	0,61 ± 0,05
<b>Galactose</b>	0,28 ± 0,03
<b>Glicose</b>	11,80 ± 0,60
<b>Fucose</b>	0,08 ± 0,01
<b>Frutose</b>	5,68 ± 0,60
<b>Total monossacarídeos neutros</b>	19,29 ± 2,00
<b>Lignina</b>	3,14 ± 0,30

Valores expressos em média ± EP

Através da análise da Tabela 7, observa-se que a glicose é o monômero mais abundante (61%), sugerindo a presença de celulose e hemicelulose em grande quantidade na folha de taioba. A frutose aparece como o segundo monossacarídeo mais abundante (29%), seguida dos demais monômeros, em concentrações menos expressivas. Os monossacarídeos neutros (totais) constituíram cerca de 19,29% da folha de taioba liofilizada.

Villanueva-Suárez et al. (2003) analisaram diferentes porções de vegetais em relação ao conteúdo de fibra alimentar por métodos cromatográficos distintos. As folhas de alface, aipo e acelga foram avaliadas em relação ao seu conteúdo de monossacarídeos neutros oriundos da fração fibrosa por cromatografia gasosa e líquida. Em comparação aos resultados obtidos no presente trabalho, a fibra da folha de taioba apresentou menores teores de arabinose e galactose que os três folhosos estudados, enquanto que o teor de xilose foi menor em comparação aos encontrados nas fibras das folhas de aipo e alface; o teor desse monossacarídeo na fibra da folha de acelga foi semelhante ao da fibra de taioba. A concentração de manose na fibra de taioba foi similar às encontradas nas fibras de aipo e alface, enquanto que na fibra de acelga, esse monossacarídeo foi encontrado em menor

concentração. Já em relação à glicose, a fibra da folha de taioba apresentou maior teor desse monômero, sendo ele cerca de duas vezes maior em comparação as fibras das demais folhas. Por fim, o percentual de monossacarídeos neutros provenientes da fibra da folha de taioba dobrou em comparação ao encontrado em folhas de alface e acelga, também sendo maior que o encontrado na folha de aipo. Os monossacarídeos predominantes na fibra da folha de alface foram glicose, galactose e xilose, similarmente à fibra da folha de taioba. Já na fibra de aipo e acelga, os monômeros mais abundantes foram glicose, arabinose e galactose. Ambos os métodos cromatográficos (gasoso e líquido) empregados no referido trabalho apresentaram resultados semelhantes para a maioria dos monômeros analisados. Os autores também concluíram que as folhas avaliadas apresentaram teor de monossacarídeos neutros semelhante ao encontrado nos frutos analisados, porém significativamente menor do que os teores encontrados nos órgãos subterrâneos, nos talos e nas inflorescências avaliadas.

Femenia et al. (1998) pesquisaram a composição monossacarídica e o teor de lignina em diferentes porções de couve-flor, alcachofra e chicória. A fibra da folha de chicória apresentou maiores concentrações de todos os monômeros analisados em comparação à folha de taioba, bem como o percentual de monossacarídeos neutros presentes na fibra. O teor de lignina também foi bastante superior ao encontrado na folha de taioba, chegando a 8%. Os outros vegetais analisados apresentaram maiores concentrações de monossacarídeos neutros em outras porções, tais como caules e inflorescências.

Kontraszti, Hudson e Englyst (1999), em estudo que comparou diferentes metodologias para análise da fibra alimentar, investigaram o perfil de monossacarídeos neutros constituintes da fibra de 17 alimentos, sendo 4 folhosos. Dentre eles, as folhas de endro e alface apresentaram maiores concentrações de todos os monômeros analisados em relação à folha de taioba, com exceção da glicose. O somatório dos monossacarídeos neutros, no entanto, foi inferior ao total encontrado na fibra da folha de taioba. As fibras das folhas de couve-rábano e salsa apresentaram perfil semelhante, porém o percentual de xilose foi também inferior na couve-rábano, e o teor de manose encontrado na fibra da folha de salsa foi semelhante ao da taioba.

No presente trabalho, os métodos de Prosky et al. e Englyst et al. foram utilizados para análise de fibra alimentar (PROSKY et al., 1988; ENGLYST; QUIGLEY; HUDSON, 1994). Esses métodos originam resultados distintos, já que se baseiam em propostas diferentes de mensuração da fibra. Estudo de Kontraszti, Hudson e Englyst (1999) determinou o conteúdo de fibra alimentar em dietas húngaras; pelo método de Prosky et al. (1988), o consumo médio diário de fibra alimentar era de 25g/dia, enquanto que pelo método de Englyst et al. (1994) era de 13g/dia. Apesar das diferenças entre as metodologias, ambas são bastante empregadas na literatura e para fins de rotulagem. O método de Prosky et al. foi adotado como referência pela AOAC (método 985.29) e visa quantificar a fibra alimentar total como o somatório de polissacarídeos indigeríveis e lignina. O objetivo do método de Englyst et al. é mensurar polissacarídeos não amido, que constituem a maior parte da parede celular dos vegetais e são os maiores contribuintes ao percentual de fibra na dieta. De acordo com Englyst e Hudson (1996), a determinação dos polissacarídeos não amido pode ser um bom marcador para avaliação da ingestão de fibra alimentar em um grupo ou população.

O método de Prosky et al. (1988) apresenta vantagens como o baixo custo e maior simplicidade em relação ao de Englyst et al. (1994). É importante ressaltar, no entanto, que o método enzimico-químico oferece maiores informações quanto à fibra presente no alimento, permitindo melhor elucidação de sua composição química. Além disso, o método de Prosky et al. se baseia na quantificação de resíduo de composição não definida, podendo estar presentes no mesmo outras substâncias não oriundas da fração fibrosa que co-precipitam com o uso dos solventes empregados, levando à quantificação errônea da fibra. Em alimentos amiláceos, esse método pode ser pouco confiável, uma vez que a etapa de remoção do amido pode ser ineficiente e o resíduo conter parte do amido não hidrolisado (GOÑI et al., 2009).

Como mencionado anteriormente, é de se esperar que ambas as metodologias utilizadas forneçam resultados diferentes. A folha de taioba apresentou percentuais de 35% de fibra alimentar e 19% de monossacarídeos neutros provenientes da fibra alimentar pelos métodos enzimico-gravimétrico e enzimico-químico, respectivamente. Além dos fatores explicitados acima, os valores discrepantes obtidos podem também ser justificados pelo

fato de que a composição de monossacarídeos ácidos (ácidos glicurônico e galacturônico, por exemplo) não foi definida no presente trabalho. O teor de lignina também é incluído como resíduo insolúvel no método de Prosky et al., enquanto que no método de Englyst et al. a lignina não é incluída. Marlett e Vollendorf (1993) determinaram os teores de ácidos urônicos e lignina em diversos alimentos, incluindo hortaliças. Os teores de ácidos urônicos variaram entre 6% para a folha de beterraba a 17% para a folha de mostarda; a faixa média encontrada foi de 7-9% para as hortaliças analisadas, sendo esse o teor aproximado de ácidos urônicos em repolho, acelga, alface e espinafre. Já o percentual de lignina variou entre 1% para o repolho a 4% para a acelga, sendo o valor médio encontrado de 3% em folha de mostarda, alface e espinafre, similarmente ao observado para a folha de taioba.

O conceito clássico de fibra alimentar, no qual se baseiam os métodos para sua determinação, restringe a inclusão de compostos de origem não carboidrácida e outros não originalmente incluídos nesse grupo, tais como oligossacarídeos não digeríveis, alguns açúcares-álcool, amido resistente, proteína resistente, polifenóis e uma série de compostos semi-sintéticos incluindo polidextrose e carboximetilcelulose. No entanto, diversos trabalhos apontam para a existência de certas características em comum dessas substâncias com aquelas tradicionalmente classificadas como fibra alimentar. Muitas dessas substâncias resistem à hidrólise enzimática no trato gastrointestinal, são pouco absorvidas e chegam ao cólon, onde podem ser fermentadas pela microbiota e promover efeitos benéficos sistêmicos (PROSKY, 1999). Por essa razão, a expansão desse grupo de modo a abranger uma série de outras substâncias é defendida por diversos autores. Para tal, faz-se necessário o desenvolvimento de novas metodologias mais condizentes com os conceitos emergentes, permitindo-se sempre que possível a quantificação desses compostos em uma única análise (SAURA-CALIXTO et al., 2000; GOÑI et al., 2009). É importante ressaltar também que somente a composição monomérica não prediz a estrutura da fibra ou as características físico-químicas por ela apresentadas; para tal, faz-se necessário o uso de técnicas mais refinadas, a fim de se investigar, por exemplo, os tipos de ligações glicosídicas que unem as moléculas.

#### 4.4. ENSAIO BIOLÓGICO

Foi realizado ensaio biológico a fim de se avaliar possíveis efeitos benéficos do consumo da folha de taioba liofilizada.

##### 4.4.1. GANHO DE PESO DOS ANIMAIS, CONSUMO DE DIETA, EFICIÊNCIA ALIMENTAR E PESO DAS FEZES

Os resultados do ganho médio de peso corporal dos animais, consumo médio diário de ração e eficiência alimentar são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Ganho médio de peso dos animais, consumo diário de ração, eficiência alimentar e peso das fezes

<b>Grupo</b>	<b>Ganho de peso corporal (g)</b>	<b>Consumo (g)</b>	<b>Eficiência alimentar (ganho/g de dieta)</b>	<b>Peso das fezes (g)</b>
<b>G1</b>	184,3 ± 4,9 <sup>a</sup>	20,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>a</sup>	12,4 ± 1,3 <sup>bc</sup>
<b>G2</b>	174,7 ± 7,8 <sup>a</sup>	19,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,01 <sup>a</sup>	8,5 ± 0,8 <sup>c</sup>
<b>G3</b>	183,9 ± 6,6 <sup>a</sup>	20,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,00 <sup>a</sup>	13,5 ± 1,9 <sup>b</sup>
<b>G4</b>	184,3 ± 4,4 <sup>a</sup>	21,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,01 <sup>a</sup>	17,4 ± 1,6 <sup>a</sup>
<b>G5</b>	185,5 ± 5,9 <sup>a</sup>	20,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,01 <sup>a</sup>	12,1 ± 0,9 <sup>bc</sup>

Média ± EP; letras iguais em mesma coluna demonstram que não há diferença estatística entre os grupos; P<0,05. ). **Grupo 1 (G1)**: animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2)**: animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3)**: animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4)**: animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5)**: animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.

O ganho médio de peso corporal dos animais, assim como o consumo médio diário de ração, foi similar entre os grupos; logo, pode-se assumir que a folha de taioba liofilizada, nas concentrações utilizadas no presente estudo, não apresentou efeito sacietógeno nos animais. A celulose e a inulina, nas concentrações utilizadas, também não influenciaram

esses parâmetros de crescimento dos animais. Alguns estudos, diferentemente do observado, mostram que a ingestão de fibras pode reduzir o consumo dietético devido ao aumento na saciedade e redução do apetite. Anderson, Jones e Riddel-Mason (1994), porém, avaliando o efeito da ingestão de farelo de trigo e farelo de aveia, não encontraram diferenças significativas para o consumo alimentar e o ganho de peso corporal entre os animais em estudo, demonstrando que a fibra nem sempre exerce efeitos inibitórios sobre o apetite e a saciedade. A presença dos diferentes carboidratos não digeríveis nas diferentes dietas não alterou a eficiência das mesmas, já que os valores encontrados para o quociente de eficiência alimentar (QEA) não diferiram entre os grupos em estudo.

Os pesos médios das fezes dos animais apresentaram diferenças significativas entre os grupos em estudo. O grupo 4, que recebeu dieta contendo 7,5% de fibra total e 2,5% de fibra de taioba, apresentou peso fecal significativamente superior aos demais grupos. O grupo 3, que também recebeu dieta contendo fibra da folha de taioba, porém teor total de fibra na dieta de 5%, obteve o segundo maior valor; esse resultado, no entanto, não diferiu significativamente para os grupos 1 e 5, cujas dietas continham celulose (5% de fibra total) e inulina (7,5% de fibra total), respectivamente. Entretanto, o grupo 3 apresentou peso médio das fezes significativamente superior em relação ao grupo 2, que recebeu dieta contendo inulina e 5% de fibra total. Esse último, por sua vez, apresentou o menor peso das fezes entre os grupos estudados.

Os resultados obtidos podem ser explicados pela contribuição da fibra insolúvel no volume do bolo fecal. A folha de taioba é composta principalmente dessa fração fibrosa, que pode ter estimulado a formação de bolo fecal e a aceleração do trânsito intestinal. Além disso, o grupo 4 recebeu dieta contendo o maior teor de fibra total (7,5%), que de forma geral também influencia em ambos efeitos fisiológicos.

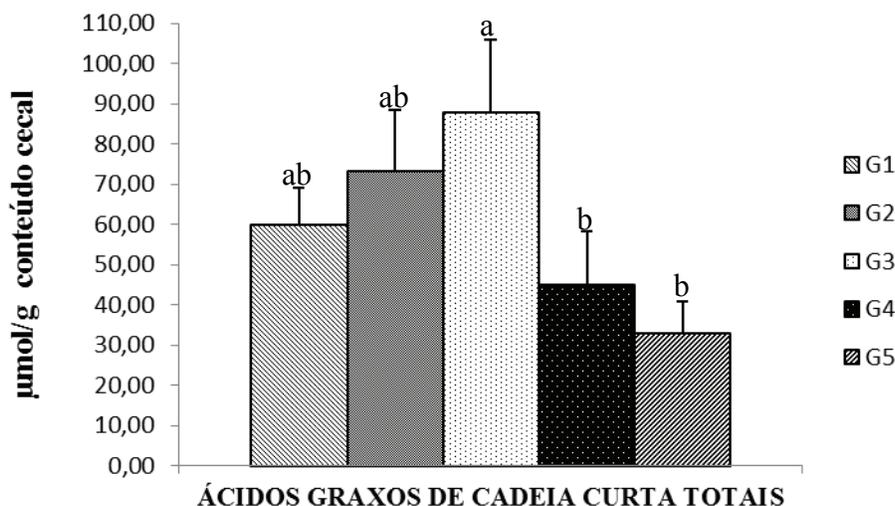
O efeito da fibra alimentar no volume das fezes e no trânsito intestinal está diretamente relacionado com o tipo de fibra presente no lúmen. Os polissacarídeos completamente ou quase completamente fermentados aumentam o peso fecal principalmente através do aumento da massa bacteriana. Em contrapartida, os polissacarídeos pouco fermentados no cólon podem aumentar a massa fecal através de sua incorporação ao bolo fecal (SCHNEEMAN, 1999). Knudsen (2001) relata que esse

aumento está na ordem de 0,3g/g de material fermentável para as fibras solúveis e 1,0g/g de material fermentável para as insolúveis, demonstrando o efeito mais pronunciado das fibras insolúveis na formação do bolo fecal e na aceleração do trânsito intestinal.

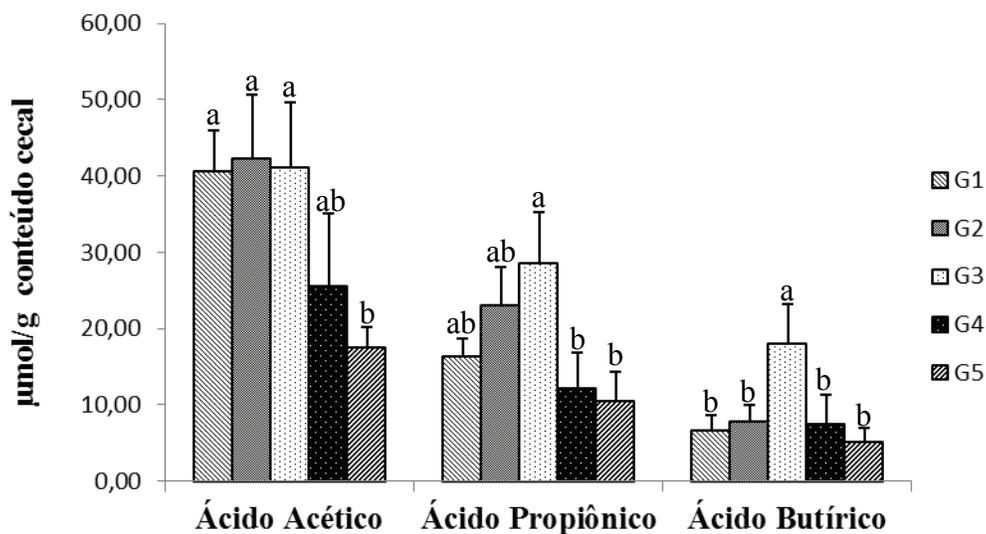
#### 4.4.2. PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO CECO E CÓLON DOS ANIMAIS

Os AGCC possuem importante papel fisiológico, atuando como nutrientes do epitélio colônico, como moduladores do pH luminal e intracelular, moduladores do volume celular e outras funções associadas ao transporte de íons, como reguladores da proliferação e diferenciação celular, e reguladores da expressão gênica (WONG et al., 2006). O aumento na concentração dos AGCC diminui o pH luminal, que indiretamente influencia a composição da microbiota intestinal (por exemplo, inibindo o crescimento da população do potencialmente patogênico *Clostridium* sp.), diminui a solubilidade dos ácidos biliares livres (em meio ácido, tornam-se menos solúveis e portanto menos disponíveis à ação microbiana necessária à formação dos ácidos biliares secundários), e a atividade da enzima-chave do metabolismo de ácidos biliares secundários (*7- $\alpha$ -desidroxilase*). A presença dos AGCC também aumenta a absorção de minerais, e reduz a absorção de amônia através da dissociação protônica de amônia e outras aminas (TOPPING; CLIFTON, 2001).

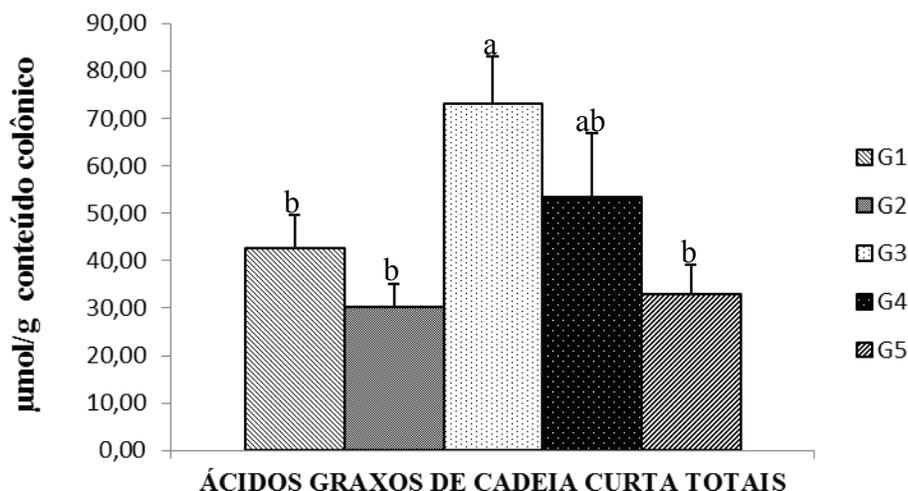
No presente trabalho, visou-se determinar a concentração dos AGCC no ceco e cólon de animais alimentados com diferentes fontes de fibra alimentar como um parâmetro de avaliação da capacidade fermentativa da microbiota intestinal desses animais, a fim de se avaliar um possível potencial prebiótico da fibra da folha de taioba. Nas Figuras 1 e 2, estão apresentados os resultados da análise do material cecal dos animais, enquanto que as Figuras 3 e 4, os resultados da análise em material colônico.



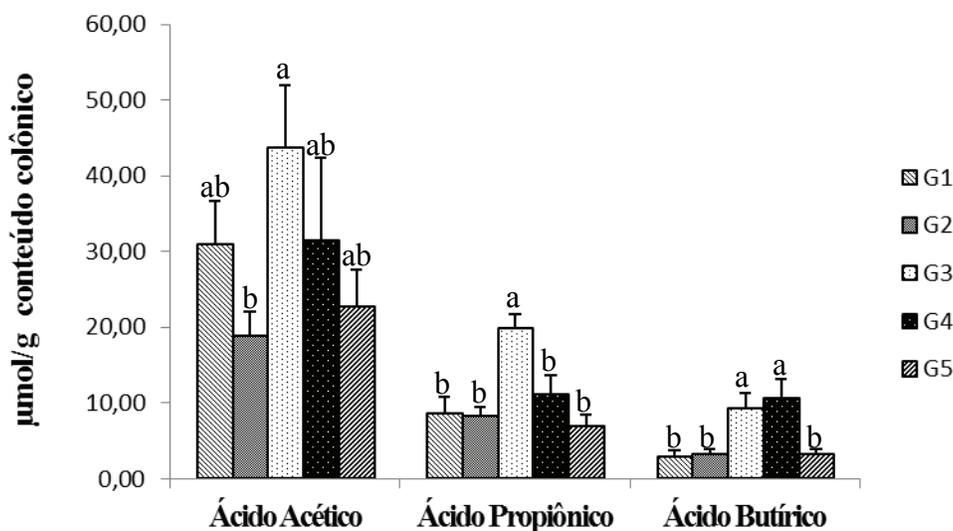
**Figura 1:** Produção de ácidos graxos de cadeia curta totais no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média ± EP. N= 6-7. Barras com letras diferentes representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ). **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.



**Figura 2:** Produção de ácidos graxos de cadeia curta no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média ± EP. N= 6-7. Barras com letras diferentes representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) para cada ácido graxo. **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.



**Figura 3:** Produção de ácidos graxos de cadeia curta totais no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média ± EP. N= 9. Barras com letras diferentes representam diferença estatística (P<0,05). **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.



**Figura 4:** Produção de ácidos graxos de cadeia curta no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média ± EP. N= 9. Barras com letras diferentes representam diferença estatística (P<0,05) para cada ácido graxo. **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.

Pelos dados apresentados na Figura 2, é possível verificar que o ácido acético foi o ácido graxo predominante no ceco dos animais de todos os grupos, com percentuais variando de 47 a 68% dos ácidos graxos totais para os grupos 3 e 1, cujas dietas continham folha de taioba e celulose, respectivamente. O ácido propiônico foi o segundo ácido mais produzido, perfazendo 27 e 33% dos AGCC totais nos respectivos grupos 4 e 3; ambos receberam folha de taioba. O ácido butírico, por sua vez, apresentou as menores proporções, com percentuais de 11% no grupo 2 (que recebeu inulina) e 20% no grupo 3. No cólon, a concentração do ácido acético foi maior no grupo 1 (72%) e menor no grupo 4 (59%), a de ácido propiônico maior nos grupos 2 e 3 (27%) e menor no grupo 1 (20%), e a do ácido butírico maior no grupo 4 (20%) e menor no grupo 1 (7%) (Figura 4).

Essa tendência vai de acordo com a literatura, indicando que o ácido acético é o ácido produzido em maior quantidade, seguido do ácido propiônico e por fim do ácido butírico (CHAUD et al., 2007). A proporção de acetato:propionato:butirato encontrada no ceco variou de 23:16:10 para o grupo 3 a 62:25:10 para o grupo 1. Já no cólon, a variação se deu em torno de 30:10:10 no grupo 4 a 105:29:10 no grupo 1. Bourquin, Titgemeyer e Fahey (1993), em estudo que avaliou a fermentabilidade *in vitro* de diversos vegetais, encontraram perfis de fermentação que variavam de 66:14:10 para couve-flor a 113:16:10 para a alface; a razão molar média dos vegetais analisados foi de 76:14:10. Nota-se, no presente estudo, perfis mais favoráveis para os grupos que receberam as dietas com taioba (grupos 3 e 4), uma vez que a dieta oferecida proporcionou a maior produção dos ácidos propiônico e butírico em detrimento do acético.

A produção de AGCC no ceco dos animais do grupo 3 foi maior em termos absolutos comparando-o aos demais grupos, e significativamente maior em relação aos grupos 4 e 5, que continham os maiores teores de fibra na dieta (Figura 1). Uma possível explicação para esse fato é que o incremento da fibra (suplementação) na concentração utilizada (adição de 2,5%) pode não ter sido suficiente para aumentar o metabolismo fermentativo da microbiota intestinal. Outra hipótese é que a maior proporção de celulose presente nas dietas desses grupos não favoreceu a atividade fermentativa, por ser pouco utilizada como substrato pela microbiota intestinal.

No cólon, a produção de AGCC foi significativamente maior no grupo 3 em comparação aos demais grupos, com exceção do grupo 4, cuja dieta também foi formulada com taioba (Figura 3). O grupo 4, por sua vez, obteve a segunda maior concentração de AGCC totais, o que sugere a capacidade da folha de taioba liofilizada em ser fermentada eficientemente pela microbiota intestinal. Curiosamente, a atividade fermentativa nos animais do grupo 4 foi maior no cólon do que no ceco, ao contrário dos demais grupos, que apresentaram maior atividade fermentativa no ceco.

É importante destacar que o grupo 3 apresentou as maiores concentrações dos ácidos propiônico e butírico no ceco, sendo significativamente superior em comparação aos grupos 4 e 5, no primeiro caso, e a todos os grupos, no caso do ácido butírico (Figura 2). No cólon, o grupo 3 obteve aumento significativo do ácido propiônico em relação aos demais grupos, bem como do ácido butírico; nesse último caso, o aumento foi acompanhado pelo grupo 4 (Figura 4). Tais resultados são de extrema importância no presente trabalho, já que ambos ácidos graxos parecem estar associados a efeitos fisiológicos benéficos no organismo, tais como a modulação das concentrações séricas de lipídios e do controle glicêmico, a manutenção do trofismo intestinal e da integridade da mucosa colônica, dentre outros (DONGOWSKI; JACOBASCH; SCHMIEDL, 2005). Logo, sugere-se que a folha de taioba pode ser bem aproveitada como substrato energético para a fermentação. Possivelmente, a folha de taioba apresenta outros compostos bioativos, além da fração fibrosa, que possam exercer efeitos positivos no metabolismo bacteriano, tais como oligossacarídeos não digeríveis e compostos fenólicos.

Bravo, Abia e Saura-Calixto (1994), relatam que diversos compostos bioativos associados à fração fibrosa de hortaliças apresentam propriedades funcionais semelhantes às apresentadas por compostos classicamente considerados como parte da fibra alimentar, tais como polissacarídeos não digeríveis e lignina; igualmente à fibra alimentar, essas substâncias não são digeridas pelas enzimas do trato gastrointestinal e alcançam o cólon, sendo parcial ou totalmente fermentadas. Adicionalmente, elas conferem propriedade antioxidante e efeito modulatório da microbiota intestinal. Alguns de seus produtos fermentativos que apresentam efeitos sistêmicos benéficos são os ácidos fenilacético, fenilpropiônico e fenilbutírico, e as urolitinas A e B (SAURA-CALIXTO, 2011).

A literatura abrange diversos trabalhos que investigam a fermentabilidade de diferentes fontes de fibra; pectinas e gomas são fibras solúveis amplamente utilizadas em estudos e, em geral, demonstram boa capacidade fermentativa e promovem considerável incremento nos AGCC (TITGEMEYER et al., 1991; STARK; MADAR, 1993; ANNISON; TRIMBLE; TOPPING, 1995; MÅRTENSSON et al., 2002; HENNINGSSON; BJÖRCK; NYMAN, 2002; PYLKAS; JUNEJAS; SLAVIN, 2005). O potencial fermentativo do amido resistente também tem sido amplamente investigado por diversos autores, sendo seu efeito butirogênico de grande interesse (WEAVER et al., 1992; FERGUSON et al., 2000; HENNINGSSON; NYMAN; BJÖRCK, 2001; JACOBASCH et al., 2006). Estudos que utilizam vegetais folhosos como fonte de fibra, no entanto, são escassos.

Ezz El-Arab (2009) utilizou a folha de malva judia (*Corchorus olitorius*) na elaboração de dietas e avaliou sua fermentabilidade *in vivo*. A malva judia é um vegetal folhoso verde-escuro muito consumido em regiões como Egito, Tunísia, Ásia, África e América Central, dentre outras. Ela foi liofilizada e incorporada à dieta de animais na concentração de 10%, de modo que a oferta de fibra na dieta experimental foi de 4,6%. A folha liofilizada foi caracterizada quimicamente e os teores das fibras solúvel e insolúvel foram de 18 e 28%, respectivamente. O autor observou um aumento significativo de 3 vezes no *pool* cecal de todos os AGCC, especialmente o ácido acético, em comparação à celulose; foi ainda observado efeito hipocolesterolêmico nos animais que receberam dieta com folha de malva judia. Logo, o autor sugere que a fibra dessa folha e outros componentes associados, tais como fitoesteróis, possam influenciar positivamente no perfil lipídico e na saúde do consumidor.

Paturi et al. (2010) realizaram estudo que objetivou avaliar o consumo da fibra de brócolis em animais recebendo dietas com 5 ou 30% de lipídeos. As dietas continham extrato da fibra de brócolis ou celulose como fontes de fibra, ambas na concentração de 7,5% da dieta. Os animais que receberam a fibra de brócolis apresentaram aumento nas concentrações de todos os AGCC em comparação à celulose. A produção dos ácidos butírico e acético não foi influenciada pelo teor de lipídios na dieta, já o ácido propiônico obteve maior concentração na dieta de maior teor lipídico.

É possível observar também que os grupos 2 e 5, que receberam dieta contendo inulina, não apresentaram concentrações dos AGCC superiores em comparação ao grupo 1 (controle negativo). Isso é contraditório com a literatura, uma vez que a inulina é uma substância de potencial prebiótico comprovado e passível de incrementar a produção de AGCC (KIM; SHIN, 1998; KOLIDA et al., 2002; CUMMINGS; MACFARLANE, 2002; LOSADA; OLLEROS, 2002; MACFARLANE, STEED; MACFARLANE, 2008). Por conseguinte, esperava-se que as concentrações dos referidos ácidos fossem maiores nesses grupos. Provavelmente, a adição de 2,5% de inulina na dieta, apesar de representar 50% da quantidade de fibra recomendada em dietas para roedores, não foi suficientemente alta para demonstrar o efeito prebiótico esperado. Gråsten et al. (2002), visando avaliar a fermentabilidade de fibras de cereais, observaram que a inulina utilizada como controle positivo não demonstrou o efeito prebiótico esperado em quase todos os resultados obtidos, mesmo estando presente em elevada concentração na dieta (10%). A produção de AGCC no cólon de animais que receberam dieta com inulina não diferiu significativamente daqueles que receberam dietas contendo fibras de centeio e aveia, apesar de significativamente maior em comparação à dieta com fibra de trigo. Os resultados do referido trabalho indicaram que não somente o tipo de carboidrato e sua solubilidade influenciam a capacidade fermentativa do mesmo, mas também a presença de outros componentes funcionais, tais como compostos fenólicos e outros elementos-traço, os quais estão ausentes na inulina isolada.

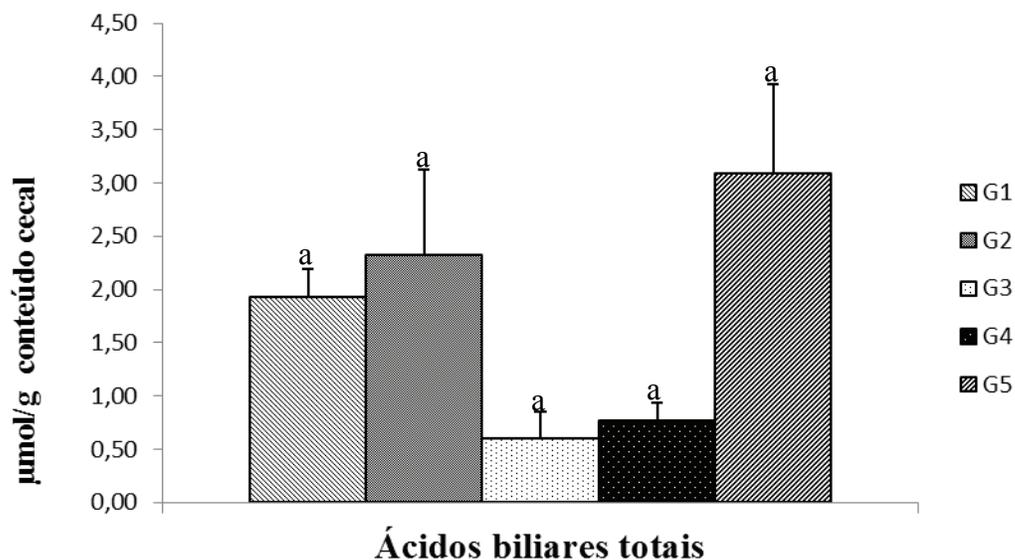
#### 4.4.3. PERFIL DE ÁCIDOS BILIARES NO CECO E CÓLON DOS ANIMAIS

Os ácidos biliares são um grupo de moléculas estruturalmente semelhantes, com núcleo esteróide oriundo do colesterol, podendo conter de 1 a 3 grupos hidroxila. Os ácidos biliares primários são sintetizados no fígado a partir do colesterol e são diidroxí ou triidroxíácidos, tais como os ácidos quenodesoxicólico e cólico, respectivamente. A síntese hepática repõe a pequena quantidade que não é reabsorvida no ciclo entero-hepático, ocasionando uma conservação intestinal que permite que cada molécula desempenhe sua função várias vezes; cada molécula de ácido biliar completa cerca de 4 a 12 ciclos ao dia

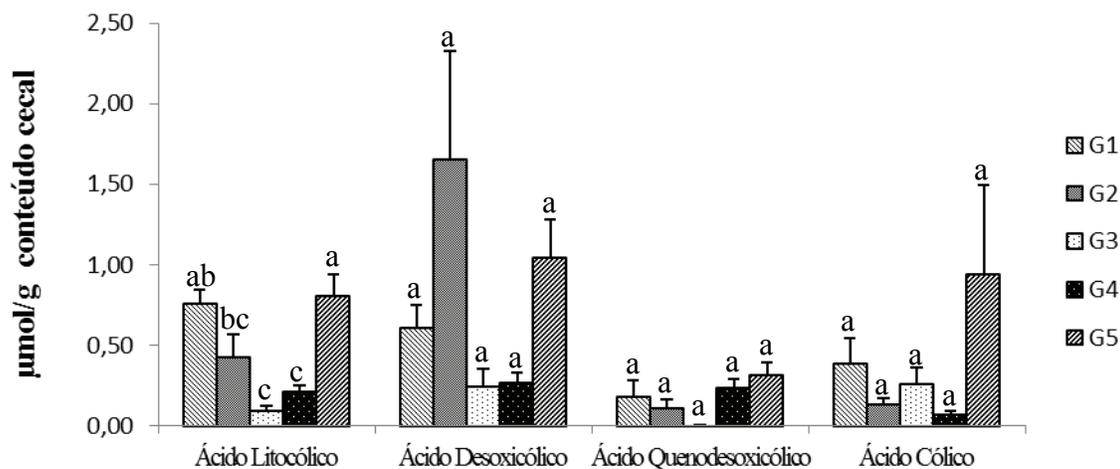
(HOUTEN; WATANABE; AUWERX, 2006). Os ácidos biliares secundários são produtos da desconjugação e desidroxilação bacteriana, processos esses que têm sítio no cólon. Na bile humana, ácidos biliares primários e secundários são normalmente conjugados com glicina ou taurina, constituindo-se os principais metabólitos encontrados. A conjugação hepática pode ocorrer tanto na cadeia lateral quanto no núcleo esteróide (HOFMANN; HAGEY, 2008).

Os ácidos biliares mais abundantes na bile humana são os ácidos cólico, quenodesoxicólico e desoxicólico, enquanto que o ácido litocólico encontra-se em pequenas quantidades, juntamente com outros ácidos biliares secundários, como por exemplo o ácido ursodesoxicólico. Nas fezes, os majoritariamente encontrados são os ácidos biliares secundários litocólico e desoxicólico, estando presentes menores quantidades dos ácidos biliares primários, bem como de outros derivados da transformação bacteriana (PERWAIZ et al., 2002). Em outras palavras, os ácidos biliares primários são eficientemente absorvidos no íleo, e pouca quantidade dos mesmos passa para as porções mais distais do intestino. A fração que escapa do ciclo entero-hepático é desconjugada pela microbiota colônica, sendo parte passivamente absorvida no cólon, parte excretada nas fezes (MOUNDRAS et al., 1997).

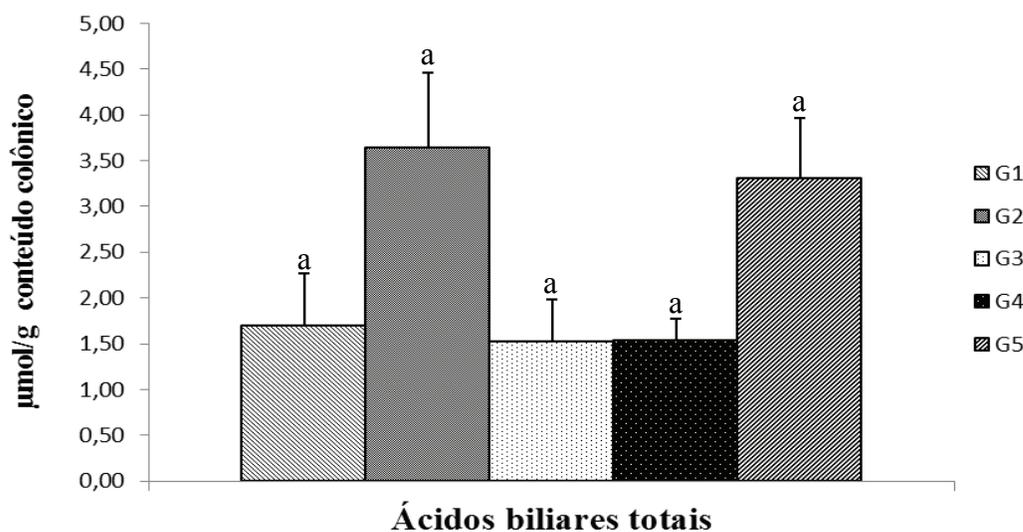
Visou-se, no presente trabalho, avaliar o efeito da fibra da folha de taioba no metabolismo dos principais ácidos biliares. Nas Figuras 5 e 6, são demonstrados os resultados obtidos nas análises realizadas no ceco e as Figuras 7 e 8, no cólon dos animais em estudo.



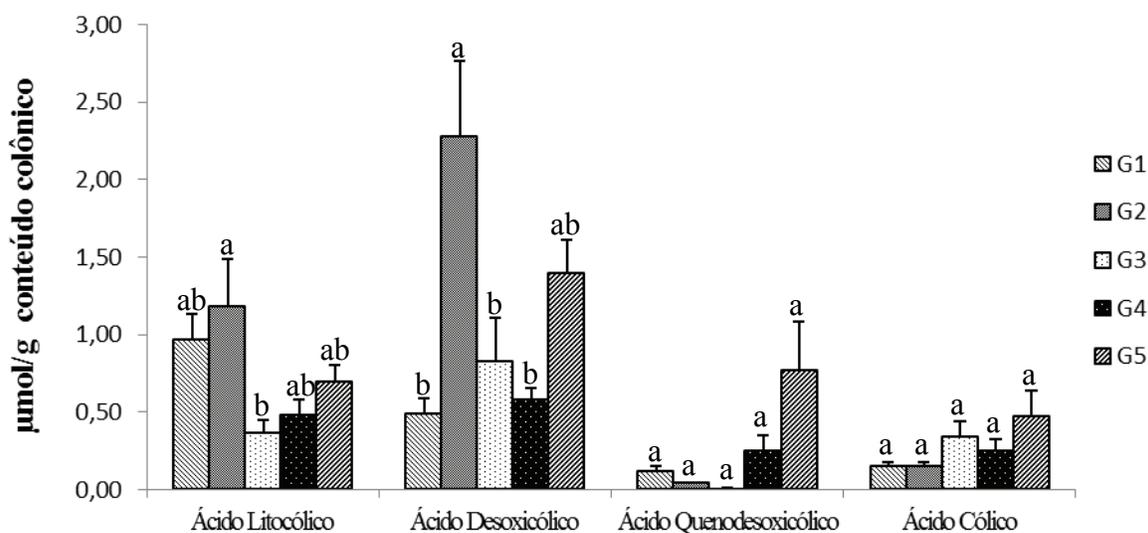
**Figura 5:** Conteúdo de ácidos biliares totais no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média ± EP. N= 6-7. Barras com letras diferentes representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ). **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.



**Figura 6:** Conteúdo de ácidos biliares no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média ± EP. N= 6-7. Barras com letras diferentes representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) para cada ácido biliar. **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.



**Figura 7:** Conteúdo de ácidos biliares totais no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média  $\pm$  EP. N= 9. Barras com letras diferentes representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ). **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.



**Figura 8:** Conteúdo de ácidos biliares no cólon de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Média  $\pm$  EP. N= 9. Barras com letras diferentes representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) para cada ácido biliar. **Grupo 1 (G1):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2 (G2):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3 (G3):** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4 (G4):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5 (G5):** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.

Observando-se a Figura 8, é possível constatar que o ácido litocólico foi encontrado em maior concentração no cólon dos animais do grupo 2, cuja dieta continha inulina. Esse aumento só foi significativo, porém, em relação aos animais do grupo 3, que receberam dieta contendo fibra de taioba. O ácido desoxicólico, também secundário, apresentou concentração significativamente maior no cólon dos animais do grupo 2 em comparação aos demais grupos, com exceção do grupo 5, que também recebeu dieta contendo inulina. As concentrações colônicas dos ácidos biliares primários não diferiram significativamente em nenhum dos grupos, e são menores que as encontradas para os ácidos biliares secundários; esse fato é facilmente justificado, já que o cólon é o local de produção dos ácidos biliares secundários. Pode-se observar ainda que, embora as concentrações de ácidos biliares totais no cólon não diferiram significativamente entre os grupos, tem-se um maior percentual de ácidos biliares secundários no cólon dos animais dos grupos 1 e 2 (85 e 95%, respectivamente), enquanto que os grupos que receberam dietas contendo folha de taioba apresentaram maiores concentrações colônicas dos ácidos biliares primários (23 e 32% para os grupos 3 e 4, respectivamente), em detrimento dos secundários (77 e 68%) (Figura 7). Tal fato pode sugerir um efeito benéfico da folha de taioba no metabolismo dos ácidos biliares.

Já no ceco dos animais dos grupos 3 e 4 (Figura 6), o ácido litocólico apresentou menores concentrações em relação aos demais grupos; porém, diferentemente do observado no cólon, esses valores não diferiram significativamente do grupo 2 (5% de fibra total e 2,5% de inulina). O grupo 5, que também recebeu dieta contendo inulina, apresentou a maior concentração para esse ácido. O ácido desoxicólico não apresentou concentrações significativamente diferentes para nenhum dos grupos em estudo, assim como os ácidos biliares primários. Igualmente ao observado no cólon, as concentrações de ácidos biliares totais encontradas no ceco dos animais em estudo não diferiram significativamente entre os grupos, mas as proporções de ácidos biliares secundários encontradas nos grupos 1 e 2 superaram as dos demais grupos (Figura 5).

Tais resultados podem sugerir uma influência da inulina no estímulo à produção de ácidos biliares secundários, através da ação microbiana no cólon. Outra possibilidade é que tenha ocorrido um aumento na retenção dos ácidos biliares no lúmen intestinal dos animais

que receberam as dietas contendo inulina, como pode ser inferido do aumento no volume das fezes que se registrou nos grupos com taioba. Uma terceira possibilidade que incluía as duas alternativas acima mencionadas não poderia ser descartada. Algumas considerações, porém, devem ser feitas para as hipóteses traçadas.

A inulina pode ter favorecido a produção dos ácidos biliares secundários, já que os resultados obtidos na análise da microbiota intestinal dos animais (em seção a seguir) sugerem que o gênero *Clostridium* é um dos grupos predominantes no ceco dos animais em estudo, sendo a contagem desse grupo microbiano ligeiramente mais elevada nos grupos que receberam inulina em relação aos demais. Esse gênero é associado à maior expressão das enzimas envolvidas no metabolismo de ácidos biliares, em particular a 7- $\alpha$ -desidroxilase (MARTÍNEZ-AUGUSTIN; MEDINA, 2008). Ressalta-se, no entanto, que os grupos que receberam dieta contendo inulina, em especial o grupo 2 (5% de fibra total e 2,5% de inulina), apresentaram contagens elevadas das espécies probióticas *Lactobacillus* sp. e *Bifidobacterium* sp.. No entanto, os animais alimentados com dieta contendo folha de taioba também apresentaram contagens elevadas desses grupos de microrganismos. Além disso, devido à pequena amostragem para a referida análise, não foi possível realizar análise estatística dos resultados encontrados, constituindo-se somente de uma análise preliminar e ilustrativa do comportamento que pode ser observado.

Outra hipótese que poderia justificar o fato observado é que os grupos 3 e 4, cujas dietas continham folha de taioba, apresentaram as maiores concentrações de AGCC no cólon, sendo o valor encontrado para o grupo 3 significativamente superior aos demais e igual ao do grupo 4. Logo, poderia se esperar que o pH colônico desses animais fosse menor em relação aos demais. A maior acidificação do meio colônico inibe a atividade da enzima-chave 7- $\alpha$ -desidroxilase (DONGOWSKI et al., 2002; FOTIADIS, 2008), o que poderia desestimular a síntese dos ácidos biliares secundários nesses grupos. Alguns estudos comprovam que a maior produção de ácido butírico leva à menor capacidade de conversão dos ácidos biliares primários a secundários (ZAMPA et al., 2004; JACOBASCH et al., 2006). No presente estudo, os grupos alimentados com folha de taioba apresentaram concentrações do ácido butírico significativamente maiores em relação aos demais grupos,

o que também poderia explicar a menor concentração dos ácidos biliares secundários no cólon desses animais.

É importante ressaltar também que o grupo 2 contém menor quantidade proporcional de celulose em relação aos outros grupos, com exceção do grupo 3, que também apresenta 2,5% de celulose em sua composição. Entretanto, o complemento do total da fibra nas duas dietas era inulina, num caso, e fibra de taioba, no outro. A fibra da folha de taioba foi caracterizada como sendo majoritariamente insolúvel, sendo que essa característica pode ter contribuído para o aumento do volume fecal e, provavelmente, para um menor tempo de trânsito intestinal. A maior massa fecal foi comprovada pelo maior peso das fezes dos animais alimentados com a taioba, em especial em relação ao grupo 2. Ambos os efeitos fisiológicos podem acarretar tanto em um menor tempo de permanência dos ácidos biliares secundários no cólon, quanto na menor concentração dos mesmos na luz intestinal. Além disso, a maior massa fecal pode dificultar o acesso das enzimas bacterianas transformadoras dos ácidos biliares aos seus substratos. Os efeitos fisiológicos causados pela maior ou menor exposição do tecido intestinal às substâncias contidas no bolo fecal (toxicidade e potencial carcinogênico) tem sido pesquisados por Dongowski et al. (2002).

Alguns tipos de fibra podem se ligar aos ácidos biliares no lúmen duodenal e transportá-los até as porções mais distais do intestino, desviando-os do ciclo entero-hepático (MOUNDRAS et al., 1997; SAYAR; JANNINK; WHITE, 2005; KAHLON; SMITH; SHAO, 2005; KAHLON; CHIU; CHAPMAN, 2008; HAMAUZU; MIZUNO, 2011). No entanto, não se pode afirmar no presente estudo que houve ligação da inulina com os ácidos biliares e conseqüentemente sua maior excreção, o que poderia ser evidenciado através da análise nas fezes. Além disso, as concentrações no ceco deveriam apresentar comportamento análogo ao do cólon, o que não foi observado. Em outras palavras, a fim de se comprovar a ligação da inulina com os ácidos biliares e conseqüente passagem para o cólon, as concentrações cecais dos ácidos biliares primários deveriam ser significativamente maiores nos animais que consumiram inulina, de forma condizente à apresentada no cólon.

Levrat, Rémésy e Demigné (1991) observaram que a inulina na concentração de 5% da dieta era capaz de se ligar aos ácidos biliares, aumentando sua concentração cecal; o

mesmo efeito, porém, não foi observado quando o teor de inulina aumentou para 10%. Estudo posterior de Levrat et al. (1994) também estabeleceu o mesmo comportamento para a inulina na concentração de 10% da dieta.

Wu e Chen (2011) avaliaram os efeitos da inulina e glucomanana de fibra konjac, ambas em concentrações de 5% da dieta, em animais alimentados com dietas hiperlipídicas. Os autores observaram que a fibra konjac, devido à alta solubilidade em água e capacidade de aumentar a viscosidade no lúmen intestinal, provocou um incremento na excreção fecal dos ácidos biliares totais; esse aumento, no entanto, foi representado por ácidos biliares primários, em detrimento dos secundários. Constatou-se ainda um aumento significativo na concentração do ácido litocólico nas fezes dos animais do grupo controle sem fibras (0,11  $\mu\text{mol/g}$  de fezes úmidas), em comparação aos grupos que receberam glucomanana de konjac (0,04  $\mu\text{mol/g}$ ) e inulina (0,05  $\mu\text{mol/g}$ ). A excreção fecal dos ácidos biliares totais não apresentou diferença significativa entre os grupos, variando de 0,93  $\mu\text{mol/g}$  no grupo controle a 0,99  $\mu\text{mol/g}$  no grupo que recebeu a fibra konjac. Já Chen, Lin e Wang (2010) avaliaram o efeito de celulose e de fibras solúveis (inulina, glucomanana de fibra konjac e pectina) no metabolismo de ácidos biliares. Todas as fontes de fibra reduziram a excreção fecal dos ácidos biliares secundários, comparando-as à dieta controle isenta de fibra. É interessante destacar que não houve diferença significativa entre as concentrações observadas nos animais que consumiram inulina e celulose.

Jacobasch et al. (2006) observaram a ligação de diferentes tipos de amido resistente com os ácidos biliares, através das maiores concentrações cecais dos ácidos biliares primários em animais que consumiram as dietas experimentais. Os autores observaram também a supressão da formação de ácidos biliares secundários, comprovada pela menor proporção dos mesmos em conteúdo colônico. Tal efeito foi associado à maior fermentação no ceco, maior peso dos conteúdos cecal e colônico e das fezes, e maior produção do ácido butírico. No presente trabalho, os animais alimentados com dieta contendo taioba também apresentaram menores proporções dos ácidos biliares secundários, além da maior taxa fermentativa no cólon e maior produção do ácido butírico em cólon e ceco. Já Dongowski, Jacobasch e Schmiedl (2005) observaram menores concentrações de ácidos biliares no ceco de animais alimentados com amido resistente em relação ao grupo

controle, cuja dieta era isenta de fibra. Em contrapartida, o conteúdo colônico e as fezes apresentaram maiores concentrações dos mesmos. Em relação aos ácidos biliares secundários, também foi observada supressão em sua formação, efeito igualmente atribuído à maior taxa fermentativa e produção do ácido butírico.

Innami et al. (1998) avaliaram o efeito hipocolesterolêmico de dietas contendo folhas liofilizadas de malva-júdia, caqui e batata-doce, em concentrações que variaram de 10 a 15% da dieta. Os autores notaram a maior excreção fecal dos ácidos biliares totais nos grupos experimentais em comparação ao grupo controle, que recebeu celulose na concentração de 5%. Esse efeito foi considerado o principal responsável pela inibição da síntese hepática de colesterol nos animais dos grupos experimentais. Os autores observaram ainda um aumento significativo na massa fecal dos animais desses grupos; ainda assim, esse dado não foi suficiente para diminuir a concentração de ácidos biliares por grama de fezes ou sua excreção fecal diária. Também foi considerada a presença de polifenóis e fitoesteróis nas folhas em estudo, atuando favoravelmente no metabolismo de ácidos biliares.

#### 4.4.4. COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL NO CECO DOS ANIMAIS

A microbiota intestinal participa de processos metabólicos importantes, como a biotransformação de ácidos biliares primários, a eliminação de compostos tóxicos do organismo, a ativação e a inativação de antibióticos, e a conversão de compostos procarcinógenos em carcinógenos (VASILJEVIC; SHAH, 2008). A microbiota pode ser modulada por fatores dietéticos e influenciada por fatores como o *stress*, o uso de medicamentos, e em condições pós-cirúrgicas (BOSSCHER et al., 2009). A distribuição dos microrganismos nas diferentes regiões do trato gastrointestinal é regida por fatores dietéticos, ambientais e fisiológicos (MITAL; GARG, 1995).

Diversas espécies bacterianas influenciam a homeostase intestinal. Certas espécies podem ser patogênicas e fontes de infecção e sepse em algumas circunstâncias, como por exemplo na ocorrência de doenças inflamatórias intestinais. Nesses casos, a integridade da

barreira da mucosa encontra-se fisicamente ou funcionalmente alterada, ocorrendo um aumento na permeabilidade da barreira e o crescimento exacerbado e não controlado de microrganismos. A predominância de certas populações, tais como *Bacteroides* e *Clostridium*, predispõe a uma série de desordens metabólicas e torna o meio mais suscetível a infecções por enteropatógenos, tais como *Listeria*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* e *Salmonella*. É benefício para o hospedeiro, portanto, a manutenção do equilíbrio da microbiota e o estímulo ao crescimento de espécies probióticas; tal efeito pode ser conseguido através da administração de substâncias prebióticas (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

O presente trabalho pretendeu verificar possíveis mudanças na composição da microbiota intestinal dos animais em estudo, como indicador do potencial prebiótico da fibra da folha de taioba. Os resultados obtidos são demonstrados na Figura 9.

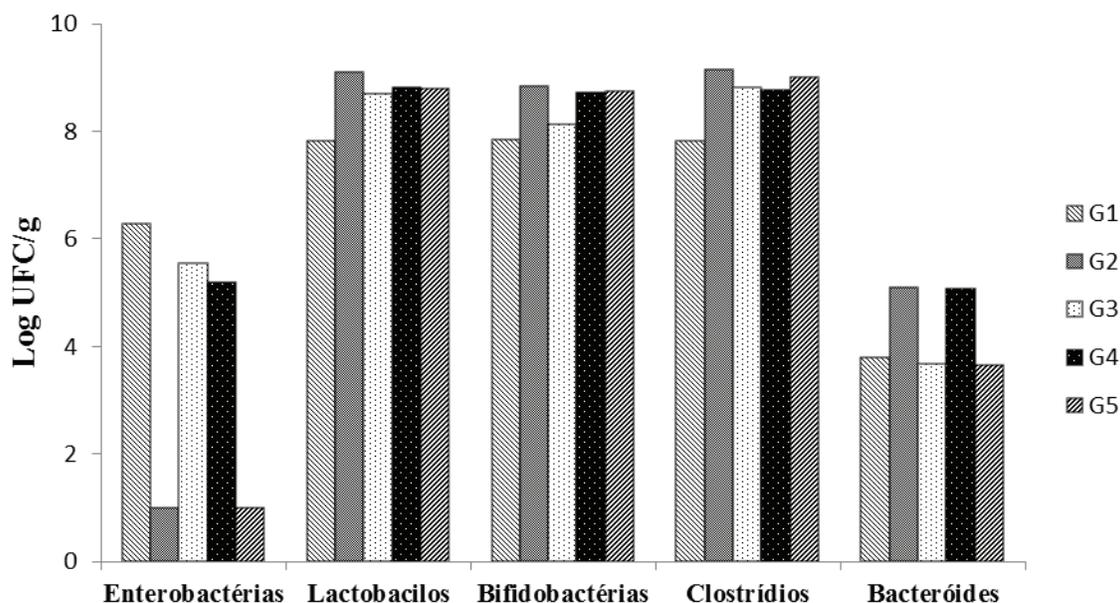


Figura 9: População microbiana no ceco de ratos alimentados com diferentes fontes de fibra. Valores expressos são médias das contagens realizadas no material cecal de 2-3 animais por grupo. **Grupo 1:** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose; **Grupo 2:** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de inulina; **Grupo 3:** animais que receberam dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 4:** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de fibra de taioba; **Grupo 5:** animais que receberam dieta contendo 5% de celulose e 2,5% de inulina.

De acordo com a Figura 9, pode-se observar que os gêneros *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Lactobacillus* parecem ser os grupos microbianos predominantes em todos os casos, sendo que os animais alimentados com celulose parecem ter apresentado as menores contagens desses microrganismos. As dietas aparentemente promoveram equivalentes resultados para os grupos de probióticos. O gênero *Clostridium* apresentou contagens elevadas em todos os grupos, sendo maiores para os animais que receberam inulina, o que não era esperado. A inulina é notada por seu efeito prebiótico comprovado, e portanto é capaz de modular seletiva e benéficamente a microbiota intestinal (ROBERFROID, 2005).

Em relação à contagem de enterobactérias, pode-se observar que essas tiveram as maiores variações entre as dietas. As contagens desse grupo de microrganismos no ceco de animais que receberam taioba se assemelham com as apresentadas pelos animais que receberam celulose, sugerindo efeito igualmente favorável ao crescimento desse grupo; a inulina, por outro lado, parece ter efeito repressor. As enterobactérias são principalmente representadas por *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* sp., *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella* spp., dentre outras, sendo algumas de potencial patogênico. Seria interessante saber, dentre as enterobactérias, quais cepas foram estimuladas por um ou outro componente da dieta. Por fim, as dietas apresentaram respostas distintas ao crescimento do grupo de *Bacteroides* sp., tanto em relação aos gêneros probióticos e *Clostridium*, quanto às enterobactérias. Enquanto que o crescimento das enterobactérias teve relação com a presença de inulina, o crescimento de *Bacteroides* sp. não respondeu uniformemente nem à presença de inulina nem à quantidade total de fibra na dieta.

É importante destacar que houve grande limitação na utilização dos dados, pois só pudemos estabelecer comparações subjetivas entre os microrganismos, uma vez que a análise contou com uma amostragem muito pequena. Desse modo, os resultados obtidos têm caráter ilustrativo e apenas sugestivo do que possivelmente seria observado em uma amostragem maior. A impossibilidade em se dispor de uma amostragem mais ampla para essa análise residiu na necessidade em se utilizar o mesmo material para as análises de ácidos graxos de cadeia curta e biliares. A impossibilidade em se realizar análise estatística dos dados dificulta a interpretação dos resultados.

Considerando os resultados mencionados na discussão dos fatores que influenciam a atividade fermentativa, poderia se pensar na possibilidade de que exista associação entre os perfis de AGCC produzidos e o de microrganismos encontrados. Tentativas de estabelecer qualquer associação, entretanto, não foram bem sucedidas.

## 5. CONCLUSÕES

- A folha de taioba liofilizada apresentou conteúdo de fibra total condizente com outras hortaliças, sendo majoritariamente constituída de fibra insolúvel;
- A glicose foi o monômero mais abundante encontrado na fibra da folha liofilizada, sugerindo a presença de grandes quantidades de celulose e hemicelulose;
- A folha de taioba, na concentração de 7% da dieta, exerceu influência na atividade fermentativa da microbiota intestinal, promovendo a maior concentração de AGCC totais e a maior proporção de ácido butírico no ceco e no cólon dos animais, especialmente em animais que consumiram dieta contendo 2,5% de celulose e 2,5% de fibra da folha de taioba;
- Embora as concentrações de ácidos biliares totais não tenham diferido significativamente ( $p < 0,05$ ) entre os grupos, menor proporção de ácidos biliares secundários foi encontrada em ceco e cólon dos animais alimentados com folha de taioba. Fatores que podem ter influenciado o metabolismo de ácidos biliares são a mudança no perfil fermentativo e o aumento da massa fecal observados nos animais que receberam dietas contendo taioba, possivelmente devido à contribuição da fibra insolúvel presente na folha;
- A análise microbiológica de material cecal dos animais sugere a presença dos gêneros probióticos e de *Clostridium* sp. em grandes quantidades, sendo o crescimento das enterobactérias aparentemente inibido na presença de inulina. Limitações metodológicas impedem que tais resultados sejam interpretados de forma apropriada;
- Sugere-se que não só a fibra, mas também a presença de outros compostos bioativos na folha de taioba possam influenciar positivamente os efeitos fisiológicos observados.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMO, M. A.. **Taioba, cará e inhame: o grande potencial inexplorado**. São Paulo: Ícone, 1990.

ALEIXANDRE, A.; MIGUEL, M. Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.48, p.905–912, 2008.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AACC). Report of the Dietary Fiber Definition Committee to the Board of Directors of the American Association of Cereal Chemists. **Cereal Foods World**, v. 46, n.3, p. 112-126, 2001.

ANDERSON, J.W.; JONES, A.E.; RIDDEL-MASON, S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. **Journal of Nutrition**, v.124, n.1, p.78-83, 1994.

ANNISON, G; TRIMBLE, G; TOPPING, D.L. Feeding australian acacia gums and gum arabic leads to non-starch polysaccharide accumulation in the cecum of rats. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 283-292, 1995.

ARRUDA, S.F.; SIQUEIRA, E.M.A.; SOUZA, E.M.T. Malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) and purslane (*Portulaca oleracea*) leaves reduce oxidative stress in vitamin A-deficient rats. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 48, p.288–295, 2004.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 16th ed. Washington, DC; 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (method 996.06). 16th ed. Cap. 41, p. 18-18B. Arlington: A.O.A.C., 1997.

BATTA, A.K. et al. Highly simplified method for gas-liquid chromatographic quantitation of bile acids and sterols in human stool. **Journal of Lipid Research**, v.40, p.1148–1154, 1999.

BAZZANO, L. A. Effects of soluble dietary fiber on low-density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease risk. **Current Atherosclerosis Reports**, v.10, p.473–477, 2008.

BLIGH, E.G., DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Biochemical Physiology**, vol. 378, n.8, p. 911-917, 1959.

BOSSCHER, D. et al. Food-based strategies to modulate the composition of the intestinal microbiota and their associated health effects. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.60, supl. 6, p. 5-11, 2009.

BOURQUIN, L.D; TITGEMEYER, E.C; FAHEY, G.C. Vegetable fiber fermentation by human fecal bacteria: cell wall polysaccharide disappearance and short-chain fatty acid production during in vitro fermentation and water-holding capacity of unfermented residues. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 860-869, 1993.

BRAVO, L.; ABIA, R.; SAURA-CALIXTO, F. Polyphenols as dietary fibre associated compounds: Comparative study on some in vivo and in vitro properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1481-1487, 1994.

BRIDGES, S. R. et al. Oat bran increases serum acetate of hypercholesterolemic men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, p. 455-459, 1992.

BRIGIDI, P. et al. Effects of probiotic administration upon the composition and enzymatic activity of human fecal microbiota in patients with irritable bowel syndrome or functional diarrhea. **Research in Microbiology**, v. 152, p. 735-741, 2001.

BROWN, L. et al. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p.30–42, 1999.

BROWNLEE, I.A. The physiological roles of dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, p.1–13, 2009.

BUTTRISS, J. L.; STOKES, C. S. Dietary fibre and health: an overview. **Nutrition Bulletin**, vol. 33, p. 186–200, 2008.

CAMPAS-BAYPOLI, O.N. et al. Biochemical composition and physicochemical properties of broccoli flours. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, supl.4, p. 163-173, 2009.

CARVALHO, E.F.; CORDEIRO, J.A.D. Um método alternativo e eficiente de propagação vegetativa de inhame (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) e de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott). **Acta Amazônia**, vol. 20, p.11-18, 1990.

CHAUD, S.G. et al. Influência de frações da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre os índices séricos de glicose e lipídios, microbiota intestinal e produção de ácidos graxos voláteis (AGV) de cadeias curtas de ratos em crescimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p. 338-348, 2007.

CHEN, H.L.; LIN, Y.M.; WANG, Y.C. Comparative effects of cellulose and soluble fibers (pectin, konjac glucomannan, inulin) on fecal water toxicity toward caco-2 cells, fecal bacteria enzymes, bile acid and short-chain fatty acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p. 10277–10281, 2010.

- CHERBUT, C. Inulin and oligofructose in the dietary fibre concept. **British Journal of Nutrition**, v. 87, Suppl. 2, p. S159–S162, 2002.
- CLAYE, S.S.; IDOURAINE, A., WEBER, C.W. Extraction and fractionation of insoluble fiber from five fiber sources. **Food Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 305-310, 1996.
- CUMMINGS J.H. et al. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. **Gut**, v. 28, p. 1221–7, 1987.
- CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon – a review. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 70, p. 443–459, 1991.
- CUMMINGS, J.H; MACFARLANE, G.T. Gastrointestinal effects of prebiotics. **British Journal of Nutrition** v.87, Suppl. 2, S145–S151, 2002.
- DIPLOCK, A.T. et al. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British Journal of Nutrition**, v. 81, suppl 1, S1–S28, 1999.
- DONGOWSKI, G. et al. Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 3704–3714, 2002.
- DONGOWSKI, G; JACOBASCH, G; SCHMIEDL, D. Structural Stability and Prebiotic Properties of Resistant Starch Type 3 Increase Bile Acid Turnover and Lower Secondary Bile Acid Formation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 9257–9267, 2005.
- EASTWOOD, M.A. The physiological effect of dietary fiber: an update. **Annual Review of Nutrition**, v.12, p.19-35, 1992.
- EGERT, M. et al. Beyond diversity: functional microbiomics of the human colon. **Trends in Microbiology**, v.14, n.2, 2006.
- EL OUFIR, L. et al. Relationships between transit time in man and in vitro fermentation of dietary fiber by fecal bacteria. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p. 603-609, 2000.
- ENGLYST, H.N.; HUDSON, G.J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chemistry**, v. 57, n. 1, p.15-21, 1996.
- ENGLYST, H.N.; QUIGLEY, M.E.; HUDSON, G.J. Determination of dietary fibre as non-starch polysaccharides with gas-liquid chromatographic, high-performance liquid chromatographic or spectrophotometric measurement of constituent sugars. **Analyst**, v. 119, p. 1497-1509, 1994.

- ESCUADERO, N.L. et al. Nutrient and antinutrient composition of *Amaranthus muricatus*. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 54, p. 327–336, 1999.
- ESCUADERO, N.L. et al. *Taraxacum officinale* as a food source. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 58, p 1–10, 2003.
- EUFRÁSIO, M.R. et al. Efeito de diferentes tipos de fibras sobre frações lipídicas do sangue e fígado de ratos Wistar. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, v. 33, n. 6, p. 1608-1614, 2009.
- EZZ EL-ARAB, AM. A diet rich in leafy vegetable fiber improves cholesterol metabolism in high-cholesterol fed rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.12, n.19, p. 1299-1306, 2009.
- FAVIER, M.L. et al. Reciprocal influence of fermentations and bile acid excretion on cholesterol-lowering effect of fermentable carbohydrate. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 8, p.127-132, 1997.
- FEMENIA, A. et al. Cauliflower (*Brassica oleracea* L), globe artichoke (*Cynara scolymus*) and chicory witloof (*Cichorium intybus*) processing by-products as sources of dietary fibre. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, p. 511-518, 1998.
- FERGUSON, L.R. et al. Comparative effects of three resistant starch preparations on transit time and short-chain fatty acid production in rats. **Nutrition and Cancer**, v.36, n.2, p.230-237, 2000.
- FERGUSON, L.R.; CHAVAN, R.R.; HARRIS, P.J. Changing concepts of dietary fiber: implications for carcinogenesis. **Nutrition and Cancer**, v. 39, p.155–169, 2001.
- FLOCH, M.H. Bile salts, intestinal microflora and enterohepatic circulation. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, supl.2, p.S54-7, 2002.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS, STATISTICAL DIVISION (FAOstat). Disponível em <http://faostat.fao.org/default.aspx>.
- FOOKS, L.J.; FULLER, R.; GIBSON, G.R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal** v.9, p.53-61, 1999.
- FOTIADIS, C.I. et al. Role of probiotics, prebiotics and synbiotics in chemoprevention for colorectal cancer. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, n. 42, p. 6453-6457, 2008.
- FREIBERGER, C.E. et al. Nutrient content of the edible leaves of seven wild plants from Niger. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 53, p.57–69, 1998.
- GALVEZ, J. et al. Effects of dietary fiber on inflammatory bowel disease. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.49, p. 601 – 608, 2005.

GARCIA-DIEZ, F. et al. Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats. **Journal of Nutrition**, v.126, p. 1766-1771, 1996.

GIBSON, G.R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics, **Nutrition Research Reviews**., v. 17, p. 259–275, 2004.

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

GOENA, M. et al. Effect of the raw legume *Vicia ervilha* on muscle and liver protein metabolism in growing rats. **Revista Española de Fisiologia**, v.45, p.55-60, 1989.

GOÑI, I. et al. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. **Food Research International**, v. 42, p. 840–846, 2009.

GOÑI, I.; MARTÍN-CARRÓN, N. Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. p.311–338. In: Lajolo FM, Saura-Calixto F, Penna EW, Menezes EW (eds). **Fibra dietética em Iberoamérica: tecnología y salud—obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos**. Varela: São Paulo, 2001.

GOWDA, G.A.N. et al. Bile acids conjugation in human bile is not random: new insights from <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy at 800 MHz. **Lipids**, v.44, p.527–535, 2009.

GRAEBNER, et al. Carotenoids from native brazilian dark-green vegetables are bioavailable: a study in rats. **Nutrition Research**, v. 24, p. 671–679, 2004.

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

GRAZIANO, T.T. **Variações dos compostos de reserva do sistema subterrâneo de *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott (taioba) durante a brotação e desenvolvimento da planta**. Campinas: UNICAMP, 1990. 186p. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, 1990.

GUARNER, F; MALAGELADA, JR. Gut flora in health and disease. **Lancet** , v.361, p. 512–19, 2003.

GUILLO, F., CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, vol. 33, p. 233-245, 2000.

GUPTA, S. et al. Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. **LWT**, v. 38, p. 339–345, 2005.

HAMAUZU, Y.; MIZUNO, Y. Non-extractable procyanidins and lignin are important factors in the bile acid binding and radical scavenging properties of cell wall material in some fruits. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 66, n. 1, p.70-77, 2011.

HANGEN, S.R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of amino-acids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.72, n.6, p.912-916,1989.

HARA H. et al. Fermentation products of sugarbeet fiber by cecal bacteria lower plasma cholesterol concentration in rats. **Journal of Nutrition**, v.128, p.688–93, 1998.

HARRIS, P.J.; TASMAN-JONES, C.; FERGUSON, L.R. Effects of two contrasting dietary fibres on starch digestion, short-chain fatty acid production and transit time in rats. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.80, p. 2089–2095, 2000.

HENNINGSSON, Å.M.; BJÖRCK, I.M.E.; NYMAN, E.M.G.L. Combinations of indigestible carbohydrates affect short-chain fatty acid formation in the hindgut of rats. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 3098–3104, 2002.

HENNINGSSON, Å.M.; NYMAN, E.M.G.L.; BJÖRCK, I.M.E. Content of short-chain fatty acids in the hindgut of rats fed processed bean (*Phaseolus vulgaris*) flours varying in distribution and content of indigestible carbohydrates. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 379–389, 2001.

HOFMANN, A.F. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. **Archives of Internal Medicine**, v.159, p.2647-2658, 1999.

HOFMANN, A.F; HAGEY, L.R. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology and therapeutics. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, p. 2461 – 2483, 2008.

HOUNSOME, N. et al. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 4, 2008.

HOUTEN, S.M.; WATANABE, M.; AUWERX, J. Endocrine functions of bile acids. **The EMBO Journal**, v. 25, p. 1419–1425, 2006.

HUANG, W. et al. Nuclear receptor–dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. **Science**, v.312, 2006.

INAGAKI, T. et al. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 10, p. 3920–3925, 2006.

INNAMI, S. et al. Dried green leaf powders of Jew's mellow (*Corchorus*), persimmon (*Diosphyros kaki*) and sweet potato (*Ipomoea batatas poir*) lower hepatic cholesterol concentration and increase fecal bile acid excretion in rats fed a cholesterol-free diet. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 52, p.55–65, 1998.

INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES (IOM). **Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes: energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids**. Washington: The National Academies Press, 2005.

ISHIDA, H. et al. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas poir*). **Food Chemistry**, v. 68, p. 359-367, 2000.

JACOBASCH, G. et al. Hydrothermal treatment of Novelose 330 results in high yield of resistant starch type 3 with beneficial prebiotic properties and decreased secondary bile acid formation in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 95, p.1063–1074, 2006.

JAIME, L, et al. Structural carbohydrate differences and potential source of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**., v 50, n.1, p.122–128, 2002.

JANSEN, P.L.M. Endogenous bile acids as carcinogens. **Journal of Hepatology**, v.47, p.434–435, 2007.

JENKINS, D.J.A. et al. Specific types of colonic fermentation may raise low-density-lipoprotein-cholesterol concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p.141-147, 1991.

JEONG, S.C. et al. White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. **Nutrition Research**, v.30, p. 49–56, 2010.

JONES, P. J. H. Dietary agents that target gastrointestinal and hepatic handling of bile acids and cholesterol. **Journal of Clinical Lipidology**, v.2, p. S4–S10, 2008.

KAHLON, T.S.; CHIU, M.C.M.; CHAPMAN, M.H. Steam cooking significantly improves in vitro bile acid binding of collard greens, kale, mustard greens, broccoli, green bell pepper, and cabbage. **Nutrition Research**, v.28, p. 351–357, 2008.

KAHLON, T.S; SMITH, G.E; SHAO, Q. In vitro binding of bile acids by kidney bean (*Phaseolus vulgaris*), black gram (*Vigna mungo*), bengal gram (*Cicer arietinum*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolins*). **Food Chemistry**, v.90, p. 241–246, 2005.

KALA, A.; PRAKASH, J. Nutrient composition and sensory profile of differently cooked green leafy vegetables. **International Journal of Food Properties**, v. 7, n. 3, p. 659–669, 2004.

- KEITEL V.; KUBITZ R.; HÄUSSINGER D. Endocrine and paracrine role of bile acids. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, n. 37, p. 5620-5629, 2008.
- KHANUM, F. et al. Dietary fiber content of commonly fresh and cooked vegetables consumed in India. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 55, p.207–218, 2000.
- KIM, I. et al. Spontaneous hepatocarcinogenesis in farnesoid X receptor-null mice. **Carcinogenesis**, v.28, n.5, p.940–946, 2007.
- KIM, M; SHIN, H.K. The water-soluble extract of chicory influences serum and liver lipid concentrations, cecal short-chain fatty acid concentrations and fecal lipid excretion in rats. **Journal of Nutrition**, v.128, p.1731–1736, 1998.
- KISHIMOTO, Y; WAKABAYASHI, H; TAKEDA, H. Hypocholesterolemic effect of dietary fiber: relation to intestinal fermentation and bile acid excretion. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v.41, p.151-161, 1995.
- KNOPP, R.H. et al. Long-term blood cholesterol–lowering effects of a dietary fiber supplement. **American Journal of Preventive Medicine**, v.17, n.1, p. 18-23, 1999.
- KNUDSEN, K.E.B. The nutritional significance of “dietary fiber” analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p. 3-20, 2001.
- KOLIDA, S; TUOHY, K; GIBSON, G.R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v.87, Suppl. 2, S193–S197, 2002.
- KONTRASZTI, M., HUDSON, G.J., ENGLYST, H.N. Dietary fiber in hungarian foods measured by the Englyst NSP procedure and the AOAC Prosky procedure: a comparison study. **Food Chemistry**, v. 64, p. 445-450, 1999.
- KOVATCHEVA-DATCHARY, P. et al. Tools for the tract: understanding the functionality of the gastrointestinal tract. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 2, suppl.1, S9-S22, 2009.
- LE BLAY, G. et al. Enhancement of butyrate production in the rat caecocolonic tract by long-term ingestion of resistant potato starch. **British Journal of Nutrition**, v.82, n.5, p.419-26, 1999.
- LEE, Y.K.; SALMINEN, S. The coming of age of probiotics. **Trends in Food Science & Technology**. v. 6, 1995.
- LETERME, P.; LONDOÑO, A. M.; WOLFGANG, F. E.; SOUFFRANT, B.; BULDGEN, A. Chemical composition, nutritive value and voluntary intake of tropical tree foliage and cocoyam in pigs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 85, p. 1725–1732, 2005.

- LEVRAT, M.A. et al. Role of dietary propionic acid and bile acid excretion in the hypocholesterolemic effects of oligosaccharides in rats. **Journal of Nutrition**, v. 124, p.531-538, 1994.
- LEVRAT, M.A.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. **Journal of Nutrition**, v.121, p. 1730-1737, 1991.
- LIMA, T.A. et al. Evaluation of nutritional and anti-nutritional compounds from tania (*Xanthosoma* Schott) corms. **Nutrition & Food Science**, v. 40, n. 4, p. 419-428, 2010.
- LIVINGSTON, S.J.; KOMINOS, S.D.; YEE, R.B. New medium for selection and presumptive identification of *Bacteroides fragilis* group. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 7, p. 448-453, 1978.
- LOSADA, M.A.; OLLEROS, T. Towards a healthier diet for the colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. **Nutrition Research** v.22, p. 71–84, 2002.
- LUPTON, J.R. Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 479–82, 2004.
- MACFARLANE, G.T; STEED, H; MACFARLANE, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. **Journal of Applied Microbiology** v.104, p.305–344, 2008.
- MAHAN, KL, ESCOTT-STUMP, S. **Krause's food and nutrition therapy**. 12 ed. Missouri: Ed Elsevier, 2008.
- MAI, V. et al. Effects of a controlled diet and black tea drinking on the fecal microflora composition and the fecal bile acid profile of human volunteers in a double-blinded randomized feeding study. **Journal of Nutrition**, v.134, p. 473–478, 2004.
- MAI, V.; MORRIS, J.G. Colonic bacterial flora: changing understandings in the molecular age. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 459–464, 2004.
- MANGAN, F.X.; MENDONÇA, R.U.; NUNES, S.V.; FINGER, F.L.; BARROS, Z.J.; GALVÃO, H.; ALMEIDA, G.C.; SILVA RAN; ANDERSON, M.D. Production and marketing of vegetables for the ethnic markets in the United States. **Horticultura Brasileira**, vol. 26, p. 06-14, 2008.
- MARLETT, J.A., VOLLENDORF, N.W. Dietary fiber content and composition of vegetables determined by two methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1608-1612, 1993.

- MÅRTENSSON, O. et al. Effects of fermented, rOPY, non-dairy, oat-based products on serum lipids and the faecal excretion of cholesterol and short chain fatty acids in germfree and conventional rats. **Nutrition Research**, v.22, p. 1461–1473, 2002.
- MÅRTENSSON, O. et al. Effects of fermented, rOPY, non-dairy, oat-based products on serum lipids and the faecal excretion of cholesterol and short chain fatty acids in germfree and conventional rats. **Nutrition Research**, v. 22, p.1461–1473, 2002.
- MARTIN, F.P.J. et al. A top-down systems biology view of microbiome-mammalian metabolic interactions in a mouse model. **Molecular Systems Biology**, v.3, n.112, 2007.
- MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O.; MEDINA, F.S. Intestinal bile acid physiology and pathophysiology. **World Journal of Gastroenterology**, v.14, n. 37, p. 5630-5640, 2008.
- MARZOTTO, M. et al. *Lactobacillus paracasei* A survives gastrointestinal passage and affects the fecal microbiota of healthy infants. **Research in Microbiology**, v. 157, p. 857-866, 2006.
- McBAIN, A.J.; MACFARLANE, G.T. Ecological and physiological studies on large intestinal bacteria in relation to production of hydrolytic and reductive enzymes involved in formation of genotoxic metabolites. **Journal of Medical Microbiology**, v. 47, p. 407-416, 1998.
- MCMILLAN, L. et al. Bile acids reduce the apoptosis-inducing effects of sodium butyrate on human colon adenoma (AA/C1) cells: implications for colon carcinogenesis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.273, p. 45–49, 2000.
- MENEZES, E.W. et al. In vitro colonic fermentation and glycemic response of different kinds of unripe banana flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.65, p.379–385, 2010.
- MITAL, B.K; GARG, S.K. Anticarcinogenic, hypocholesterolemic, and antagonistic activities of *Lactobacillus acidophilus*. **Critical Reviews in Microbiology**, v.21, n.3, p. 175-213, 1995.
- MONTAGNE, L.; PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, p. 95–117, 2003.
- MONTESI, A. et al. Molecular and microbiological analysis of caecal microbiota in rats fed with diets supplemented either with prebiotics or probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, p. 281– 289, 2005.
- MORICEAU, S. et al. Cholesterol-lowering effects of guar gum: changes in bile acid pools and intestinal reabsorption. **Lipids**, v. 35, n.4, p. 437–444, 2000.

- MOSHA T.C. et al. Proximate composition and mineral content of selected tanzanian vegetables and the effect of traditional processing on the retention of ascorbic acid, riboflavin and thiamine. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 48, p.235–245, 1995.
- MOSHA, T.C.; GAGA, H.E. Nutritive value and effect of blanching on the trypsin and chymotrypsin inhibitor activities of selected leafy vegetables. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.54, p. 271–283, 1999.
- MOUNDRAS, C. et al. Fecal losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. **Journal of Nutrition**, v. 127, p.1068–1076, 1997.
- MUNOA, F.J.; PARES, R. Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, 1988.
- NISHIBATA, T, et al. Comprehensive measurement of total nondigestible carbohydrates in foods by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v 57, n 17, p.7659–7665, 2009.
- NYMAN, M. Fermentation and bulking capacity of indigestible carbohydrates: the case of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v.87, Suppl. 2, S163–S168, 2002.
- OJINNAKA, M.C.; AKOBUNDU, E.N.T.; IWE, M.O. Cocoyam starch modification effects on functional, sensory and cookies qualities. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, n.5, p. 558-567, 2009.
- ONWUEME, I.C. **The tropical tuber crops**. John Wiley & Sons Ltd.: Chinchester,1978.
- OUWEHAND, A.C. et al. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 43-52, 1999.
- PATURI, G. et al. Cecal and colonic responses in rats fed 5 or 30% corn oil diets containing either 7.5% broccoli dietary fiber or microcrystalline cellulose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p. 6510–6515, 2010.
- PÉREZ, E.; SCHULTZ, F.S.; PACHECO DE DELAHAYE, E. Characterization of some properties of starches isolated from *Xanthosoma sagittifolium* (tannia) and *Colocassia esculenta* (taro). **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p.139–145, 2005.
- PÉREZ, E.E.; GUTIÉRREZ, M.E.; PACHECO DE DELAHAYE, E.; TOVAR, J.; LARES, M. Production and characterization of *Xanthosoma sagittifolium* and *Colocasia esculenta* flours. **Journal of Food Science**, vol. 72, n. 6, 2007.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. **Nutrition**, v. 24, p. 646–653, 2008.

PERWAIZ, S. et al. Rapid and improved method for the determination of bile acids in human feces using MS. **Lipids**, v. 37, n. 11, p.1093–1100, 2002.

PINTO, N. A. V. D. **Avaliação química das folhas, limbos e caules da taioba (*Xanthosoma sagittifolium* Schott), visando seu aproveitamento na alimentação humana**. Lavras: UFLA, 1998. 88p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, 1998.

PINTO, N.A.V.D., et al. Variabilidade da composição centesimal, vitamina c, ferro e cálcio de partes da folha de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* Schott). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, n 3, p.205-208, 2001.

PINTO, W. J. **Efeito da mistura polpa de laranja/goma-guar sobre parâmetros bioquímicos e cardiovasculares em hamsters alimentados com dieta hipercolesterolêmica**. Campinas: UNICAMP, 2004. 180p. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular). Universidade Estadual de Campinas, 2004.

PLOWMAN, T. **Folk Uses of New World Aroids**. Economic Botany, vol. 23, n. 2, p. 97-122, 1969.

PROSKY, L. Inulin and oligofructose are part of dietary fiber complex. **Journal of AOAC International**, v. 82, p. 223-226, 1999.

PROSKY, L.; ASP, NG; SCHWEIZER, TF; DE VRIES, JW; FURDA, I. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. **Journal of AOAC International**, vol. 71, n 5, p. 1017-1023, 1988.

PYLKAS, A.N.; JUNEJA, L.R.; SLAVIN, J.L. Comparison of different fibers for in vitro production of short chain fatty acids by intestinal microflora. **Journal of Medicinal Food**, v. 8, n. 1, p. 113–116, 2005.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. Jr. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition. **Journal of Nutrition**, vol. 123, p. 1939-1951, 1993.

RIDEOUT, T.C. et al. Guar gum and similar soluble fibers in the regulation of cholesterol metabolism: Current understandings and future research priorities. **Vascular Health and Risk Management**, v.4, n.5, p. 1023–1033, 2008.

RIDEOUT, T.C. et al. Guar gum consumption increases hepatic nuclear SREBP2 and LDL receptor expression in pigs fed an atherogenic diet. **Journal of Nutrition**, v.137, p.568–72, 2007.

ROBERFROID, M. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**, v. 104, Suppl 2, p.S1-63, 2010.

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

RODRÍGUEZ, R. et al. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, p. 3-15, 2006.

RUPÉREZ, P, TOLEDANO, G. Celery by-products as a source of mannitol. **European Food Research and Technology**, v.216, p.224–226, 2003.

SANDERS, M.E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, p.341-347, 1998.

SAURA-CALIXTO, F. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n.1, p. 43-49, 2011.

SAURA-CALIXTO, F. et al. In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3342–3347, 2000.

SAURA-CALIXTO, F. Evolución del concepto de fibra. p 237–253. In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. (eds). **Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos**. EDUSP: São Paulo, 2006.

SAYAR, S.; JANNINK, J.L.; WHITE, P.J. In vitro bile acid binding of flours from oat lines varying in percentage and molecular weight distribution of  $\beta$ -glucan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 8797–8803, 2005.

SCHARLAU, D. et al. Mechanisms of primary cancer prevention by butyrate and other products formed during gut flora-mediated fermentation of dietary fibre. **Mutation Research**, v. 682, p.39–53, 2009.

SCHNEEMAN, B.O. Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1424S–1427S, 1999.

SEFA-DEDEH, S.; AGYIR-SACKEY, E.K. Starch structure and some properties of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* and *Colocasia esculenta*) starch and raphides. **Food Chemistry**, v. 79, p. 435–444, 2002.

SEFA-DEDEH, S.; AGYIR-SACKEY, E.K. Chemical composition and the effect of processing on oxalate content of cocoyam *Xanthosoma sagittifolium* and *Colocasia esculenta* cormels. **Food Chemistry**, vol. 85, p. 479–487, 2004.

SENGUPTA, S. et al. Does butyrate protect from colorectal cancer? **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 21, p. 209–218, 2006.

- SOSULSKI, F.W.; IMAFIDON, G.I. Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 6, p. 1351-1356, 1990.
- SOUTHGATE, D.A.T. Dietary fiber as parts of food plants and algae. In: **CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition**. 3<sup>a</sup> ed. Cap 2.2, p.11-15. Boca Raton: CRC Press, 2001.
- SOUZA, C.S. **Propagação *in vitro* de germoplasma de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott)**. Viçosa: UFV, 2008. 52p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- SPILLER, G. Definition of dietary fiber. In: **CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition**. 3<sup>a</sup> ed. Cap 2.1, p. 9-11. Boca Raton: CRC Press, 2001.
- STARK, A.H; MADAR, Z. In vitro production of short-chain fatty acids by bacterial fermentation of dietary fiber compared with effects of those fibers on hepatic sterol synthesis in rats. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 2166-2173, 1993.
- TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TACO)/ NEPA-UNICAMP – Versão II. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 105p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- TANNOCK, G.W. et al. Deconjugation of bile acids by lactobacilli in the mouse small bowel. **Applied and Environmental Microbiology**, v.60, n.9, p. 3419-342,1994.
- TANNOCK, G.W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, v.8, p. 527-533,1998.
- TANYA, A.K.N., MBOFUNG, C.M.F., KESHINRO, O.O. Soluble and insoluble fiber contents of some Cameroonian foodstuffs. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 51, p. 199–207, 1997.
- THEANDER, O, WESTERLUND, E. Studies on dietary fiber. 3. Improved procedures for analysis of dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, n.2, p. 330-336, 1986.
- THEANDER, O.; AMAN, P.; WESTERLUND, E.; ANDERSSON, R.; PETERSON, D. Total dietary fiber determined as neutral sugars and uronic acid residues, and lignin (The Uppsala Method): collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 78, n.4, p.1030-1044, 1995.
- THEUWISSEN, E.; MENSINK, R. P. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. **Physiology & Behavior**, vol. 94, p. 285–292, 2008.

TITGEMEYER, E.C. et al. Fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 53, p.1418-24, 1991.

TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological Reviews**, v. 81, n.3, p.1031–1060, 2001.

TRAUTWEIN, E.A. et al. Psyllium, not pectin or guar gum, alters lipoprotein and biliary bile acid composition and fecal sterol excretion in the hamster. **Lipids**, v.33, p. 573–582, 1998.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 714– 728, 2008.

VELAZQUEZ, O.C. et al. Butyrate and the colonocyte. Production, absorption, metabolism, and therapeutic implications. **Advances in Experimental Medical Biology**, v.427, p. 123–34, 1997.

VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J. et al. Characterization of nonstarch polysaccharides content from different edible organs of some vegetables, determined by GC and HPLC: comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 20, p. 5950–5955, 2003.

VOGT, J.A. et al. L-Rhamnose increases serum propionate after long-term supplementation, but lactulose does not raise serum acetate. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, p.1254–61, 2004.

WATANABE M. et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. **Nature**, v. 439, p. 484–489, 2006.

WATANABE M. et al. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. **The Journal of Clinical Investigation**, v.113, p.1408–1418, 2004.

WEAVER, G.A. et al. Cornstarch fermentation by the colonic microbial community yields more butyrate than does cabbage fiber fermentation; cornstarch fermentation rates correlate negatively with methanogenesis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.55, p.70-7, 1992.

WHITE, J.A.; HART, R.J.; KRY, J.C. An evaluation of the waters pico-tag system for the amino acid analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**,v.8, n.4, p.170-177, 1986.

WHO/FAO, 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. (WHO technical report series; no. 935).

- WOLEVER T.M. et al. Serum acetate: propionate ratio is related to serum cholesterol in men but not women. **Journal of Nutrition**, v.126, p.2790–2797, 1996.
- WOLEVER, T.M.S. et al. Interaction between colonic acetate and propionate in humans. **American Journal of Clinical Nutrition** v.53,p 681–687, 1991.
- WONG, J.M.W. et al. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v.40, p.235–243, 2006.
- WU, W.T.; CHEN, H.L. Effects of konjac glucomannan on putative risk factors for colon carcinogenesis in rats fed a high-fat diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 989–994, 2011.
- YADAV, M.P.; JOHNSTON, D.B.; HICKS, K.B. Structural characterization of corn fiber gums from coarse and fine fiber and a study of their emulsifying properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n 15, p.6366–6371, 2007.
- YOSHIOKA, H.; ISEKI, K.; FUJITA, K. Development and difference of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. **Pediatrics**, v. 72, p. 317, 1983.
- ZAMPA, A, et al. Effects of different digestible carbohydrates on bile acid metabolism and SCFA production by human gut micro-flora grown in an in vitro semi-continuous culture. **Anaerobe**, v. 10, p. 19–26, 2004.
- ZHANG, J.X. et al. Effects of oat and rye fractions on biliary and faecal bile acid profiles in Syrian golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). **British Journal of Nutrition**, v.70, p.525-536, 1993.
- ZHANG, JX, et al. Effects of rye bran, oat bran and soya-bean fibre on bile composition, gallstone formation, gall-bladder morphology and serum cholesterol in Syrian golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). **British Journal of Nutrition**, v.71, p. 861-870, 1994.
- ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 473-479, 1998.

## 7. ANEXO



CEUA/Unicamp

### Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/Unicamp

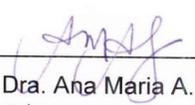
#### CERTIFICADO

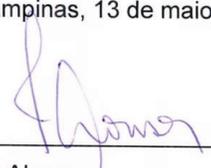
Certificamos que o Protocolo nº **2140-1**, sobre "**Caracterização parcial da estrutura e propriedades fisiológicas das fibras da folha de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*)**", sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán / Elisa Bernardes Monteiro**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/Unicamp em **03 de maio de 2010**.

#### CERTIFICATE

We certify that the protocol nº **2140-1**, entitled " \_\_\_\_\_ ", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on **May 3, 2010**.

Campinas, 13 de maio de 2010.

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Fátima Alonso  
Secretária Executiva

CEUA/UNICAMP  
Caixa Postal 6109  
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Telefone: (19) 3521-6359  
E-mail: [comisib@unicamp.br](mailto:comisib@unicamp.br)  
<http://www.ib.unicamp.br/ceea/>