



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**VANESSA PEREIRA GIL CASTILHO**

**INFLUÊNCIA DOS MANANOLIGOSSACARÍDEOS NOS NÍVEIS SÉRICOS,  
HEPÁTICOS E RENAIIS DE CÁLCIO, FÓSFORO, MAGNÉSIO, COBRE, SELÊNIO,  
ZINCO E FERRO EM RATOS WISTAR**

Presidente Prudente – SP  
2015

**VANESSA PEREIRA GIL CASTILHO**

**INFLUÊNCIA DOS MANANOLIGOSSACARÍDEOS NOS NÍVEIS SÉRICOS,  
HEPÁTICOS E RENAIIS DE CÁLCIO, FÓSFORO, MAGNÉSIO, COBRE, SELÊNIO,  
ZINCO E FERRO EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre – área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Hermann Bremer Neto

636.089  
R352i

Castilho, Vanessa Pereira Gil.

Influência dos mananoligossacarídeos nos níveis séricos, hepáticos e renais de cálcio, fósforo, magnésio, cobre, selênio, zinco e ferro em ratos wistar / Vanessa Pereira Gil Castilho. – Presidente Prudente, 2015.  
37f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente  
Prudente, SP, 2015.

Bibliografia.

Orientador: Hermann Bremer Neto.

1. Prebióticos. 2. Absorção intestinal. 3. Minerais.  
4. Ratos. I. Bremer Neto, Hermann. II. Título.

**VANESSA PEREIRA GIL CASTILHO**

**INFLUÊNCIA DOS MANANOLIGOSSACARÍDEOS NOS NÍVEIS SÉRICOS, HEPÁTICOS E RENAIIS DE CÁLCIO, FÓSFORO, MAGNÉSIO, COBRE, SELÊNIO, ZINCO E FERRO EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre.

Presidente Prudente, 29 de abril de 2016.



**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Hermann Bremer Neto  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof. Dr. Osimar Sanches  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

## DEDICATÓRIA

À Deus que sempre esteve no meu caminho em todo tempo e principalmente quando decidi iniciar o mestrado.

À minha filha Gabriela Pereira Gil Castilho, sempre tão presente, amável e incentivadora, nunca deixou que eu desistisse dos meus sonhos.

Aos meus pais Julio Sergio Gil e Elizabeth Maria Pereira Gil, que me deram a vida e todas as oportunidades de crescer como ser humano e profissional.

As minhas irmãs Leticia Pereira Gil e Natalia Pereira Gil, que motivaram sempre que possível e aguentaram meu mau humor.

Ao meu namorado Daniel Luizari Neto que demonstrou um carinho enorme, apoio e palavras de incentivo sempre que possível.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu Orientador Prof. Dr. Hermann Bremer Neto, que esteve ao meu lado em todos os momentos, não medindo esforços para que eu pudesse concluir a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur, que nunca mediu esforços para orientar e aconselhar durante a pesquisa.

Aos funcionários do Biotério Central e de Experimentação que acompanharam todo o processo experimental.

Aos alunos do Mestrado Heliard Rodrigues dos Santos Caetano, Paula Marioto Perez, pela colaboração durante o experimento e confecção da dissertação.

A Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE e a todos os professores do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, pelos anos fecundados.

*“Não devemos chamar o povo à escola para receber instruções, postulados, receitas, ameaças, repreensões e punições, mas para participar coletivamente da construção de um saber, que vai além do saber de pura experiência feita, que leve em conta as suas necessidades e o torne instrumento de luta, possibilitando-lhe ser sujeito de sua própria história”. (Paulo Freire)*

## RESUMO

### **Influência dos mananoligossacarídeos nos níveis séricos, hepáticos e renais de cálcio, fósforo, magnésio, cobre, selênio, zinco e ferro em ratos wistar**

Este estudo teve como objetivo determinar o efeito da inclusão de três diferentes mananoligossacarídeos (MOS) na dieta de ratos Wistar, na fase de crescimento, como modelo experimental, pela concentração sérica, hepática e renal de alguns elementos minerais (Ca, P, Mg, Cu, Se, Zn e Fe). Foram utilizados 160 ratos com 23 dias de idade, média de  $46,17 \pm 4,99$  g de massa corporal, alimentados por 56 dias e distribuídos em um delineamento em blocos casualizados, com quatro grupos: Controle (GC), MOS 1 (GM1), MOS 2 (GM2) e MOS 3 (GM3) em quatro momentos. A cada 14 dias foram coletadas amostras de soro, fígado e rim e analisadas com espectrometria de emissão ótica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). As concentrações de minerais foram utilizadas para elaboração de modelos de regressão linear simples, utilizando o tempo em dias como variável independente. Os coeficientes de regressão e respectivos interceptos foram comparados entre os grupos experimentais, dois a dois, pelo teste t não pareado, com 5% de significância. Os grupos suplementados com diferentes MOS apresentaram um aumento nos níveis de todos os minerais analisados no soro e tecidos renais e hepáticos, quando comparados com o grupo controle. Os grupos de animais suplementados com MOS diferiram significativamente entre si somente em relação ao mineral cálcio. Esses resultados sugerem que a suplementação na dieta com diferentes MOS pode ser benéfica para o aumento da absorção dos minerais Ca, P, Mg, Cu, Se, Zn e Fe, em ratos, como modelo experimental.

**Palavras-chave:** Prebióticos; Absorção Intestinal; Minerais; Ratos.

## ABSTRACT

### **Influence of mananoligosaccharids in serum, liver and kidney levels of calcium, phosphorus, magnesium, copper, selenium, zinc and iron in wistar rats**

This study aimed to determine the effect of including three different MOS (MOS) in Wistar rat diet in the growth phase, as an experimental model, measurement of blood, liver and kidney concentration of some mineral elements (Ca, P, Mg Cu, Se, Zn and Fe). Were used 160 rats with 23 days old, average of  $46.17 \pm 4.99$  g body weight, fed for 56 days and distributed in a randomized block design with four groups: Control (GC), MOS 1 (GM1), MOS 2 (GM2) and MOS 3 (GM3) in four moments. Every 14 days the serum samples were collected, liver and kidney and analyzed with optical emission spectrometry inductively coupled plasma (ICP-OES). Mineral concentrations were used for the preparation of simple linear regression models using the time in days as independent variable. The regression coefficients and respective intercepts were compared between experimental groups, two by two, by the unpaired t test, with 5% significance. The MOS supplemented with different groups showed increased levels of all the minerals in serum and liver and kidney tissues compared to controls. Groups of animals supplemented with MOS differ significantly only in relation to the mineral calcium. These results suggest that dietary supplementation with different MOS can be beneficial for increasing the absorption of minerals Ca, P, Mg, Cu, Se, Zn, and Fe in rats as experimental models.

**Keywords:** Prebiotics; Intestinal absorption; Minerals; Mice.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>10</b>
	<b>ANEXO A - PARECER DA COMISSÃO DE ETICA NO USO DE ANIMAIS.....</b>	<b>28</b>
	<b>ANEXO B - NORMAS DE PUBLICAÇÃO.....</b>	<b>29</b>

**Influência dos mananligossacarídeos nos níveis séricos, hepáticos e renais de cálcio, fósforo, magnésio, cobre, selênio, zinco e ferro em ratos wistar**

**Influence of mananligossacarids in serum, liver and kidney levels of calcium, phosphorus, magnesium, copper, selenium, zinc and iron in wistar rats**

Castilho Vanessa Pereira Gil<sup>1</sup>, Wesley Teruo Caires Umemura, Gabriel Zanuto Sakita, Adibe Luiz Abdalla, Hermann Bremer-Neto

1 Discente do Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: vapgil@hotmail.com; gabrielsakita@yahoo.com.br

2 Discente do Curso de Medicina, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail:

3 Discente do Curso de Química, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: wesleyteruo@gmail.com

4. Discente do Curso de Pós-Graduação do CENA/USP e supervisor de Pós-Doutorado Universidade de São Paulo, Laboratório de Nutrição Animal.

**Resumo**

Este estudo teve como objetivo determinar o efeito da inclusão de três diferentes mananligossacarídeos (MOS) na dieta de ratos Wistar, na fase de crescimento, como modelo experimental, através da concentração sérica, hepática e renal de alguns elementos minerais (Ca, P, Mg, Cu, Se, Zn e Fe). Foram utilizados 160 ratos com 23 dias de idade, média de  $46,17 \pm 4,99$  g de massa corporal, alimentados por 56 dias e distribuídos em um delineamento em blocos casualizados, com quatro grupos: Controle (GC), MOS 1 (GM1), MOS 2 (GM2) e MOS 3 (GM3) em quatro momentos. A cada 14 dias foram coletadas amostras de soro, fígado e rim e analisadas com espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). As concentrações de minerais foram utilizadas para elaboração de modelos de regressão linear simples, utilizando o tempo em dias como variável independente. Os coeficientes de regressão e respectivos interceptos foram comparados entre os grupos experimentais, dois a dois, pelo teste t não pareado, com 5% de significância. Os grupos suplementados com diferentes MOS apresentaram um aumento nos níveis de todos os minerais analisados no soro e tecidos renais e hepáticos, quando comparados com o grupo controle. Os grupos de animais suplementados com MOS diferiram significativamente entre si somente em relação ao mineral cálcio. Esses resultados sugerem que a suplementação na dieta com diferentes MOS pode ser benéfica para o aumento da absorção dos minerais Ca, P, Mg, Cu, Se, Zn e Fe, em ratos, como modelo experimental.

**Palavras-chave:** Absorção intestinal. Minerais. Prebióticos. Ratos.

### Abstract

This study aimed to determine the effect of including three different MOS (MOS) in Wistar rat diet in the growth phase, as an experimental model, measurement of blood, liver and kidney concentration of some mineral elements (Ca, P, Mg Cu, Se, Zn and Fe). Were used 160 rats with 23 days old, average of  $46.17 \pm 4.99$  g body weight, fed for 56 days and distributed in a randomized block design with four groups: Control (GC), MOS 1 (GM1), MOS 2 (GM2) and MOS 3 (GM3) in four moments. Every 14 days the serum samples were collected, liver and kidney and analyzed with optical emission spectrometry inductively coupled plasma (ICP-OES). Mineral concentrations were used for the preparation of simple linear regression models using the time in days as independent variable. The regression coefficients and respective intercepts were compared between experimental groups, two by two, by the unpaired t test, with 5% significance. The MOS supplemented with different groups showed increased levels of all the minerals in serum and liver and kidney tissues compared to controls. Groups of animals supplemented with MOS differ significantly only in relation to the mineral calcium. These results suggest that dietary supplementation with different MOS can be beneficial for increasing the absorption of minerals Ca, P, Mg, Cu, Se, Zn, and Fe in rats as experimental models.

**Keywords:** Intestinal absorption. Minerals. Prebiotics. Rats.

## Introdução

Os minerais são substâncias inorgânicas encontrados em todos os tecidos e fluidos corporais. A presença desses minerais é necessária para a manutenção de certos processos físico-químicos e atividades no corpo que são essenciais a vida. Esses elementos químicos podem ser classificados como macro (cálcio, fósforo, cloro e sódio) ou micro (ferro, cobre, cobalto, potássio, magnésio, iodo, zinco, manganês, molibdênio, fluoreto, crômio, selênio e enxofre) minerais. A terceira categoria são os elementos ultratraços. Os macrominerais são necessários em quantidades maiores que 100 mg/dL e os microminerais são necessários em quantidades inferiores a essa concentração (OZCAN, 2003; SOETAN et al., 2010).

As deficiências de micronutrientes acarretam problemas de saúde pública em muitos países em desenvolvimento, especialmente com crianças e mulheres grávidas, em situação de risco. Além disso, os infantes merecem preocupação extra, porque eles precisam de adequada quantidade de micronutrientes para manter o crescimento e desenvolvimento normais (RUSH, 2000). Desnutrição de micronutrientes, muitas vezes chamado de "fome oculta", é um grave problema de saúde mundial. A mais alta prevalência de deficiência de micronutrientes é a deficiência de ferro (Fe), que afeta cerca de 40% da população do mundo, em especial as mulheres e crianças em países em desenvolvimento (MUTHAYYA e tal., 2013; WHO, 2008). O sistema digestório do rato apresenta certas semelhanças com a dos seres humanos, pois boas correlações foram observadas entre trabalhar com ratos como animais de experimentação e sua comparação com seres humanos (GITTES, 1986; KLEE et al., 1990; IANDOLI JUNIOR et al., 2000; LAMBERT, 1965).

Uma eficaz, mas muitas vezes negligenciada, estratégia para aliviar a deficiência de minerais é a suplementação na dieta de substâncias que podem aumentar a absorção desses elementos, mesmo de refeições que apresentem baixa biodisponibilidade (HEATH et al., 2001). Dentre as opções, um ingrediente alimentar não digerível, descrito como prebiótico, pode ser rotineiramente adicionado aos alimentos, proporcionando mudanças específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal e para conferir benefícios a saúde do hospedeiro (ROBERFROID, 2007). Os prebióticos são resistentes à digestão na parte superior do trato intestinal e são subsequentemente fermentados no intestino grosso por componentes benéficos da microbiota (ROBERFROID, 2001). Os principais produtos finais da fermentação dos prebióticos no cólon são a produção de ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) (acetato, propionato e butirato), gases ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{H}_2$ ), calor, e massa de células bacterianas (TOPPING; CLIFTON, 2001). Esses produtos da fermentação bacteriana (incluindo SCFAs), proporcionam um pH mais baixo no cólon, com o aumento na solubilidade e absorção de alguns minerais no intestino grosso (CÁMARA-MARTOS; AMARO-LÓPEZ, 2002; SCHOLZ-AHRENS; SCHREZENMEIR, 2007).

Atualmente, existe um interesse crescente na identificação de compostos nutricionais funcionais capazes de modular a composição da microbiota intestinal, integridade da mucosa e atividades metabólicas. Não foram encontradas nas bases de dados indexadas estudos sobre os efeitos da administração de prebiótico,

mananoligossacarídeo (MOS), sobre a absorção de macro e microelementos, evidenciada pelas concentrações séricas e teciduais de ratos na fase de crescimento. Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo determinar a concentração sérica, hepática e renal de alguns elementos minerais (Ca, P, Mg, Cu, Se, Zn e Fe) e sua relação com a inclusão de diferentes MOS na dieta de ratos Wistar, como modelo experimental.

## Material e Métodos

Os animais do estudo foram 160 ratos machos da linhagem Wistar (40 animais por tratamento), 23 dias de idade ( $46,17 \pm 4,99$  g), alojados em gaiolas individuais e com livre acesso à dieta e à água. Os animais foram mantidos em temperatura média de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  e luminosidade controlada (12 horas de luz/escuro). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo 1172, em 2012 (Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil).

Foram formuladas quatro dietas e que compuseram os tratamentos, durante o período experimental de 56 dias. Como grupo controle (GC), os animais foram alimentados com uma dieta controle. Estabeleceu-se a dieta do grupo MOS 1 (GM1), composta da dieta controle acrescida de 1g do produto (mananoligossacarídeo, derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026, composta de 17% de  $\alpha$ -mananos) por kg da dieta, a dieta do grupo MOS 2 (GM2), composta da dieta controle adicionada de 0,4g do produto (fração ativa,  $\alpha$ -1,3 e  $\alpha$ -1,6 mananoproteína, derivada de um mananoligossacarídeo, apresentando 30% de  $\alpha$ -mananos) por kg da dieta e da dieta do grupo MOS 3 (GM3), composta da dieta controle incorporada com 1g do produto [ $\beta$ -glucanos, mananos, polímeros de manose, quitinas (polímeros de glucosamina) e galactanos (polímeros de galactose), derivado de uma cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae*] por kg da dieta. As dietas foram formuladas segundo as recomendações de Reeves et al. (1993) e a composição centesimal e química das dietas encontram-se na Tabela 1.

A cada 14 dias, nove animais de cada grupo foram anestesiados com uma dosagem de  $30 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de peso vivo de Tiopental  $50 \text{ mg.mL}^{-1}$  (Thiopentax, Cristália - Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. – São Paulo/SP, Brasil), por via intraperitoneal e eutanasiados por exsanguinação, conforme Paiva et al. (2005). As amostras de sangue foram centrifugadas para obtenção do soro, sendo transferidas em tubos plásticos e armazenadas em freezer a  $-20^\circ\text{C}$ . Constatada a morte do animal, foi realizada a abertura ampla da parede abdominal e foram colhidas amostras do fígado e rins e imediatamente estocadas em frascos plásticos em freezer a  $-20^\circ\text{C}$ , para posterior análise.

[Tabela 1]

Para a mineralização (digestão úmida) das amostras, foi utilizada uma mistura de ácido nítrico e clorídrico (J. T. Baker Chemical Co., Phillipsburg, NJ, USA), na proporção de uma para três partes, em forno de micro-ondas com sistema de vaso fechado (Provecto Analítica, modelo DGT 100 Plus, Campinas, São Paulo, Brasil).

Na digestão foi utilizado 1,0 mL de soro ou 1 g de fígado e rins, que foram transferidos para o frasco do aparelho de micro-ondas, acrescentando-se em seguida em cada recipiente a mistura ácida. Os extratos ácidos obtidos após este processo foram transferidos para tubo de ensaio graduado, acertando o volume final com água destilada na quantidade suficiente para 5,0 mL. A quantificação dos minerais presentes nas amostras de soro e tecidos renais e hepáticos foi obtida empregando-se a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado, através do espectrômetro simultâneo BAIRD, modelo ICP 2000 (Massachusetts, USA). As análises de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) foram realizadas segundo metodologia descrita por Maihara et al, (2001), a energia bruta (EB) foi determinada em calorimetria adiabática tipo Parr (Fisons Instruments, modelo EA1108), segundo Merrill e Watt (1973). Para cada um dos métodos avaliados foram feitas três repetições analíticas.

As concentrações de minerais no soro e tecidos renais e hepáticos (Em anexo as tabelas 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11, referentes as médias e desvios padrões do resultados obtidos) foram utilizadas para ajuste dos modelos de regressão linear simples, utilizando o tempo em dias como variável independente. Os coeficientes de regressão e respectivos interceptos foram comparados entre os grupos experimentais, dois a dois, pelo teste t não pareado. As análises foram conduzidas no software Biostat 5.3. Foi adotado nível de 5% de significância (ANDRADE; ESTÉVEZ-PÉREZ, 2014).

## Resultados e Discussão

As Tabelas 2, 3 e 4 mostram os resultados das comparações estatísticas entre interceptos (int.) e coeficientes angulares (beta) dos modelos de regressão linear simples, considerando-se os resultados das dosagens minerais no fígado, rim e soro como variável dependente e o tempo em dias como independente. Observou-se que os ratos suplementados com diferentes MOS apresentaram um aumento significativo nos níveis de Ca no soro e tecidos renais e hepáticos, quando comparados com os resultados dos ratos alimentados com a dieta controle. Entre os grupos suplementados, o grupo GM3 diferiu somente do grupo GM1. As diferenças entre os grupos revelaram ser somente através do coeficiente linear (intercepto) e não em relação ao coeficiente angular, na qual ficaram próximos de zero, indicando que os níveis do Ca se mantiveram constantes durante o período experimental de 56 dias em todos os grupos. Talvez esses resultados possam ser devido as diferentes fontes (cepas de leveduras) e ou frações ativas dos prebióticos. O efeito estimulador de alguns oligossacarídeos é assumido como sendo devido principalmente ao seu carácter prebiótico, pois como substrato ou ingrediente alimentar, não é digerível pelo hospedeiro, mas fermentado seletivamente por alguns microrganismos da microbiota intestinal. Além disso, ele estimula o crescimento e a atividade de bactérias com consequências benéficas para a saúde do hospedeiro. Estes efeitos, em humanos, parecem ser específicos para cada tipo de carboidrato, assim como a correspondente taxa de fermentação pela microbiota intestinal (SCHOLZ-AHRENS et al., 2001), o que pode explicar os resultados não homogêneos de diferentes prebióticos (SCHOLZ-AHRENS et al., 2007).

Além disso, os diferentes MOS podem apresentar diferentes capacidades de ligação às fimbrias das bactérias patogênicas e com isso inibir a sua colonização no trato gastrointestinal (MAIORKA et al., 1997). A diminuição da colonização de patógenos promove o aumento da absorção de nutrientes, devido à diminuição da taxa de passagem da digesta, interferindo com a taxa de rotação da parede da célula intestinal e a espessura da mucosa intestinal (VISEK, 1978; MILES et al., 1989), assim como baixando o pH do cólon proximal, a partir de ácidos graxos de cadeia curta (SCFAS), produzidos pela fermentação dos oligossacarídeos pelas bactérias benéficas da microbiota entérica, aumentando a quantidade de cálcio que está presente na fase solúvel e disponível para a absorção (GREGER, 1999).

[Tabela 2]

Middelbos et al. (2007) e Vickers et al. (2001) relataram que a inclusão na dieta de levedura seca como uma fonte de MOS resultou num aumento das populações de bifidobactérias e lactobacilos na digesta e fezes e, conseqüentemente, a diminuição do pH fecal (-0,4), com moderada produção de SCFAS. A consequência da presença de produtos da fermentação microbiana, principalmente lactato e butirato, acarreta uma maior reabsorção de cálcio e de outros minerais, devido à proliferação de enterócitos (DELZENNE et al., 1995; SCHOLZ-AHRENS et al., 2001; SCHOLZ-AHRENS et al., 2007), o que acarreta um incremento na via transcelular, que envolve o transporte ativo de cálcio pela proteína calbindina, que é saturável e sujeita à regulação fisiológica e nutricional e regulada pelo componente ativo da vitamina D, o calcitriol (VAN DOKKUM, 2003). A via paracelular, que envolve o transporte passivo de cálcio através das zônulas de oclusão, entre as células da mucosa, é insaturável, e essencialmente independente da regulação nutricional e fisiológica (STRAIN; CASHMAN, 2005). O fator mais importante de transporte transcelular de Ca no intestino é o CaBP, um colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), que induz a ligação do Ca com a proteína (BOUILLON et al., 2003) e que está presente no duodeno, jejuno e ceco (HOWARD et al., 1993). Existe uma correlação positiva entre a quantidade de CaBP na mucosa e a eficiência de absorção de Ca (BRONNER, 2003), pois o aumento na mucosa de CaBP indicaria um aumento na absorção do cálcio a partir dos segmentos intestinais, duodeno, jejuno e ceco (HOWARD et al., 1993). O aumento da produção de SCFAS aumenta os níveis de Ca livre e a expressão na mucosa de CaBP mRNA, indicando que ambas as vias de absorção de Ca foram estimuladas. Além disso, a hipertrofia do ceco, induzida pelos SCFAS, aumenta a superfície de absorção de minerais nesse segmento intestinal (LI-CHAN et al., 2013).

Em crianças e adolescentes o pH gastrointestinal difere e pode ter um efeito sobre o impacto de prebióticos na absorção do mineral (HICKS et al., 2012), assim como podem ter um efeito trófico global sobre a mucosa intestinal (GREGER, 1999; ABRAMS et al., 2005), a partir do ceco, cólon e reto e que foram estimulados pelos oligossacarídeos (OHTA et al., 1995), assim como no intestino delgado de ratos (MINEO et al., 2002; SUZUKI; HARA, 2004; HARA; KONDO, 2005). Estudos realizados em humanos visando aumentar da absorção de

cálcio, através da suplementação na dieta com frutoligossacarídeos, produziram resultados contraditórios, em grande parte devido a preparação dos suplementos, diferenças na metodologia de análise e da população examinada (GRIFFIN et al., 2003; DAHL et al., 2005).

[Tabela 3]

As dietas nesse estudo foram balanceadas com a mesma concentração de P e dos outros minerais, para que os resultados possam ser devido somente à presença ou não dos três diferentes MOS, pois segundo Hays e Swenson (1985), a absorção intestinal do P está negativamente relacionado com o teor de P na dieta, assim como o conteúdo mineral dietético. Neste estudo, os grupos suplementados com diferentes MOS apresentaram um incremento significativo nos níveis do P no soro e tecidos renais e hepáticos, quando comparados com os ratos alimentados com a dieta controle. Os grupos suplementados não diferiram entre si. Ao longo do período experimental os grupos mantiveram os níveis de concentração (coeficiente angular próximo de zero) e diferiram somente em relação ao coeficiente linear (intercepto). Os níveis maiores de P podem ser devido à suplementação com MOS, pois acidificam o meio, em decorrência da produção de SCFAS derivados da fermentação dos oligossacarídeos pelos microrganismos benéficos, principalmente lactobacilos e bifidobactérias, causando a solubilização de minerais, como o Ca e P, e aumentando a altura e o perímetro de vilos e, conseqüentemente, a área de absorção (MINEO et al., 2002; SUZUKI; HARA, 2004; HARA; KONDO, 2005).

Nesse estudo foi utilizado uma dieta purificada para roedores de laboratório, Ain-93, para poder manter uma relação próxima do ideal de Ca:P para os roedores, que é de 2:1. Do ponto de vista nutricional, a relação cálcio e fósforo em uma dieta é considerada importante, uma vez que, teoricamente, a baixa proporção Ca:P contribui para a absorção de cálcio no cólon. Além disso, os prebióticos podem exercer efeitos benéficos sobre o fluxo do íleo, devido ao impacto das frações fermentáveis dos polissacarídeos sobre a taxa de passagem da digesta, capacidade de ligação de íons e uma maior viscosidade da digesta (IDOURAINE et al., 1996, LENTLE e JANSSEN, 2008). Outros prebióticos, utilizados na dieta de cães e ratos, não proporcionaram diferença em relação ao balanço ou retenção de P (BEYNEN et al., 2002; OHTA et al., 1994; SCHOLZ-AHRENS et al., 2002).

[Tabela 4]

A deficiência de minerais é a carência nutricional mais prevalente no mundo todo. Atualmente, há cada vez mais interesse em melhorar a saúde do intestino e, conseqüentemente, aumentar a absorção de elementos, gerindo a população microbiana do cólon. A maior parte dos suplementos que demonstram um efeito prebiótico revelam uma absorção semelhante do Mg aos descritos para o Ca, o que também foi observado nesse estudo. Talvez os resultados obtidos nesse estudo sejam devido a redução do pH no cólon, aumento da solubilidade e conseqüente absorção de magnésio (HEIJNEN et al., 1993). É também possível que SCFAS afetem a absorção

de magnésio (RAYSSIGUIER; REMESY, 1977) e o ácido butírico demonstrou ser mais eficiente do que os ácidos propiônico e acético, provavelmente através de um mecanismo de troca de cátions (LEONHARD-MAREK et al., 1998). O ácido butírico é capaz de aumentar a absorção intestinal desse mineral, através da ativação de um apical antiporte  $Mg^{2+}/H^{2+}$ , e que fornece prótons dentro da célula epitelial. Em cães, os efeitos significativos na retenção de magnésio ocorreram sem ter sido aferida qualquer alteração no pH fecal (BEYNEN et al., 2002).

Em relação ao Zn, observados um incremento nos níveis desse mineral no soro e tecidos renais e hepáticos nos grupos suplementados com MOS, em relação ao grupo controle e não entre si. Essa diferença se manteve constante ao longo do período experimental de 56 dias. Esse aumento significativo pode ser resultado da fermentação dos MOS, produzindo SCFAS e que é um fator importante na estimulação de células epiteliais, pois promovem a proliferação de células no intestino grosso (MINEO et al., 2006) e induzem o aumento da microbiota do cólon (SERENA et al., 2008), podendo ainda afetar benéficamente a absorção ativa de cátions, como o zinco, através da influência da expressão de genes de proteínas envolvidas na ligação e sequestro do mineral nas mucosas (TAKO et al., 2008) ou ainda modificar a permeabilidade da mucosa do cólon (MINEO et al., 2006). Além disso, a fermentação dos prebióticos e outros componentes alimentares, que fluem para o intestino grosso podem estimular a absorção ou excreção de minerais, dependendo do mineral presente e a intensidade da fermentação (METZLER-ZEBELI et al., 2010). Czech e Grela (2006) registraram um aumento da concentração de zinco no plasma de éguas suplementadas com uma mistura de mananoligossacarídeos. Porcos suplementados com outros prebióticos, inulina e FOS, também apresentaram maior absorção de zinco (PATTERSON et al., 2009 COUDRAY et al., 2003). O equilíbrio do Zn e Fe pode ser melhorado pelo consumo desses suplementos (DELZENNE et al., 1995).

Os níveis de Fe no soro, fígado e rins nos grupos suplementados com MOS foram aumentados em relação ao grupo GC e não entre si, evidenciado através da diferença significativa no parâmetro intercepto. Esses resultados possivelmente sejam devido à ação do prebiótico, pois em animais e humanos, esses oligossacarídeos promovem no sistema digestório o aumento da população de bactérias benéficas da microbiota entérica, produção de compostos naturais antimicrobianos e melhora na capacidade de resposta do sistema imunológico e nas concentrações de SCFAS, especialmente o butírico, que é a fonte de energia preferida de colonócitos, que estimulam a integridade intestinal (FULLER, 1989). O aumento das concentrações de SCFAS também reduzem o pH intestinal, o que está associado a um aumento da solubilidade de certos nutrientes e melhora nos índices morfométricos intestinais (FULLER, 1989; GIBSON; ROBERFROID, 1995; IJI et al., 2001; MARKOVIC et al., 2009). Além disso, os SCFAS podem aumentar a área de absorção, através da estimulação da proliferação das células epiteliais e das bactérias benéficas, lactobacilos e bifidobactérias, em humanos com baixo nível de biodisponibilidade como Fe e esse resultado é devido à redução da quantidade de bactérias patogênicas e que utilizam o Fe dietético (PATTERSON et al., 2008).

A solubilidade do ferro em sistemas aquosos é influenciada por muitos fatores, incluindo o pH, potencial de redução, concentração e formas químicas de ligantes que podem formar complexos ou quelatos com o metal, assim como as concentrações de outros íons. Presumivelmente, o Fe deve estar numa forma solúvel no lúmen do trato gastrointestinal antes de poder ser absorvido pelos enterócitos (MILLER; BERNER, 1989). Outros prebióticos que ocorrem naturalmente em trigo também demonstraram um efeito intensificador na absorção do Fe (OHTA et al., 1998; VAN DE WIELE et al., 2007), assim como inulina e oligofrutose, em ratos anêmicos (FREITAS et al., 2012).

Poucos estudos foram realizados em ratos ou humanos associando Cu e prebióticos, porém relatam efeito positivo sobre a absorção desse mineral (DELZENNE et al., 1995). Em ratos, Lopez et al. (2000) estudaram a ingestão de diferentes dietas contendo FOS e a absorção aparente de minerais aumentou significativamente pela ingestão desse prebiótico (Ca + 20%, Mg + 50%, Fe + 23%, Cu + 45%). Nas condições desse estudo observamos o incremento na absorção do Cu nos grupos suplementados com MOS e esse aumento se manteve constante ao longo do período experimental. Ducros et al. (2005) demonstraram que o consumo de ingredientes que mostram um efeito prebiótico foi associado ao aumento da absorção de cobre. Esse mesmo autor cita que nenhum efeito pode ser demonstrado na biodisponibilidade do Zn ou Se, porém nesse estudo observamos aumento nos níveis de Se e Zn no soro e tecidos hepáticos e renais dos animais dos grupos suplementados com MOS. Mananoligossacarídeos nem sempre modificam o pH fecal ou aumentam a concentração de SCFAS em suínos (WHITE et al., 2002) e cães (SWANSON et al., 2002). A sua baixa taxa de inclusão na dieta comparada com outros hidratos de carbono não digeridos, tais como amido resistente, não polissacarídeos de cereais ou oligossacarídeos não digeríveis de soja, provavelmente possam impedir o seu potencial para promover diferentes padrões de fermentação (CASTILLO et al., 2008). O efeito benéfico sobre a morfologia da biomassa intestinal pode ser devido a uma redução na população de enterobactérias, acarretando um aumento significativo da altura das vilosidades (IJI et al., 2001), o que pode ter acarretado os aumentos nos níveis dos minerais estudados.

## **Conclusões**

Este estudo demonstrou que prebióticos provenientes da levedura *Saccharomyces cerevisiae* podem aumentar significativamente os níveis no soro, tecidos renais e hepáticos dos minerais cálcio, fósforo, magnésio, cobre, selênio, zinco e ferro de ratos wistar.

## **Agradecimentos**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, S. A.; GIFFIN, I. J.; HAWTHORNE, K. M.; LIANG, L.; DARLINGTON, G.; GUNN, K.; DARLINGTON, G.; ELLIS K. J. A combination of prebiotic short-and-long chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, v. 82, n. 2, 471-476, 2005.
- ANDRADE, J. M.; ESTÉVEZ-PÉREZ, M. G. Statistical comparison of the slopes of two regression lines: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, Coruña, v. 838, 1–12, 2014.
- BATRA, J.; SETH, P. K. Effect of iron deficiency on developing rat brain. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, Ghaziabad, v. 17, n. 2, 108-114, 2002.
- BEYNEN, A. C.; BAAS, J. C.; HOEKEMEIJER, P. E.; KAPPERT, H. J.; BAKKER, M. H.; KOOPMAN, J. P.; LEMMENS, A. G. Faecal bacterial profile, nitrogen excretion and mineral absorption in healthy dogs fed supplemental oligofructose. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, Utrecht, v. 86, n. 9-10, 298–305, 2002.
- BOUILLON, R.; VAN CROMPHAUT, S.; CARMELIET, G. Intestinal calcium absorption: molecular vitamin D mediated mechanisms. **Journal of Cellular Biochemistry**, Leuven, v. 88, n. 2, 332–339, 2003.
- BRONNER, F. Mechanisms of intestinal calcium absorption. **Journal of Cellular Biochemistry**, Farmington, v. 88, n. 2, 387-393, 2003.
- CÁMARA-MARTOS, F.; AMARO-LÓPEZ, M. A. Influence of dietary factors on calcium bioavailability: a brief review. **Biological Trace Element Research**, Córdoba, v. 89, n. 1, 43-52, 2002.
- CASTILLO, M.; MARTÍN-ORÚE, S. M.; TAYLOR-PICKARD, J. A.; PÉREZ, J. F.; GASA, J. Use of mannanoligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: effects on microbiota and gut function. **Journal of Animal Science**, Barcelona, v. 86, n. 1, 94-101, 2008.
- COUDRAY, C.; DEMIGNE, C.; RAYSSIGUIER, Y. Effects of dietary fibers on magnesium absorption in animals and human. **The Journal of Nutrition**, Saint Genès Champanelle, v. 133, n. 1, 1-4, 2003.
- CZECH, A.; GRELA, E. R. Influence of Bio-Mos mannan oligosaccharides in mare diets on colostrum and milk composition and blood parameters . In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries: Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium, 2006, Lexington. **Resumos...** Lexington: Alltech's 22nd Annual Symposium, 2006. P. 301-310.
- DAHL, W.; WHITING, S.; ISAAK, T.; WEEKS, S.; ARNOLD, C. Effects of thickened beverages fortified with inulin on beverage acceptance, gastrointestinal function, bone resorption in institutionalized adults. **Nutrition**, Saskatoon, v. 21, n. 3, 308–311, 2005.
- DELZENNE, N.; AERTSSENS, J.; VERPLAETSE, H.; ROCCARO, M.; ROBERFROID, M. Effect of fermentable fructo-oligosaccharides on mineral, nitrogen and energy digestive balance in the rat. **Life Sciences**, Brussels, v. 57, n. 17, 1579-1587, 1995.
- DUCROS, V.; ARNAUD, J.; TAHIRI, M.; COUDRAY, C.; BORNET, F.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; BROUNS, F.; RAYSSIGUIER, Y.; ROUSSEL, A. M. Influence of short-chain fructo-oligosaccharides (sc-FOS)

- on absorption of Cu, Zn, and Se in healthy postmenopausal women. **Journal of the American College Nutrition**, La Tronche, v. 24, n. 1, 30-37, 2005.
- FREITAS, K. C.; AMANCIO, O. M.; DE MORAIS, M. B. High-performance inulin and oligofructose prebiotics increase the intestinal absorption of iron in rats with iron deficiency anaemia during the growth phase. **The British journal of nutrition**, Dourados, n. 108, n. 6, 1008–1016, 2012.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **The Journal of applied bacteriology**, Shinfield, v. 66, n. 5, 365–378, 1989.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID, B. M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of nutrition**, Cambridge, v. 125, n. 6, 1401-1412, 1995.
- GITTES, R. F. Carcinogenesis in ureterosigmoidostomy. **The Urologic clinics of North America**, La Jolla, v. 13, n. 2, 201-205, 1986.
- GREGER, J. L. Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. **The Journal of Nutrition**, Madison, v. 129, n. 7, 1434S–1435S, 1999.
- GRIFFIN, I. J.; HICKS, P. M. D.; HEANEY, R. P.; ABRAMS, S. A. Enriched chicory inulin increases absorption mainly in girls with lower calcium absorption. **Nutrition Research**, Houston, v. 23, n. 7, 901–909, 2003.
- HARA, H.; KONDO, K. Diffructose anhydrides III and IV equally promote calcium absorption from the lumenally perfused rat small intestine. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Hokkaido, v. 69, n. 4, 839-841, 2005.
- HAYS, V. W.; SWENSON, M. J. Minerals and Bones. In: Dukes' Physiology of Domestic Animals, Tenth Edition, 1985, Ithaca. **Resumos do Cornell University Press**, 1985, P. 449-466.
- HEATH, A. L. M.; SKEAFF, C. M.; O'BRIEN, S. M.; WILLIAMS, S. M.; GIBSON, R. S. Can dietary treatment of non-anemic iron deficiency improve iron status? **Journal of the American College of Nutrition**, Dunedin, v. 20, n. 5, 477–484, 2001.
- HEIJNEN, A. M.; BRINK, E. J.; LEMMENS, A. G.; BEYNEN, A. C. Ileal pH and apparent absorption of magnesium in rats fed on diets containing either lactose or lactulose. **The British journal of nutrition**, n. 70, v. 3, 747- 756, 1993.
- HICKS, P. D.; HAWTHORNE, K. M.; BERSETH, C. L.; MARUNYCZ, J. D.; HEUBI, J. E.; ABRAMS, S. A. Total calcium absorption is similar from infant formulas with and without prebiotics and exceeds that in human milk-fed infants. **BMC Pediatrics**, Houston, v. 12, 118-124, 2012.
- HOWARD, A.; LEGON, S.; WALTERS, J. R. F. Human and rat intestinal plasma membrane calcium pump isoforms. **The American Journal of Physiology**, London, v. 265, n. 5, G917–G925, 1993.
- IANDOLI JUNIOR, D.; NIGRO, A. J. T.; SEMENTILLI, A.; JULIANO, Y.; NOVO, N. F. End-to-end esophagogastric anastomosis comparative study, between a single layer and submucosa-mucosa invagination techniques in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Santos, v. 15, n. 1, 00-00, 2000.
- IDOURAINE, A.; KHAN, M. J.; WEBER, C. W. In vitro binding capacity of wheat bran, rice bran, and oat fiber for Ca, Mg, Cu, and Zn alone and in different combinations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Tucson, v. 44, n. 8, 2067–2072, 1996.
- IJI, P. A.; SAKI, A. A.; TIVEY, D. R. Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Adelaide, v. 81, n. 12, 1138–1192, 2001.
- KLEE, L. W.; HOOVER, D. M.; MITCHELL, M. E.; RINK, R. C. Long term effects of gastrocystoplasty in rats. **The Journal of urology**, Indianapolis, v. 144, n. 5, 1283-1287, 1990.
- LAMBERT, R. **Surgery of the digestive system in the rat**. Springfield: British Journal of Surgery, 1965. 501p., 23 cm.

- LENTLE, R. G.; P. JANSSON, W. M. Physical characteristics of digesta and their influence on flow and mixing in the mammalian intestine: A review. **Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology**, Palmerston North, v. 178, n. 6, 673–690, 2008.
- LEONHARD-MAREK, S.; GABEL, G.; MARTENS, H. Effects of short chain fatty acids and carbon dioxide on magnesium transport across sheep rumen epithelium. **Experimental Physiology**, Hannover, v.83, n. 2, 155-164, 1998.
- YANG, L. C.; WU, J. B.; LU, T. J.; LIN, W. C. The prebiotic effect of *Anoectochilus formosanus* and its consequences on bone health. **The British journal of nutrition**, Taipei, v. 109, n. 10, 1779–1788, 2013.
- LOPEZ, H. W.; COUDRAY, C.; LEVRAT-VERNY, M. A.; FEILLET-COUDRAY, C.; DEMIGNÉ, C.; RÉMÉSY, C. Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. **The Journal of Nutricional Biochemistry**, Riom, v. 11, n. 10, 500–508, 2000.
- MAIORKA, A.; LECZNIESKI, J.; BARTELS, H. A. Efeito do nível energético da ração sobre o desempenho de frangos de corte de 1 a 7, 7 a 14, 14 a 21 dias de idade. In.: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1997. p.18.
- MARKOVIC, R.; SEFER, D.; KRSTI, M.; PETRUJKI, B. Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. **Archivos de medicina veterinária**, Belgrade, v. 41, 163–169, 2009.
- MAIHARA, V. A.; FÁVARO, D. I. T.; SILVA V. N.; GONZAGA, T. B.; SILVA, V. L.; CUNHA, I. I. L.; VASCONCELLOS, M. B. A.; COZZOLINO, S. M. F. Determination of mineral constituents in duplicate portion diets of two university student groups by instrumental neutron activation. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, São Paulo, v. 249, n. 1, 21-24, 2001.
- MERRILL, A. L.; WATT, B. K. **Energy Value of Foods...basis and derivation**. Washington: Agriculture Handbook, 1973. 109 p., 23 cm. United States Department of Agriculture. ISBN: 0-493-791.
- METZLER-ZEBELI, B. U.; HOODA, S.; MOSENTHIN, R.; GÄNZLE, M. G.; ZIJLSTRA R. T. Bacterial fermentation affects net mineral flux in the large intestine of pigs fed diets with viscous and fermentable nonstarch polysaccharides. **Journal of animal science**, Alberta, v. 88, n. 10, 3351–3362, 2010.
- MIDDELBOSS, I. S.; FASTINGER, N. D.; FAHEY Jr, G.C. Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dogs in comparison to fiber standards. **Journal of animal science**, v. 85, n. 11, 3033-3044, 2007.
- MILES, R. D.; JANKY, D. M.; WOODWARD, A. S.; HARMS, R. H.; BUTCHER, G.; HENRY, P. R. **Antibiotic effects on broiler performance. Intestinal tract strength and morfology**. Gainesville (FL): University of Florida. Department of Animal Science, 1989.
- MILLER, D. D.; BERNER, L. A. Is solubility in vitro a reliable predictor of iron bioavailability? **Biological Trace element research**, Ithaca, v. 19, n. 1-2, 11-24, 1989.
- MINEO, H.; AMANO, M.; MINAMINIDA, K.; CHIJI, H.; SHIGEMATSU, N.; TOMITA, F.; HARA, H. Two-week feeding of difructose anhydride III enhances calcium absorptive activity with epithelial cell proliferation in isolated rat cecal mucosa. **Nutrition**, Sapporo, v. 22, n. 3, 312–320, 2006.
- MINEO, H.; HARA, H.; SHIGEMATSU, N.; OKUHARA, Y.; TOMITA F. Melibiose, difructose anhydride III and difructose anhydride IV enhance net calcium absorption in rat small and large intestinal epithelium by increasing the passage of tight junctions in vitro. **The Journal of Nutrition**, Sapporo, v. 132, n. 11, 3394-3399, 2002.
- MUTHAYYA, S.; RAH, J. H.; SUGIMOTO, J. D.; ROOS, F. F.; KRAEMER, K.; BLACK, R. E. The global hidden hunger indices and maps: an advocacy tool for action. **PLoS One**, Sydney, v. 8, n. 6, 8:7860, 2013.
- OHTA, A.; BABA, S.; TAKIZAWA, T.; ADACHI, T. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of magnesium in the magnesium-deficient rat model. **Journal of nutricional science and vitaminology**, Sakado, v. 40, n. 2, 171–180, 1994.

- OHTA, A.; MOTOHASHI, Y.; OHTSUKI, M.; HIRAYAMA, M.; ADACHI, T.; SAKUMA, K. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats. **The Journal of nutrition**, Saitama, v. 128, n. 6, 934-939, 1998.
- OHTA, A.; OHTSUKI, M.; BABA, S.; ADACHI, T.; SAKATA, T.; SAKAGUCHI, E. Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. **The Journal of nutrition**, Sakado, v. 125, n. 9, 2417-2424, 1995.
- OZCAN, M. Mineral Contents of some Plants used as condiments in Turkey. **Food Chemistry**, Konya, v. 84, n. 3, 437-440, 2003.
- PAIVA, F. P.; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. C. S. Curso de manipulação de animais de laboratório. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Salvador – BA, maio 2005. Disponível em: [http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio\\_apostila.pdf](http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio_apostila.pdf)
- PATTERSON, J. K.; LEI, X. G.; MILLER, D. D. The pig as an experimental model for elucidating the mechanisms governing dietary influence on mineral absorption. **Experimental biology and medicine**, Ithaca, v. 233, n. 6, 651-664, 2008.
- PATTERSON, J. K.; RUTZKE, M. A.; FUBINI, S. L.; GLAHN, R. P.; WELCH, R. M.; LEI, X.; MILLER, D. D. Dietary inulin supplementation does not promote colonic iron absorption in a porcine model. **Journal of agricultural and food chemistry**, Ithaca, v. 57, n. 12, 5250-5256, 2009.
- RAYSSIGUIER, Y.; REMESY, C. Magnesium absorption in the caecum of rats related to volatile fatty acids production. **Annales de recherches vétérinaires. Annals of veterinary research**, Saint-Genès-Champanelle, v. 8, n. 2, 105-110, 1977.
- REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY Jr., G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of nutrition**, Grand Forks, v.123, n. 11, 1939-1951, 1993.
- ROBERFROID, M. B. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? **The American journal of clinical nutrition**, Brussels, v. 73, n. 2, 406-409, 2001.
- ROBERFROID, M. B. Prebiotics: the concept revisited. **The Journal of nutrition**, Louvain, v. 134, n. 8, 30S-837S, 2007.
- RUSH, D. Nutrition and Maternal mortality in the developing world. **The American journal of clinical nutrition**, Boston, v. 72, n. 1, 2125-2405, 2000.
- SCHOLZ-AHRENS, K.E.; AÇIL, Y.; SCHREZENMEIR, J. Effect of oligofructose or dietary calcium on repeated calcium and phosphorus balances, bone mineralization and trabecular structure in ovariectomized rats. **The British journal of nutrition**, Kiel, v. 88, n. 4, 365-378, 2002.
- SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHAAFSMA, G.; VAN DEN HEUVEL, E. G. H. M; SCHREZENMEIR, J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **The American journal of clinical nutrition**, Kiel, v. 73, n. 2, 459s-464s, 2001.
- SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHREZENMEIR, J. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. **The Journal of nutrition**, Kiel, v. 137, n. 11, 2513S-2523S, 2007.
- SERENA, A.; HEDEMANN, M. S.; BACH KNUDSEN, K. E. Influence of dietary fiber on luminal environment and morphology in the small and large intestine of sows. **Journal of animal science**, Tjele, v. 86, n. 9, 2217-2227, 2008.
- SOETAN, K. O.; OLAIYA, C. O.; OYEWOLE, O. E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. **African Journal of Food Science**, Ibadan, v. 4, n. 5, 200-222, 2010.
- STRAIN, J. J.; CASHMAN, K. D. **Minerais e oligoelementos**. In: VORSTER, H.H.; KOK, F.J. (Ed.) *Introdução à nutrição humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. cap.9, p. 162-204.

- SUZUKI, T.; HARA, H. Various non-digestible saccharides increase intracellular calcium ion concentration in rat small-intestinal enterocytes. **The British journal of nutrition**, Hokkaido, v. 92, n. 5, 751-755, 2004.
- SWANSON, K. S.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; CHOW, J.; WOLF, B. W.; GARLEB K. A.; FAHEY, G. C. Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and faecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. **The Journal of nutrition**, Urbana, v. 132, n. 3, 721-731, 2002.
- TAKO, E.; GLAHN, R. P.; WELCH, R. M.; LEI, X.; YASUDA, K.; MILLER, D. D. Dietary inulin affects the expression of intestinal enterocyte iron transporters, receptors and storage protein and alters the microbiota in the pig intestine. **The British journal of nutrition**, Itacha, v. 99, n. 3, 472-480, 2008.
- TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological reviews**. Adelaide, v. 81, n. 3, 1031-1064, 2001.
- VAN DE WIELE, T.; BOON, N.; POSSEMIERS, S.; JACOBS, H.; VERSTRAETE, W. Inulin-type fructans of longer degree of polymerization exert more pronounced in vitro prebiotic effects. **Journal of applied microbiology**, Ghent, v. 102, n. 2, 452-460, 2007.
- VAN DOKKUM, W. **The concept of mineral bioavailability**. In: Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds. Metabolic and technological aspects. Research Signpost. M. Pilar Vaquero, Trinidad García-Arias, Ángeles Carvajal and Francisco José Sánchez-Muniz. Kerala, India, p. 1-18, 2003.
- VICKERS, R. J.; SUNVOLD, G. D.; KELLEY, R. L.; REINHART, G. A. Comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. **American journal of veterinary research**, Lewisburg, v. 62, n. 4, 609-615, 2001.
- VISEK, W. J. The mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of animal science**, Urbana, v. 46, n. 5, 1447-1469, 1978.
- WHITE, L. A.; NEWMAN, M. C.; CROMWELL, G. L.; LINDEMANN, M. D. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of animal science**, Lexington, v. 80, n. 10, 2619-2628, 2002.
- World Health Organization. Worldwide Prevalence of Anaemia 1993-2005. WHO Global Database on Anaemia. Disponível em < [http://www.who.int/vmnis/publications/anaemia\\_prevalence/en/](http://www.who.int/vmnis/publications/anaemia_prevalence/en/)>. Acesso em: 27 de agosto de 2015.

Tabela 1. Composição de ingredientes e nutrientes das dietas experimentais.

Ingrediente (g/100g)	Composição da dieta (%)			
	Controle	MOS 1	MOS 2	MOS 3
Amido de milho	51,32	51,32	51,32	51,32
Amido dextrinizado	13,20	13,20	13,20	13,20
Açúcar	10,00	10,00	10,00	10,00
Óleo de soja	7,00	7,00	7,00	7,00
L-Cistina	0,30	0,30	0,30	0,30
Caseína	8,43	8,43	8,43	8,43
Celulose	7,00	6,90	6,96	6,90
Cloreto de colina	0,25	0,25	0,25	0,25
MOS 1 <sup>1</sup>	-	0,10	-	-
MOS 2 <sup>2</sup>	-	-	0,04	-
MOS 3 <sup>3</sup>	-	-	-	0,10
Premix vitamínico <sup>4</sup>	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix mineral <sup>5</sup>	3,50	3,50	3,50	3,50
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Composição analisada</b>				
Energia bruta (kcal/kg)	4098	4098	4098	4098
Proteína bruta da dieta (%)	7,33	7,33	7,33	7,33
Matéria seca (%)	91,55	91,55	91,55	91,55

<sup>1</sup> Mananoglicosacarídeo, derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026, composta de 17% de  $\alpha$ -mananos.

<sup>2</sup> Fração ativa,  $\alpha$ -1,3 e  $\alpha$ -1,6 mananoproteína, derivada de um mananoglicosacarídeo, apresentando 30% de  $\alpha$ -mananos.

<sup>3</sup>  $\beta$ -glucanos, mananos, polímeros de manose, quitinas (polímeros de glucosamina) e galactanos (polímeros de galactose), derivado de uma cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

<sup>4</sup> Premix vitamínico/kg: Ácido nicotínico, 30 mg; Pantotenato, 15 mg; Piridoxina, 6 mg; Tiamina, 5 mg; Riboflavina, 6 mg; Ácido fólico, 2 mg; Biotina, 0,2 mg; Vitamina B<sub>12</sub>, 25 mg; Vitamina E, 75UI; Vitamina A, 4,000UI; Vitamina D<sub>3</sub>, 1000 UI; Vitamina K, 900 mg; Colina, 1000 mg.

<sup>5</sup> Premix mineral mg/kg: Cálcio, 4,000; Fósforo, 1,561; Potássio, 3,600; Enxofre, 300; Sódio, 1,019; Cloro, 1,574; Magnésio, 507; Ferro, 35; Zinco, 30; Manganês, 10; Cobre, 6; Iodo, 0,2; Molibdênio, 0,15; Selênio, 0,15.

Tabela 2. Resultado das comparações estatísticas entre interceptos (int.) e coeficientes angulares (beta) dos modelos de regressão linear simples, considerando-se os resultados das dosagens minerais no fígado como variável dependente e o tempo em dias como independente.

Mineral	Tratamento							
	GC		GM1		GM2		GM3	
	int.	beta	int.	beta	int.	beta	int.	beta
Cálcio	9,0283 <sup>A</sup>	-0,0012 <sup>A</sup>	9,4267 <sup>B</sup>	0,0011 <sup>A</sup>	9,4217 <sup>BC</sup>	0,0028 <sup>A</sup>	9,5833 <sup>C</sup>	0,0005 <sup>A</sup>
Fósforo	1,01 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	1,05 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	1,06 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	1,07 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>
Zinco	2,185 <sup>A</sup>	0,002 <sup>A</sup>	2,3667 <sup>B</sup>	0,000 <sup>A</sup>	2,38 <sup>B</sup>	0,001 <sup>A</sup>	2,3733 <sup>B</sup>	0,001 <sup>A</sup>
Selênio	0,1417 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,1477 <sup>B</sup>	0,001 <sup>A</sup>	0,1478 <sup>B</sup>	0,001 <sup>A</sup>	0,1422 <sup>B</sup>	0,002 <sup>A</sup>
Ferro	0,16 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,16 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,16 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,16 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>
Cobre	20,31 <sup>A</sup>	0,04 <sup>A</sup>	22,39 <sup>B</sup>	0,02 <sup>A</sup>	22,20 <sup>B</sup>	0,02 <sup>A</sup>	22,62 <sup>B</sup>	0,01 <sup>A</sup>
Magnésio	55,9917 <sup>A</sup>	-0,0004 <sup>A</sup>	57,4667 <sup>B</sup>	0,0135 <sup>A</sup>	57,4633 <sup>B</sup>	0,0111 <sup>A</sup>	57,465 <sup>B</sup>	0,0097 <sup>A</sup>

Parâmetros seguidos de letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ).

Tabela 3. Resultado das comparações estatísticas entre interceptos (int.) e coeficientes angulares (beta) dos modelos de regressão linear simples, considerando-se os resultados das dosagens minerais no soro como variável dependente e o tempo em dias como independente.

Mineral	Tratamento							
	GC		GM1		GM2		GM3	
	int.	beta	int.	beta	int.	beta	int.	beta
Cálcio	10,4667 <sub>A</sub>	0,0019 <sup>A</sup>	11,4217 <sub>B</sub>	0,0011 <sup>A</sup>	11,6617 <sub>BC</sub>	0,0027 <sup>A</sup>	11,8617 <sub>C</sub>	0,0027 <sup>A</sup>
Fósforo	4,3367 <sup>A</sup>	- 0,0003 <sup>A</sup>	4,8867 <sup>B</sup>	0,0084 <sup>A</sup>	5,0583 <sup>B</sup>	0,001 <sup>A</sup>	5,4467 <sup>B</sup>	- 0,0068 <sup>A</sup>
Zinco	0,2067 <sup>A</sup>	0,0001 <sup>A</sup>	0,2383 <sup>B</sup>	- 0,0001 <sup>A</sup>	0,235 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,24 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>
Selênio	0,1683 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,18 <sup>B</sup>	0,0001 <sup>A</sup>	0,1883 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,1817 <sup>B</sup>	0,0002 <sup>A</sup>
Ferro	0,22 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,25 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,25 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	0,22 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>
Cobre	0,18 <sup>A</sup>	0,0001 <sup>A</sup>	0,19 <sup>B</sup>	0,0002 <sup>A</sup>	0,19 <sup>B</sup>	0,0002 <sup>A</sup>	0,20 <sup>B</sup>	0,0001 <sup>A</sup>
Magnésio	1,79 <sup>A</sup>	0,0006 <sup>A</sup>	2,0367 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	2,0367 <sup>B</sup>	- 0,0002 <sup>A</sup>	2,0567 <sup>B</sup>	0,000 <sup>A</sup>

Parâmetros seguidos de letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas (p< 0,05).

Tabela 4. Resultado das comparações estatísticas entre interceptos (int.) e coeficientes angulares (beta) dos modelos de regressão linear simples, considerando-se os resultados das dosagens minerais no rim como variável dependente e o tempo em dias como independente.

Mineral	Tratamento							
	GC		GM1		GM2		GM3	
	int.	beta	int.	beta	int.	beta	int.	beta
Cálcio	15,945 <sup>A</sup>	0,0022 <sup>A</sup>	17,5517 <sup>B</sup>	0,0024 <sup>A</sup>	17,5467 <sup>B</sup>	0,0077 <sup>A</sup>	17,0017 <sup>B</sup>	0,0193 <sup>A</sup>
Fósforo	1,24 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	1,31 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	1,31 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	1,29 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>
Zinco	1,9483 <sup>A</sup>	0,0001 <sup>A</sup>	2,1117 <sup>B</sup>	0,0005 <sup>A</sup>	2,115 <sup>B</sup>	0,0009 <sup>A</sup>	2,1417 <sup>B</sup>	0,0003 <sup>A</sup>
Selênio	1,255 <sup>A</sup>	0,0001 <sup>A</sup>	1,3217 <sup>B</sup>	0,0011 <sup>A</sup>	1,3367 <sup>B</sup>	0,0008 <sup>A</sup>	1,345 <sup>B</sup>	0,0006 <sup>A</sup>
Ferro	6,8233 <sup>A</sup>	0,01 <sup>A</sup>	7,5983 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	7,635 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>	7,51 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>
Cobre	13,065 <sup>A</sup>	0,00 <sup>A</sup>	13,4583 <sup>B</sup>	0,02 <sup>A</sup>	13,8483 <sup>B</sup>	0,01 <sup>A</sup>	14,0883 <sup>B</sup>	0,00 <sup>A</sup>
Magnésio	60,5567 <sup>A</sup>	0,0203 <sup>A</sup>	62,3767 <sup>B</sup>	0,0117 <sup>A</sup>	62,855 <sup>B</sup>	0,0041 <sup>A</sup>	62,7033 <sup>B</sup>	0,0065 <sup>A</sup>

Parâmetros seguidos de letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ).

**ANEXO A - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

28/08/2015

Certificado

---

**UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista**

---

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação  
PROBIC - Programa de Bolsas de Iniciação Científica**Parecer Final**

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "O EFEITO DO PREBIÓTICO SOBRE A ABSORÇÃO INTESTINAL DE MINERAIS EM RATTUS NOVERGICUS LINHAGEM WISTAR", cadastrado na Coordenadora Central de Pesquisa (CCPq) sob o número nº 1172 e tendo como participante(s) HERMANN BREMER NETO (responsável), GABRIEL ZANUTO SAKITA (discente), KALLYNE FERNANDA DOS SANTOS FERREIRA (discente), foi avalado e APROVADO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP

Presidente Prudente, 26 de Agosto de 2015

## ANEXOS B – NORMAS DE PUBLICAÇÃO

### Submissões

- » [Submissões Online](#)
- » [Diretrizes para Autores](#)
- » [Declaração de Direito Autoral](#)
- » [Política de Privacidade](#)

### Submissões Online

Já possui um login/senha de acesso à revista Semina: Ciências Agrárias?

[ACESSO](#)

Não tem login/senha?

[ACESSE A PÁGINA DE CADASTRO](#)

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso.

### Diretrizes para Autores

#### ATENÇÃO AUTORES:

RECOMENDAMOS QUE OS AUTORES CONSULTEM ATENTAMENTE AS DIRETRIZES, POIS NÃO SERÃO ACEITOS TRABALHOS QUE NÃO ESTEJAM RIGOROSAMENTE DE ACORDO COM AS NORMAS.

**A partir de 19/02/2015, a Taxa de Submissão de novos artigos será de 100,00.** Em caso de rejeição do artigo, esta taxa não será devolvida.

Artigos submetidos a partir de **19/02/2015** e aceitos para publicação terá o valor da Taxa de Publicação (trabalhos aprovados) reajustado de acordo com o número de páginas do manuscrito:

Até 10 páginas: **R\$ 300,00**

De 11 a 15 páginas: **R\$ 400,00**

De 16 a 20 páginas: **R\$ 500,00**

De 21 a 25 páginas: **R\$ 600,00**

Em caso de **aceite do artigo para publicação**, o valor pago de **R\$ 100,00** referente à taxa de submissão, **não será deduzido da taxa de publicação.**

O **comprovante de depósito** deverá ser digitalizado e anexado no sistema como documento suplementar

Depósito em nome do Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717/0001-65, em uma das três contas abaixo:

#### **Banco do Brasil (001)**

Agência: 1212-2

Conta corrente: 43509-0 - Brasil

**Caixa Econômica Federal (104)**

Agência: 3076  
 Conta corrente: 0033-4  
 Operação: 003 - Brasil

**Itaú (341)**

Agência: 3893  
 Conta corrente: 29567-9 - Brasil

**Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.**

**Os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês**, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente **traduzidos para o inglês**.

**Os artigos enviados para a revista até dezembro/2013 que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.**

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

American Journal Experts

Editage

Elsevier

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

O autor principal deverá anexar no sistema o **documento comprobatório** dessa correção na página de submissão em “**Docs. Sup.**”

**OBSERVAÇÕES:**

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias, é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biosegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

**NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:**

a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação; b) Não tenha sido realizado o **cadastro completo** de todos os autores nos metadados de submissão; **Exemplo:** Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função

- c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;
- d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar “**Docs. Sup.**” no ato da submissão;
- e) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL. (Formato JPEG; TIFF; EXCEL)
- f) Não constem no artigo original: título, resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

### **RESTRIÇÃO POR ÁREA:**

#### **PARA A ÁREA DE AGRONOMIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:**

- a) Os experimentos com cultura in vitro sejam limitados ao melhoramento dos protocolos já padronizados ou que não forneçam novas informações na área;
- b) Os experimentos de campo não incluam dados de pelo menos dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;
- c) Os experimentos se refiram apenas a testes sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos, abióticos ou estresses fisiológicos;
- d) Envolvam apenas bioensaios (screening) de eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças de plantas, exceto se contiverem contribuição importante sobre mecanismos de ação numa perspectiva de fronteira do conhecimento;
- e) O objetivo seja limitado a registrar a ocorrência de espécies de pragas ou patógenos ou associações entre hospedeiros em novas localidades dentro de regiões geográficas onde eles já sejam conhecidos. Registros de espécies ou associações conhecidas só serão considerados em novas zonas ecológicas. Os registros de distribuição devem se basear em ecossistemas, e não em fronteiras políticas.

#### **PARA A ÁREA DE VETERINÁRIA**

- a) A publicação de relatos de casos é restrita e somente serão selecionados para tramitação àqueles de grande relevância ou ineditismo, com real contribuição ao avanço do conhecimento para a área relacionada.

#### **Categorias dos Trabalhos**

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

#### **Apresentação dos Trabalhos**

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

*Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas* serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em “Docs Supl.” na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

**Observação:** Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: **Fonte:** IBGE (2014), ou **Source:** IBGE (2014).

### **Preparação dos manuscritos**

#### **Artigo científico:**

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos...** *Áreas de estudo...1. Área rural...2. Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

#### **A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:**

**1. Título do trabalho**, acompanhado de sua tradução para o inglês.

**2. Resumo e Palavras-chave:** Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

**3. Introdução:** Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

**4. Material e Métodos:** Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

**5. Resultados e Discussão:** Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

**6. Conclusões:** Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

**7. Agradecimentos:** As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

#### **Observações:**

**Notas:** Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

**Figuras:** Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

**Tabelas:** As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

#### **Grandezas, unidades e símbolos:**

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.:  $\text{kg ha}^{-1}$ . Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.:  $\text{kg/ha}$ .
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades,  $\text{g L}^{-1}$ , e não  $\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{gL}^{-1}$ .
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

#### **8. Citações dos autores no texto**

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que .....
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

#### **Citações com dois autores**

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

### **Citações com mais de dois autores**

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

**Para citações de diversos documentos de um mesmo autor**, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

**As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor**, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

**Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores**, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

**9. Referências:** As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. **Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes.** A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

**Observação:** Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

### **Comunicação científica**

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologias completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a sequência - introdução, metodologia, resultados e discussão (podem ser incluídas tabelas e figuras), conclusão e referências bibliográficas.

### **Relato de caso**

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, resultados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

### **Artigo de revisão bibliográfica**

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os autores somente poderão apresentar artigos de interesse da revista mediante convite de membro(s) do comitê editorial da Revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

### **Outras informações importantes**

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "*Ad hoc*" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.
6. *Numero de autores*: Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

### **Condições para submissão**

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, ESTANDO CIENTE que a **formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO.**
3. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

### 1. No passo seguinte preencher os metadados em inglês.

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A **identificação de autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.
2. **Efetuar o pagamento da Taxa de Submissão de artigos e anexar o comprovante como documento suplementar "Docs. Sup."**

### Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

### Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

### Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Informe que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares serão carregados, **ESTANDO CIENTE que a formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DO MÉRITO.**

3. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

4. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

5. **A identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).

6. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB).

O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.

7. Atesto que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação por Comitê de Ética e Termo de Livre consentimento caso sejam solicitados. Tendo sido citado no texto a obediência aos preceitos éticos cabíveis.

8. Deve ser incluído no campo **COMENTÁRIOS PARA O EDITOR**, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas

9. **Taxa de Submissão de novos artigos**

#### Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude de aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

#### Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.