

FORMULAÇÃO LÁCTEA A BASE DE FLOCOS DE ABÓBORA COM ADIÇÃO DE INULINA: EFEITOS NUTRICIONAIS E MORFOLOGIA INTESTINAL DE RATOS

INULIN-ENRICHED PUMPKIN BASED DAIRY FORMULA: NUTRITIONAL EFFECTS AND RAT INTESTINAL MORPHOLOGY

Andréa Carla Mendonça de SOUZA¹
Alda Verônica Souza LIVERA²
Samara Alvachian Cardoso ANDRADE³
Silvana Magalhães SALGADO²
Alex Benício da SILVEIRA⁴
Nonete Barbosa GUERRA²

Recebido em junho de 2018 / Aceito em agosto de 2018

Resumo

Foram estudados os efeitos nutricionais e morfologia intestinal de ratos utilizando uma formulação láctea à base de flocos de abóbora e inulina. Os animais, machos, *albinus*, linhagem *Wistar* foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos de 12: padrão de caseína (GC), experimental –GM+FAI – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora suplementada com 3% de inulina, respectivamente, durante 63 dias. A avaliação foi procedida por meio dos seguintes parâmetros: peso corpóreo, ingestão alimentar, eficiência alimentar, gordura da carcaça, índices bioquímicos (colesterol total, colesterol HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol e triglicérides) e ensaios histológicos e morfológicos do intestino dos ratos. Os dados foram submetidos ao teste “t” de Student e a análise de variância (ANOVA), ambos ao nível de 5% de significância, através do programa “Statistica for Windows 6.0”. Os resultados demonstraram que o grupo GM+FAI apresentou significativo aumento do peso corporal, ingestão alimentar, gordura da carcaça e, não apresentaram diferença significativa do perfil lipídico. Em relação as análises histológicas e morfométricas demonstram diferenças significativas ($p > 0,05$), entre os dois grupos. Os dados do presente estudo indicam que não obstante o baixo percentual de inulina adicionado, a combinação com os carotenóides resultou em alterações benéficas na nutrição e morfologia intestinal dos ratos.

Palavras-chave: suplemento dietético, perfil lipídico, morfologia, intestino.

¹Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Endereço para correspondência: Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE CEP: 52171-900. E-mail: andreacarlam@gmail.com

²Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco. Recife/PE

³Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco. Recife/PE

⁴Laboratório de Citologia e Histologia Quantitativa do Departamento de Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPE. Recife/PE

Abstract

Nutritional effects and rat intestinal morphology were studied using an inulin and pumpkin flakes based dairy formula. The animals, male *Wistar* albino rats, were randomly divided into two groups of 12: casein pattern (GC) and experimental — GM+FAI, modified by the addition of 6% of the pumpkin flakes based dairy formula enriched with 3% inulin —, for 63 days. The evaluation was made through the following parameters: body weight, food ingestion, feeding efficiency, carcass fat, biochemical rates (total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, VLDL cholesterol and triglycerides) and histological and morphological essays of rat intestines. Data were submitted to Student's t-test and variance analysis (ANOVA), both at 5% significance level, with "Statistica for Windows 6.0" software. Results demonstrate that the GM+FAI group showed significantly higher body weight gain, food ingestion and carcass fat, but no significant differences of lipidic profile. Regarding histological and morphometric analysis, there were significant differences ($p > 0.05$) between the two groups. Data from this study indicate that despite the low inulin percentage added, the combination to carotenoids resulted in benefic modifications on the nutrition and intestinal morphology of rats.

Keywords: dietetic supplement, lipidic profile, morphology, intestine.

INTRODUÇÃO

Segundo Sáyago-Ayerdi et al. (2007), plantas com fibras dietéticas e compostos bioativos tem despertado grande interesse dos pesquisadores, devido aos seus benefícios à saúde humana. De um modo geral, todos os oligossacarídeos e polissacarídeos com atividade prebiótica são considerados fibras alimentares, entretanto, nem todas as fibras são prebióticas (Gibson, 2004). Dentre os polissacarídeos, não digeríveis, com atividade prebiótica destaca-se a inulina (Roberfroid, 2005). Os resultados obtidos por diversos pesquisadores demonstram que este frutano estimula o crescimento das bifidobactérias, que atuam no sistema imunológico propicia efeitos positivos sobre a constipação e infecção gastrointestinal e inibe o crescimento de bactérias nocivas ao organismo (Pachikian et al. 2010;

Raschka e Daniel, 2005). Apresenta ainda, efeitos sobre a absorção de minerais, glicose, metabolismo lipídico e redução de risco de câncer (Pachikian *et al.* 2010; Roller *et al.*, 2007; LOBO, 2007; SOUZA *et al.* (2011).

Ademais, segundo ROBERFROID *et al.* (2010), estudos em diversos modelos animais tem demonstrado efeitos benéficos da inulina e oligofrutossacarídeos sobre o epitélio colônico, estimulando a proliferação nas criptas e modificando o perfil da mucosa e modulando as funções endócrinas, bem como as do sistema imune.

Estas evidências motivaram a adição de inulina a uma formulação láctea a base de flocos de abóbora desenvolvida por FARO (2001), cuja eficácia durante o desmame foi avaliada por SOUZA *et al.* (2011). Os resultados demonstraram que essa suplementação exerceu efeitos benéficos sobre o crescimento e desenvolvimento dos ratos. Considerando que o efeito da inulina é dependente do período de suplementação, foi realizada esta pesquisa com vista a avaliar seus efeitos nutricionais e morfologia da mucosa intestinal em ratos saudáveis até a idade adulta.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ensaio biológico e dietas experimentais

Neste ensaio, cujo protocolo experimental foi, previamente, aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (Nº 66/05), foram utilizados 24 ratos machos, *albinus*, linhagem Wistar, provenientes do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da UFPE, desmamados aos 21 dias de idade com peso médio de 45 a 55 g. Os animais, distribuídos ao acaso, em 2 grupos de 12 cada, durante 63 dias, mantidos em gaiolas individuais, sob condições controladas de temperatura ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo de luz de aproximadamente 12/12 horas.

Os flocos de abóbora utilizados na formulação foram obtidos em secador de tambor, marca Duprat MS, sob pressão de 6 atm, velocidade de 1 rpm e superfície de $0,75\text{ m}^2$, conforme FARO (2010). A abóbora, utilizada na elaboração dos flocos; o leite e o açúcar, usados na formulação das dietas, adquiridos no comércio local. A inulina

tipo frutano-ITF (Oraft Raftilose HPX, BENEIO) foi doada pela empresa Orafiti-Active Food Ingredients – Bélgica.

Durante o experimento, os animais do grupo controle (GC) – receberam a dieta padrão caseína, enquanto o grupo experimental (GM+FAI) - dieta caseína adicionada de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora suplementada com 3% de inulina. A Tabela 1 expressa a composição da dieta, equilibrada de acordo com a AIN 1993, para fase de crescimento conforme REEVES (1993).

Tabela 1. Composição das dietas experimentais (g/100g)

Constituintes (%)	GC	GM + FAI
Caseína	20,40	15,47
Minerais	3,50	2,37
Vitaminas	1,00	1,00
Óleo	7,00	3,35
Celulose	5,00	3,84
Colina	0,25	0,25
Amido	62,55	49,42
Cistina	0,30	0,30
Flocos de abóbora ^a	-	6,00
Leite ^b	-	12,00
Açúcar ^c	-	3,00
Inulina ^d	-	3,00
Total	100,00	100,00

^{a, b}Obtidos no comércio local. GC=grupo controle (Reeves, 1993). GM + FAI=grupo experimental (Reeves, 1993) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina^d – Orafiti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil).

Os controles do peso corporal e da ingestão alimentar foram efetuados a cada 8 dias e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), determinado pela relação entre o ganho de peso e a ingestão alimentar, ao final do experimento. As dietas e a água foram oferecidas *ad libitum* e, os animais observados diariamente, quanto a possíveis anomalias na aparência e aspectos clínicos.

Aos 63 dias, após jejum de 12 horas, sob anestesia, os animais foram submetidos a punção cardíaca para retirada das amostras de sangue destinadas às dosagens bioquímicas de colesterol total e triglicerídeos (Método Enzimático Trinder – Labtest/Diagnóstica), Colesterol HDL, colesterol LDL e colesterol VLDL (Método

Polietileno Glicol-PEG), conforme princípio empregado por RAUTELA e LIEDTKE (1978).

Imediatamente após a punção cardíaca, foi realizada perfusão com solução salina tamponada (tampão fosfato) e em seguida, com solução fixadora composta de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,2. Após a perfusão, o intestino foi dissecado e subsequentemente, procedeu-se a fixação com o líquido Bouin. Em seguida, após fechamento das extremidades do órgão com fio cirúrgico, deixando a luz totalmente preenchida pelo fixador, ocorreu imersão em recipiente contendo o mesmo líquido fixador (30x o volume total da peça), permanecendo nesta condição até análises posteriores.

Logo depois, foi realizada a limpeza dos animais, para a obtenção das carcaças, as quais foram cortadas, moídas e armazenadas sob congelamento a -20°C até o momento da determinação do conteúdo de gordura total, por extração contínua, em aparelho tipo Soxhlet, segundo a metodologia do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

Estudo histológico e morfométrico

A preparação histológica efetuada no Laboratório de Citologia e Histologia Quantitativa do Departamento de Ciências Farmacêuticas – CCS/UFPE teve início com a secção dos 10 cm iniciais do intestino delgado a partir da junção piloro-duodenal, do qual foram divididos, intercaladamente 3 fragmentos de 1cm do jejunum de 6 animais de cada grupo, escolhidos aleatoriamente. Na sequência, conforme metodologia padrão foi realizada a inclusão em parafina. Dos 3 blocos, de cada animal, foram obtidos, por meio de um micrótomo marca Jung com navalha de aço inoxidável de 16cm, 5 cortes de 5µm. Os cortes que perfizeram um total de 180 foram estirados em banho-maria histológico (marca AO) e dispostos sobre lâminas, previamente albuminadas (Mayer) e levados a estufa (FANEM) a 58°C, por 30 minutos, com vista a retirar o excesso de parafina e secar a preparação. Após o transcurso deste tempo, teve início o processo de coloração Hematoxilina-Eosina (HE) conforme Vitorino Maia (1979).

As observações e mensurações microscópicas das estruturas (Figura 1) foram realizadas em um Microscópio Óptico Leica (DMLS), com microcâmera Samsung – Color Digital (SHC – 410 NAD-HL), associada a software Analisador de Imagens Image-Lab criado pelo Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Goiás.

Figura 1. Representação esquemática da mensuração da altura da vilosidade e da espessura da túnica muscular (fotomicrografia com objetiva de 4x e 40x, respectivamente).



Fonte: Autores (2011)

Para evitar uma possível repetição de mensuração de uma mesma estrutura foram analisados os cortes “1 e 3” e “2 e 4” dos pares de lâminas correspondentes a cada animal conforme estabelecido na técnica histológica. Para análise morfométrica, mensurou-se: a altura da vilosidade, que foi tomada a partir da sua região basal, traçando-se uma reta entre os dois pontos da base e outra paralela à esta, tangenciando o ápice do vilo - a distância (em μm) fornecida pelo analisador de imagens, entre estas retas corresponde à altura da vilosidade -, enquanto a espessura

da túnica muscular foi realizada traçando-se uma reta no início da túnica serosa até a submucosa - a distância (em μm), compreendeu as áreas da camada muscular circular e longitudinal. As medidas de cada parâmetro foram efetuadas em triplicata, cuja média constitui o resultado.

Análises estatísticas

Os resultados da pesquisa foram expressos em média e desvio padrão e submetidos ao teste de Duncan e ao teste t de Student, todos ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram analisados utilizando o software Statistic for Windows 6.0.

RESULTADOS

Durante o experimento não foram observadas quaisquer anormalidades nos animais. Com relação aos parâmetros nutricionais, a Tabela 2 demonstra, diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a ingestão alimentar total e peso corporal dos ratos do GC e GM+FAI.

Tabela 2. Ingestão alimentar, peso corporal, coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e gordura da carcaça de ratos, alimentados com dietas, acrescidas ou não de inulina, durante 63 dias.

Variáveis	Tratamento Dietético	
	GC	GE+FAI
Ingestão alimentar (g)	888,55±182,39 ^a	910,09±86,20 ^b
Peso corporal (g)	275,55±36,17 ^b	308,25±34,21 ^a
CEA	0,25±0,01 ^b	0,28±0,01 ^a
Gordura da carcaça	15,46±0,53 ^a	13,44±0,63 ^b

GC=grupo controle (Reeves, 1993).

GE+FAI=grupo experimental (Reeves, 1993) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina^d – Orafti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil). n = 12 animais por grupo. *Letras diferentes não diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Quanto ao coeficiente de eficiência alimentar, foram registradas diferenças significativas entre os grupos, o que sugere um efeito adicional da incorporação de 3% de inulina na absorção da proteína do grupo GM+FAI. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos também foram evidenciadas nos teores de gordura da carcaça, que foram menores no grupo GM+FAI.

No que concerne aos lipídios plasmáticos, Tabela 3, embora não tenham sido detectadas diferenças significativas entre, os grupos, os animais do GM+FAI apresentaram, ao longo dos 63 dias do experimento, uma redução destes parâmetros em relação ao GC.

Tabela 3. Efeitos da ingestão de dietas GC e GM+FAI, sobre o perfil lipídico do soro de ratos, durante 63 dias.

Grupos	Colesterol Total (CT) (mg/dl)	Colesterol HDL (mg/dl)	CT / HDL	Colesterol VLDL (mg/dl)	Colesterol LDL (mg/dl)	Triglicerídeos (mg/dl)
GC						
X±sd	58,01±17,80 ^a	14,46±4,86 ^a	4,07±0,61 ^a	7,76±1,81 ^a	35,78±12,47 ^a	39,21±8,62 ^a
CV	0,31	0,34	0,15	0,23	0,35	0,22
GM+FAI						
X±sd	53,40±16,43 ^a	13,17±4,99 ^a	3,86±0,60 ^a	7,44±2,43 ^a	32,20±10,08 ^a	35,35±7,73 ^a
CV	0,31	0,38	0,15	0,33	0,31	0,22

* Resultados médios (X), desvio – padrão (X±sd) e coeficiente de variação (CV); n = 12 animais por grupo; Letras diferentes denotam diferença estatística entre grupos ao nível de $p < 0,05$. GC=grupo controle (Reeves, 1993); GM+FAI=grupo experimental (Reeves, 1993) - modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina – Orafiti Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil).

Os resultados das análises histológicas e morfométricas (Tabela 4) demonstram diferenças significativas ($p > 0,05$), entre os dois grupos, nos parâmetros avaliados.

DISCUSSÃO

O presente experimento ao demonstrar que o consumo de inulina como um simples ingrediente funcional acarretou uma elevação do consumo e do peso corporal

final de ratos adultos (Tabela 2), ratifica os resultados obtidos pelos mesmos autores, em trabalho anterior, com ratos, durante o desmame. As diferenças constatadas no coeficiente de eficiência alimentar (CEA) indicam que a adição de inulina à formulação de flocos de abóbora, rica em carotenóides, favoreceu as propriedades nutricionais da dieta. Convém ressaltar que não obstante a superioridade dos animais do grupo GM+FAI sobre os do grupo GC quanto ingestão alimentar, peso corporal e CEA, a gordura da carcaça apresentou-se significativamente inferior à dos ratos do GC, não foram observadas diferenças no perfil lipídico dos dois grupos e os valores de colesterol total e triglicerídeos situaram-se dentro do padrão estipulado para ratos (Harkness e Wagner, 1993; Canadian Council on Animal Care, 1993), confirmando o papel modulador da inulina sobre o metabolismo lipídico. Ademais, segundo BEYLOT (2005), a inulina parece evitar nos roedores, o desenvolvimento de esteatose hepática e o depósito adicional de lipídios em outros tecidos, por mecanismos ainda não esclarecidos

Quanto aos valores de colesterol-VLDL, LDL e HDL que se apresentam abaixo do estabelecido para estes animais (Guimarães e Mazáro, 2004; Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2009), a ausência de significância entre os grupos, pode ser decorrente do percentual de inulina adicionado, uma vez que reduções expressivas destes parâmetros, tem sido relatadas por diversos autores ao utilizarem dietas suplementadas com 10% a 20% de inulina (Kok N, Roberfroid M, Delzenne, 1996; Kok *et al.*, 1996; Davidson, 1998; Jenkins *et al.*, 1999; Delzenne e William, 2003; Letexier *et al.*, 2003). De acordo com DELZENNE *et al.* (2002), BALCÁZAR-MUÑOZ *et al.* (2003), BEYLOT (2005) e BRIGHENTI (2003), a ingestão de frutanos, tipo inulina e seus derivados, apresentam efeitos benéficos ao metabolismo lipídico, particularmente quanto a redução dos níveis de colesterol total, colesterol-VLDL e triglicerídeos.

Segundo LETEXIER *et al.* (2003), em humanos, apesar de conflitantes, os estudos têm demonstrado resultados positivos com pequenas doses (7 a 10 g), enquanto de acordo com PEDERSEN *et al.* (1997) (doses mais elevadas (15 a 20g) não apresentaram diferenças significativas. No que diz respeito à redução de triglicerídeos pela inulina, as discrepâncias encontradas na literatura, entre os

modelos experimentais, são, conforme BEYLOT (2005) devidas ao fato de serem oferecidas aos animais, maiores teores deste frutano.

Tabela 4. Medida da espessura da camada muscular e altura de vilosidade de ratos, alimentados com dietas, acrescida ou não de inulina, durante 63 dias.

Variáveis	Tratamento Dietético	
	GC	GM+FAI
Espessura da túnica muscular	16,67±1,15b	21,9±1,32a
Altura da vilosidade	157,2±4,82b	176,18±8,03a

GC=grupo controle (Reeves, 1993).

GM + FAI=grupo experimental (Reeves, 1993) – modificada pela adição de 6% da formulação láctea à base de flocos de abóbora com 3% de inulina^d – Orafit Active Food International (Clariant, São Paulo, Brasil). n = 12 animais por grupo. *Letras iguais na horizontal não diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Além destes efeitos nutricionais, são atribuídas à inulina e seus derivados, alterações da arquitetura da mucosa intestinal de ratos (Kleessen et al., 2003; Lobo, 2009). Para avaliar a atrofia da mucosa do trato gastrointestinal utilizou-se a morfometria, método objetivo apropriado para parâmetros quantitativos, específicos para mensurar a espessura da camada muscular e tamanho das vilosidades (Yassin et al., 2007; Ahmed et al., 2009).

Conforme Tabela 4, os resultados relativos à espessura da camada muscular e altura de vilosidade dos animais que consumiram a dieta experimental – GM+FAI, foram significativamente, superiores aos do GC. Estes achados são similares aos relatados por KLEESSEN et al. (2003) ao avaliarem as alterações causadas, pela ingestão de frutanos, na arquitetura da mucosa intestinal de ratos. Embora alguns autores creditem estes efeitos tróficos ao butirato, potente estimulador de divisão celular e reconhecido como a principal fonte de energia dos colonócitos, esta argumentação é ainda questionada por outros pesquisadores que estudam os efeitos benéficos deste ácido graxo de cadeia curta – AGCC (Goodlad e Englyst, 2001; Goodlad, 2007).

De acordo com LOBO et al. (2007) a fermentação da inulina e a consequente produção de AGCC são acompanhados por modificações na arquitetura da mucosa do intestino como resultante do aumento da celularidade e do nº de criptas, mecanismo que pode contribuir para o aumento da absorção pelo aumento da

superfície do intestino, conforme resultados obtidos nesta pesquisa. Em resumo, este estudo examinou os efeitos da combinação dietética da formulação de flocos de abóbora com inulina, sobre os parâmetros fisiológicos/nutricionais e morfológicos do intestino de ratos saudáveis até a idade adulta.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam sua benéfica influência sobre a maioria das variáveis estudadas e, em especial sobre os lipídios e parâmetros morfológicos — espessura da túnica muscular e tamanho das vilosidades, sugerindo uma possível ação prebiótica da inulina e abrindo novas perspectivas para a utilização desta formulação como alimento funcional.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq e a empresa Orafiti-Active Food Ingredients – Bélgica.

REFERÊNCIAS

AHMED, L.A.; RAMADAN, R.S.; MOHAMED, R.A. Biochemical and histopathological studies on the water extracts of marjoram and chicory herbs and their mixture in obese rats. **Pak J Nutr.**; v.8, n.10, p.581-7, 2009.

BALCÁZAR-MUÑOZ, B.; MARTINEZ-ABINDIS, E.; GONZALEZ-ORTIZ, M. Effect of oral inulin administration on lipid profile and insulin sensitivity in subjects with obesity and dyslipidemia. **Rev Med Chil.** v.131, n.6, p.597–604, 2003.

BEYLOT, M. Effects of inulin-type fructans on lipid metabolism in man and in animal models. **Br J Nutr.** v.93, n.S1, S63-8, 2005.

BRIGHENTI, F. Dietary fructans and serum triacylglycerols: a meta-analysis of randomized controlled trials. **J Nutr.** v.137, n.11, p.2552-2556, 2007.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. **Guide to the Care and Use of Experimental Animals**. Canadá; 1993.

CENTRO DE BIOTERISMO DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - FMUSP. Parâmetros bioquímicos de ratos do centro de bioterismo da FMUSP, 2008. [acessado em 12/05/2009]. Disponível em: http://www.biot.fm.usp.br/index.php?mpg=03.00.00&tip=RATO&id_ani=17¶metros=sim.

DAVIDSON, M.H. *et al*. Effects of dietary inulin on serum lipids in men and women with hypercholesterolemia. **Nutr Res**. v.18, n.3, p.503-517, 1998.

DELZENNE, N.M.; DAUBIOUL, C.; NEYRINCK, A.; LASA, M.; TAPER, H.S. Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals: review of biochemical events and future prospects. **Br J Nutr**. v.87, n.S2, S255-9, 2002.

DELZENNE, N.M.; WILLIAM, C.M. Prebiotics and lipid metabolism. **Curr Opin Lipidol**. v.13, n.1, p.61-67, 2002.

FARO, Z.P. Aproveitamento industrial da polpa de abóboras como estratégia para o combate à hipovitaminose A [**tese de doutorado**]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2001.

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

GOODLAD, R.A. Englyst HN. Redefining dietary fiber: potentially a recipe for disaster. **Lancet**. v.358, n.9296, p.1833-1834, 2001.

GOODLAD, R.A. Fiber can make your gut grow. **Nutrition**, v. 23, n.5, p. 434-435, 2007.

GUIMARÃES MA, Mazáro R. Princípios éticos e Práticos do uso de Animais de Experimentação. São Paulo: UNIFESP. 2004.

HARKNESS, S.E.; WAGNER, J.E. **Biologia e clínica de coelhos roedores**. São Paulo: Roca. 1993.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo- Brasil). **Métodos físico-químicos para análises de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4ª ed. Brasília (DF): ANVISA; 2005.

JENKINS, D. J. A.; KENDALL, C. W. C.; VUKSAN, V. Inulin, oligofructose and intestinal function. **J Nutr**. v.129, n.7, p.1431-1433, 1999.

KLEESSEN, B.; HARTMANN, L.; BLAUT, M. Fructans in the diet cause alterations of intestinal mucosal architecture, released mucins and mucosa-associated bifidobacteria in gnotobiotic rats. **Br J Nutr**. v.89, n.5, p.597-606, 2003.

KOK, N.; ROBERFROID, M.; DELZENNE, N. Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. **Metabolism**.v.45, n.12, p.1547-1550, 1996.

KOK, N.; ROBERFROID, M.; ROBERT, A.; DELZENNE, N. Involvement of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. **Br J Nutr**. v.76, n.6, p.881-890, 1996.

LETEXIER, D.; DIRAISON, F.; BEYLOT, M. Addition of inulin to a high carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycerol concentration in humans. **Am J Clin Nutr**. v.77, n.3, p.559-564, 2003

LOBO, A.R.; COLLI, C.; ALVARES, E.P.; FILISETTI, T.M.C.C. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. **Br J Nutr**., v.97, n.4, p.776-785, 2007.

LOBO AR, Mancini Filho J, Alvares EP, Cocato ML, Colli C. Effects of dietary lipid composition and inulin-type fructans on mineral bioavailability in growing rats. **Nutrition**. v.252, n.2, p.216-225, 2009.

MAIA, V. **Técnica Histopatológica**. 2ª Ed. São Paulo: Atheneu, 1979.

Yassin MN, Ashoush IS, El-Hadidy EM. Antioxidants content of chicory leaves extract and its effect as hypolipidemia agent in experimental rats. **Ann. Agric. Sci**. v. 52, p.177-186, 2007.

PACHIKIAN, B.D.; NEYRINCK, A.M.; DELDICQUE, L.; DE BACHER, F.C.; CATRY, E.; DEWULF, E. M. Changes in intestinal bifidobacteria levels are associated with the inflammatory response in magnesium-deficient mice. **J Nutr.**, v.140, n.3. p.509-514, 2010.

PEDERSEN, A.; SANDSTRÖM, B.; VAN AMELSVOORT, J. The effect of ingestion of inulin on blood lipids and gastrointestinal symptoms in healthy females. **Br J Nutr.** v.78, n.2, p.215–222, 1997.

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

RAUTELA, G.S.; LIEDTKE, R.J. Automated enzymic measurement of total cholesterol in serum. **Clin Chem.** v. 24, n.1, p.108-114, 1978.

REEVES, P.G. Components of the AIN-93 diets as improvement in the AIN-76^a diet. **J Nutr.**v.123, S.5, S.838-841, 1993.

ROBERFROID, M.B. Introducing inulin-type fructans. **Br J Nutr.**, v.93, n.1, p.13-25, 2005.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G.R.; HOYLES, L.; MCCARTNEY, A.L.; RASTALL, R.; ROWLAND, I. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **Br J Nutr.**, v.104, S.2, S1-63, 2010.

ROLLER, M.; CLUNE, Y.; COLLINS, K.; RECHKEMMER, G.; WATZL, B. Consumption of prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* has minor effects on selected immune parameters in polypectomised and colon cancer patients. **Br J Nutr.**v.97, n.4, p.676–684, 2007.

SÁYAGO-AYERDI, S.G; ARRANZ, S.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) Beverage. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, n.19, p. 7886–7890, 2007.

SOUZA, A.C.M.; SALGADO, S.M.; LIVERA, A.V.S.; BION, F.M.; ANDRADE, S.A.C.; SILVEIRA, K.C.; FARO, Z.P.; GUERRA, N.B. Efeitos de dieta elaborada com formulação láctea à base de flocos de abóbora e inulina sobre o crescimento e desenvolvimento de ratos após desmame. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.70, n.2, 2011.