



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FITOESTERÓIS E COMPOSTOS
FENÓLICOS EM FOLHAS DE *Ipomoea batatas* (L.) LAM. CULTIVADAS PARA
PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE ETANOL**

Mestranda: Maria de Fátima Ribeiro

Orientador: Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio

Coorientador: Ilsamar Mendes Soares

**PALMAS – TO
2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FITOESTERÓIS E COMPOSTOS
FENÓLICOS EM FOLHAS DE *Ipomoea batatas* (L.) LAM. CULTIVADAS PARA
PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE ETANOL**

Mestranda: Maria de Fátima Ribeiro

Orientador: Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio

Coorientador: Ilsamar Mendes Soares

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Agroenergia, na Área de Aproveitamento de Resíduos.

**PALMAS – TO
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca da Universidade Federal do Tocantins

Campus **Universitário de Palmas**

Cutter Ribeiro, Maria de Fátima (ordem inversa)

Título: DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FITOESTERÓIS E COMPOSTOS FENÓLICOS EM FOLHAS DE *Ipomoea batatas* (L.) LAM. CULTIVADAS PARA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE ETANOL/ Maria de Fátima Ribeiro - Palmas, 2016.

59 f. (quantidade de folhas)

Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Agroenergia, 2016.

Linha de pesquisa: Processos de obtenção de biocombustíveis e avaliação de aproveitamento de seus resíduos.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio.

1. Fitoesteróis, 2. Compostos fenólicos 3. *Ipomoea batatas*.
Donizeti, Sérgio Ascêncio (orientador) II. Universidade Federal do Tocantins. III. Título.

CDD xxxx

Bibliotecária: Emanuele Santos

CRB-2 / 1309

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio, deste documento é autorizada desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS – CÂMPUS DE PALMAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

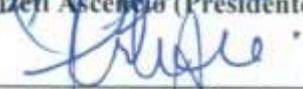
**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FITOESTERÓIS E COMPOSTOS
FENÓLICOS EM FOLHAS DE *Ipomoea batatas* (L.) LAM. CULTIVADAS PARA
PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE ETANOL**

Aluna: MARIA DE FÁTIMA RIBEIRO

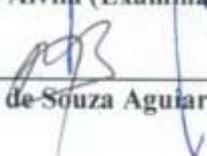
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio (Presidente- UFT)



Prof. Dr. Tarso da Costa Alvim (Examinador Interno - UFT)



Prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar (Examinador Externo)

Data da Defesa: 10/08/2016

Dedico este trabalho

A todos os meus familiares, especialmente aos meus pais, Lourival e Maria Pilar Braga Ribeiro, por todo amor, apoio, compreensão e confiança incondicionais durante a minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus eterno, por criar todas as providências para que eu me preparasse para a realização deste trabalho e, ao mesmo tempo, mostrar-me parte da complexidade envolvida em sua criação.

Ao prof. Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio, por aceitar-me em seu convívio, intuir que eu poderia ser capaz e pela orientação. Ainda que não me conhecesse, você me abriu as portas e me permitiu gozar de sua amizade, disponibilidade, conhecimentos transmitidos e capacidade de estímulo ao longo de todo o trabalho. Só posso agradecer-lhe os ensinamentos, as palavras de incentivo, a paciência e a dedicação demonstradas inúmeras vezes, bem como valiosos conselhos e dicas. Você é uma pessoa incrível e agora eu posso me sentir como todos os seus orientandos, dos quais me aproximei neste período. Orgulha-me muito ter sido sua orientada.

Ao meu amigo Ilsamar Mendes Soares, um irmão com quem pude conviver por quatro anos lá longe, em Tangará da Serra - MT, e agora no Tocantins, pelo companheirismo de povoar minha cabeça de sonhos do Mestrado, tornando-se pessoa imprescindível para a realização e conclusão deste trabalho, muito obrigada o incentivo na realização de muitas etapas cruciais deste mestrado.

Ao amigo Ângelo Mário Rosi, muito obrigada pela força ao longo de todo o trabalho, a ajuda, os ensinamentos, as orientações e contribuições.

À Universidade Federal do Tocantins, por todos os meios colocados à disposição.

À prof. Dr^a. Flávia Tonani, coordenadora do curso de Pós-Graduação em Agroenergia e todo o seu corpo docente, a amizade, contribuição e responsabilidade pela minha formação.

Ao CNPq, o auxílio e apoio concedidos, de essencial importância para o desenvolvimento deste trabalho.

À equipe do LASPER/UFT, especialmente o professor Dr. Márcio Antônio da Silveira, os mestres Wesley Rosa Santana e Douglas Martins da Costa, muito obrigada a ajuda, e contribuições e colocar-se sempre à disposição e gentilmente me cederem espaço em seu laboratório.

Ao Professor Dr. Tarso da Costa Alvim, por permitir a realização de grande parte dos experimentos, obrigada a ajuda, os ensinamentos, as orientações e contribuições, e por me receber em seu laboratório de portas abertas.

A todos os meus colegas de trabalho em especial a colega, Fabiana Pereira, amizade.

Aos companheiros de Laboratório, Eber Eurípedes de Souza e Laiane Sodré por estarem sempre dispostos a contribuir com minha pesquisa de forma generosa.

Aos amigos e colegas de disciplinas, agradeço por passarem pelo meu caminho e que, cada um a seu modo, deixou um pouquinho de si, agradeço a companhia, os momentos de alegria e ou de sofrimento. Tudo ampliou a base do meu crescimento.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE SIGLAS E ABREVEATURAS.....	XII
RESUMO	XIV
ABSTRAT	XV
1. INTRODUÇÃO	XV
1.2 OBJETIVOS	18
1.2.1 <i>Objetivo geral</i>	18
1.2.2 <i>Objetivos específicos</i>	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
21 BATATA-DOCE.....	19
2.1.1 <i>Cultivo de I. batatas</i>	20
22 ETANOL.....	21
23 RESÍDUOS DA AGROENERGIA.....	23
24 BIORREFINARIA.....	23
25 METABOLITOS SECUNDÁRIOS.....	24
26 METABOLITOS SECUNDÁRIOS UTILIZADOS NA MEDICINA, COSMETOLOGIA, QUÍMICA FINA E COMO NUTRACÊUTICOS	25
27 OS FITOESTERÓIS	26
2.7.1 <i>Papel biológico dos fitoesteróis</i>	27
28 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	28
2.8.1 <i>Papel biológico dos compostos fenólicos</i>	29
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
31 LOCAL DO EXPERIMENTO.....	30
32 MATERIAL VEGETAL.....	31
33 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	31
34 PROSPECÇÕES FITOQUÍMICA	32
35 DETERMINAÇÃO DE FITOESTERÓIS TOTAIS	32
36 CONTEÚDOS FENÓLICOS TOTAIS.....	33
3.6.1 <i>Determinação de fenóis totais</i>	33
3.6.2 <i>Determinação de flavonoides totais</i>	33
3.6.3 <i>Determinação de flavonóis totais</i>	34
37 AVALIAÇÕES DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	34
38 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	35
39 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E PROSPECÇÕES FITOQUÍMICAS	37

4.2 QUANTIFICAÇÃO DOS FITOESTERÓIS TOTAIS	38
4.3 DETERMINAÇÕES DO CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL	38
4.3.1 <i>Quantificação de fenóis totais</i>	38
4.3.2 <i>Quantificação de flavonoides totais</i>	39
4.3.3 <i>Quantificação de flavonóis totais</i>	40
4.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	40
4.5 IDENTIFICAÇÕES DOS COMPOSTOS	42
4.6 CORRELAÇÕES ENTRE AS ANÁLISES DE CONTEÚDO FENÓLICO, FLAVONOIDES, FLAVONÓIS, COMPOSTOS IDENTIFICADOS E DPPH	47
5. CONCLUSÃO	47
6. REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS	50

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Cromatograma (CCD) das soluções extrativas de *I. batatas*, A, antes de usar o revelador e B, depois. (1 – Amanda FRF, 2 – Amanda FRCF, 3– Carolina Vitória FRF, 4 – Carolina Vitória FRCF, 5 – Duda FRF, 6 – Duda FRCF, 7 – Marcela FRF, 8 – Marcela FRCF, 9 – padrão Stigmasterol e 10 – Beta Sitosterol) **37**
- Figura 2** - Variação da atividade antioxidante do extrato das folhas de *I. batatas* e dos controles positivos, rutina e ácido ascórbico em diferentes concentrações. **41**
- Figura 3** - Porcentagem de atividade antioxidante do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas* e controles dos positivos rutina e ácido ascórbico em três diferentes concentrações (30, 60 e 120 µg/mL). 1 Amanda, 2 – Carolina Vitória, 3 – Duda, 4 – Marcela, 5 – ácido ascórbico, 6 – rutina. As barras (I) indicam os erros padrões. **41**
- Figura 4** - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 14: estigmasterol; 15: beta sitosterol, ver padrão acima pico 1: estigmasterol e pico 2 : beta sitosterol..... **43**
- Figura 5** - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Carolina Vitoria, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 12: estigmasterol; 14: beta sitosterol. **44**
- Figura 6** - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 10: estigmasterol; 12: beta sitosterol..... **44**
- Figura 7** - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 11: estigmasterol; 13: Beta sitosterol. **44**
- Figura 8** - Cromatograma da mistura de padrões fenólicos, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 1: galocatequina; 2: catequina; 3: rutina; 4: ácido elágico; 5: naringina; 6: miricetina; 7: morina; 8: quercetina **45**
- Figura 9** - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 8: rutina; 9: acido elagico; 10: naringina; 12: miricetina; 14: morina; 15: quercetina..... **45**
- Figura 10** - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Carolina Vitoria, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 6: rutina; 7: acido elagico; 8: naringina; 10: miricetina; 12: morina; 13: quercetina..... **46**
- Figura 11** - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 1: galocatequina; 9: rutina; 10: acido elagico; 11: naringina; 13: miricetina; 15: morina; 16: quercetina **46**
- Figura 12** - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 1: galocatequina; 4: catequina; 8: rutina; 9: acido elagico; 10: naringina; 12: miricetina; 14: morina; 15: quercetina **46**

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - quatro cultivares de batata-doce, selecionada pelas suas características para a produção de etanol nas condições do Estado do Tocantins - Universidade Federal do Tocantins – UFT (1997 a 2007) ----- **21**
- Tabela 2** - Valores médios e desvio padrão do teor de fitoesteróis totais encontrados no resíduo foliar das quatro variedades de *I. batatas* (L.) Lam. utilizadas na produção industrial de etanol. ----- **38**
- Tabela 3** - Valores médios e desvio padrão do teor de fenóis totais, do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas* ----- **39**
- Tabela 4** - Conteúdo de flavonoides totais (FldT) do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas* ----- **39**
- Tabela 5** - Conteúdo de flavonóis totais (FlnT) do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas* ----- **40**
- Tabela 6** - Atividade antioxidante (DPPH CE₅₀ em µg/mL) do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas* e padrões rutina e ácido ascórbico----- **42**
- Tabela 7** - Compostos fenólicos identificados por CLAE nos extratos ricos em compostos fenólicos das cultivares de *I. batatas* em estudo. Tempo de detecção em minutos e quantificação em micrograma de composto por miligrama de extrato liofilizado (µg/mg) **45**
- Tabela 8** - Correlação entre os teores de fenóis, flavonoides, flavonóis totais e atividade antioxidante (DPPH – CE₅₀) do resíduo foliar de quatro cultivares de *I. batatas* utilizadas na produção industrial de etanol. Valores em coeficiente r (*Pearson*) e *p*-valor ----- **47**

LISTA DE SIGLAS E ABREVEATURAS

%: porcentagem

° C: graus Celsius

µg/mL: microgramas/mililitro

µL: microlitro

AA: atividade antioxidante

ABS: absorvância

ANOVA: análise de variância

CCD: cromatografia em camada delgada

CE: concentração eficiente

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

cm: centímetro

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazila

EAG: equivalentes de ácido tânico

ER: equivalentes de rutina

FeCl₃-6H₂O: Cloreto férrico hexaidratado

g: gramas

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência

L/t: litro por tonelada

L: litro

LASPER/UFT: Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a Partir de Fontes Renováveis

mg/EAG/g: miligrama equivalente de ácido gálico por grama de extrato.

mg/mL: miligrama por mililitro

mg: miligrama

Milli-Q: água deionizada e filtrada

mL: mililitro

mm: milímetro

mM: milimol

nm: nanômetro

p/v: parte por volume

R² : coeficiente de linearidade

RPM: rotações por minuto

t/ha: tonelada por hectare

t: tonelada

UV-Vis: espectrofometria na região do ultravioleta-visível

v/v: volume por volume

y= ax+b: equação da reta

β: denota anomeridade beta

RESUMO

RIBEIRO, M. de F. Determinação simultânea de fitoesteróis e compostos fenólicos em folhas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. cultivadas para produção industrial de etanol 2016. P. 59. Dissertação (Mestrado) Agroenergia, Universidade Federal do Tocantins – UFT.

Pesquisas apontam a batata-doce, como matéria-prima adequada a produção industrial de etanol, com capacidade de incluir pequenos produtores ao setor agroenergético. Ao mesmo tempo, alguns trabalhos demonstram a importância desta produção se estabelecer sobre os princípios de biorrefinaria com aproveitamento dos metabólitos secundários desta planta para fins farmacológicos. O presente trabalho foi desenvolvido partindo do pressuposto de que os fitoesteróis, metabólitos secundários de grande importância fitoterápica, complementam os compostos fenólicos, nas folhas desta planta. Assim, este trabalho teve como objetivo determinar fitoesteróis, compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante nas folhas de quatro cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. utilizadas na produção industrial de etanol. Coletaram-se folhas adultas de quatro cultivares de batata-doce, as quais foram secas, reduzidas a pó e submetidas à extração ultrassônica em solução de metanol/acetoneitrila. Durante a concentração dos extratos houve a formação de duas fases, que mediante a prospecção preliminar constatou-se que uma era rica em fitoesteróis (FRF) e a outra em compostos fenólicos (FRCF). Na FRF, foi determinado o teor de fitoesteróis totais pelo método clorogênico SPF, que variou entre 132.35 ± 3.61 mg EStg/g para cultivar Duda a 195.21 ± 3.97 mg EStg/g para a cultivar Amanda. Na FRCF, foram determinados os conteúdos de fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu, flavonoides e flavonóis totais pelo método da complexação com cloreto de alumínio e a atividade antioxidante pelo método DPPH. O conteúdo de fenóis totais variou entre 140.84 ± 1.07 mg EAG/g para a cultivar Duda e 151.20 ± 1.24 mg EAG/g para Marcela, flavonoides entre 70.98 ± 0.61 mg ER/g para a cultivar Amanda e 121.58 ± 1.22 mg ER/g para Marcela, Flavonóis entre 29.58 ± 0.65 mg ER/g para a cultivar Duda e 57.46 ± 0.87 para a cultivar Marcela. A atividade antioxidante foi boa na maioria das cultivares e apresentou forte correlação com o conteúdo fenólico, mais acentuado com os flavonóis. O melhor valor da DPPH-CE₅₀ foi observado para Marcela (CE₅₀ = 43.69 ± 0.22), a qual teve atividade antioxidante igual ao padrão rutina nas concentrações de 30, 60 e 120 µg. As duas frações obtidas foram também submetidas a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que permitiu a identificação do estigmasterol e β-sitosterol na FRF e galocatequina, catequina, rutina, ácido elágico, naringina, miricetina, morina e quercetina na FRCF, os compostos identificados são relatados na literatura como benéficos à saúde humana. Os dados obtidos no presente trabalho sugerem o desenvolvimento de pesquisas que avaliem a logística de implementação de biorrefinarias na produção de etanol a partir de *I. batatas*.

Palavras-chave: Fitoesteróis, Compostos fenólicos, flavonoides, flavonóis, *Ipomoea batatas*.

ABSTRACT

RIBEIRO, M. de F. Simultaneous determination of phytosterols and phenolic compounds in the leaf residue of cultivars *Ipomoea batatas* (L.) Lam. utilized in industrial ethanol production 2016. P. 59. Dissertação (Mestrado) Agroenergia, Universidade Federal do Tocantins – UFT.

Research indicates the sweet potato as suitable raw materials to industrial production of ethanol, with the ability to include small producers to agro-energy sector. At the same time, some studies have shown the importance of this production is established on the principles of biorefinery with use of secondary metabolites of this plant for pharmacological purposes. This work was developed on the assumption that the phytosterols, secondary metabolites of great importance herbal complement the phenolic compounds in the leaves of this plant. This work aimed to determine phytosterols, phenolic compounds and evaluate the antioxidant activity in the the leaves of four cultivars of *Ipomoea batatas* (L.) Lam. utilized in industrial ethanol production. Adult leaves were collected four sweet potato cultivars, which were dried, reduced to powder and subjected to ultrasonic extraction in of methanol / acetonitrile solution. During concentration of the extract was the formation of two phases, which, by preliminary prospecting was found that a was rich phytosterols (FRP) and the other in phenolic compounds (FRPC). The FRP, it was determined the content of total phytosterols by chlorogenic SPF method, which ranged from 132.35 ± 3.61 mg StgE / g to grow Duda to 195.21 ± 3.97 mg StgE / g to cultivate Amanda. In FRPC they were determined the contents of total phenols by Folin-Ciocalteu method, flavonoid and total flavonols by the method of complexation with aluminum chloride and the antioxidant activity by DPPH method. The content of total phenols ranged from 140.84 ± 01.07 mg GAE / g to cultivate Duda and 151.20 ± 1.24 mg GAE / g to Marcela, flavonoid between 70.98 ± 0.61 mg ER / g to cultivate Amanda and 121.58 ± 22.01 mg ER / g Marcela, Flavonols between 29.58 ± 0.65 mg ER / g to cultivate Duda and 57.46 ± 0.87 to cultivate Marcela. The antioxidant activity was good in most cultivars and showed a strong correlation with the phenolic content, more pronounced with the flavonols. The best value of DPPH-EC₅₀ was observed for Marcela (EC₅₀ = $43.69 \pm 0:22$), which has antioxidant activity equal to the standard rutin in concentrations of 30, 60 and 120 $\mu\text{g} / \text{mL}^{-1}$. The two fractions obtained were also subjected to analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC), which allowed the identification of stigmasterol and β -sitosterol in the FRP and galocatechin, catechin, rutin, ellagic acid, naringin, myricetin, morin and quercetin in FRPC, the identified compounds are reported in the literature as beneficial to human health. The data obtained in this study suggest the development of research to assess the logistics of implementation of biorefinery in the production of ethanol from *I. batatas*.

Keywords: phytosterols, phenolic compounds, flavonoids, flavonols, *Ipomoea batatas*.

1. INTRODUÇÃO

A energia é base fundamental para os atuais modelos de desenvolvimento socioeconômico (LAVADO, 2009). Porém, seus padrões de produção e de consumo são baseados principalmente em fontes fósseis, as quais são encontradas na natureza de forma limitada e não renovável com efeitos negativos diretos sobre o meio ambiente, devido às emissões de poluentes, como os gases de efeito estufa (GOLDEMBERG e LUCON, 2007; ROCHA, 2012). Isto conduz a uma crescente busca por eficiência energética e por combustíveis menos nocivos (LAVIOLA; ALVES, 2011), sendo, a obtenção de energia de forma sustentável, um dos principais desafios da atualidade (LAVADO, 2009).

Disponer de fontes primárias de energias renováveis suficientes e diversificadas, se configura como o fator condicionante dos possíveis modelos sustentáveis de desenvolvimento futuro, tanto em escala local e regional, como nacional e global (LAVADO, 2009). Neste contexto, a utilização da biomassa é considerada uma das principais alternativas para a diversificação da matriz energética, sendo a única fonte de energia renovável que pode substituir recursos fósseis na produção de produtos químicos e combustíveis líquidos (TRAN, 2016; DALE et al., 2016).

Entre os combustíveis líquidos oriundos da biomassa, o bioetanol e o biodiesel, são, atualmente, os significativos na produção em escala industrial (HALLENBECK et al., 2016). Em particular o etanol se apresenta como o combustível com maior capacidade de atender à crescente demanda mundial por energia renovável com baixo custo e de baixo poder poluente (SANTOS et al., 2012).

Convencionalmente, o bioetanol é produzido a partir de culturas agrícolas que contêm elevado teor de carboidratos como a cana-de-açúcar, milho, batata-doce, trigo, mandioca entre outros (KANG et al., 2014; KLEIN et al., 2016). Dentre os quais, a cana-de-açúcar é a matéria prima preponderante na produção de etanol do Brasil. Porém, o atendimento das demandas de biocombustíveis aponta na direção do avanço de sua monocultura e seus respectivos impactos sociais e ambientais no território nacional, surgindo discussão sobre a cadeia produtiva do etanol no país (RODRIGUES FILHO e JULIANI, 2013). Neste âmbito, algumas pesquisas demonstram que o cultivo de batata-doce poderá ser uma solução alternativa, devido se constituir uma fonte rica e acessível de carboidratos (SILVEIRA et al., 2008, SOARES et al., 2014; SANTOS, 2015), além de se configurar como uma cultura inclusiva para pequenos produtores (SOARES et al., 2014).

No entanto, algumas barreiras precisam ser superadas na produção de etanol a partir da batata-doce em escala comercial, especialmente, no que diz respeito ao custo de produção. Visando isto, a equipe de pesquisadores do Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a Partir de Fontes Renováveis da Universidade Federal do Tocantins (LASPER/UFT), tem selecionado por melhoramento genético convencional, cultivares de batata-doce com características adequadas à produção de etanol (SILVEIRA et al., 2008). Trabalhos realizados por nossa equipe de pesquisa com estas cultivares têm demonstrado que, além da seleção de boas cultivares, o custo de produção pode ser compensado também à medida que a produção de etanol a partir de batata-doce se estabelecer sobre os princípios de biorrefinaria, mediante o incremento de tecnologias para a geração de outros produtos a partir das partes aéreas e dos resíduos gerados dentro da cadeia produtiva. Alvim, (2014) evidenciou no resíduo sacarídico proveniente da biofermentação etanólica, a presença de arabinogalactana, polímeros de grande interesse farmacológico. Soares et al. (2014), constatou elevados níveis de compostos fenólicos com capacidade antioxidante e anti-inflamatória em resíduos foliares, fato que demonstra grande potencial de aplicação do resíduo agroenergético proveniente desta cultura no desenvolvimento de produtos de interesse humano de grande valor agregado.

O trabalho de Soares et al. (2014) com as folhas das cultivares de batata-doce desenvolvidas para produção industrial de etanol por Silveira et al. (2008), partiu do pressuposto, de que, a boa adaptação destas cultivares as condições edafoclimáticas do estado do Tocantins, poderiam estar relacionados à produção elevada de metabolitos secundários por estas plantas, fato que foi constatado pela determinação do alto teor de compostos fenólicos. O presente trabalho foi desenvolvido partindo do fato de que os fitoesteróis também contribuem de forma significativa no processo de adaptação das plantas ao ambiente, pois tornam as plantas capazes de adaptar-se a diferentes condições de temperatura (DUFOURC, 2008; CHRISTIE, 2012). Como se trata de compostos de grande importância fitoterápica, evidenciado por diversos estudos, que têm demonstrado sua influência sobre prevenção de doenças cardiovasculares (GYLLING et al., 2014), neurológicas (BURG et al., 2013), cancerígenas entre outras (GRATTAN Jr., 2013, McDANIEL et al., 2013), sua constatação nestas cultivares fortalece o conhecimento sobre o potencial de aproveitamento do componente foliar da batata-doce em um sistema de biorrefinaria.

Visando ampliar o conhecimento sobre o potencial desta cultura para o aproveitamento total da biomassa durante a produção de etanol, este trabalho apresenta

estudos que ampliam o conhecimento sobre a constituição fenólica de sua estrutura foliar, obtido de forma simultânea com fitoesteróis.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Determinar fitoesteróis, compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante nas folhas de quatro cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. utilizadas na produção industrial de etanol.

1.2.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar o perfil fitoquímico de duas frações extrativas obtidas a partir das folhas de *I. batatas*.
- ✓ Determinar o teor de fitoesteróis nas folhas de *I. batatas*;
- ✓ Determinar compostos fenólicos, flavonoides e flavonóis nas folhas de *I. batatas*;
- ✓ Avaliar o potencial antioxidante de duas frações extrativas obtidas a partir das folhas de *I. batatas*.
- ✓ Identificar os principais fitoesteróis e compostos fenólicos das folhas de *I. batatas*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Batata-doce*

A batata-doce (*Ipomoea batatas*) é uma planta originária dos Andes estendendo-se da Península de Yucatán, no México, até a Colômbia (ROESLER et al., 2008; CASTRO et al., 2009; NELSON e ELEVITCH, 2011). Atualmente é cultivada em todas as zonas tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (CARMONA, et al., 2015), é a sexta cultura alimentícia mais importante, com produção global anual de mais de 105 milhões de toneladas, 95% das quais cultivadas em países em desenvolvimento (PAVLAK et al., 2011; SOARES et al., 2014).

A batata-doce teve sua primeira descrição em 1753 por Lineu, sob o nome de *Convolvulus batatas*. Todavia, em 1791, Lamarck, baseado na estrutura do estigma e dos grãos de pólen, a classificou no gênero *Ipomoea*, mudando seu nome para *Ipomoea batatas* (L.) Lam., que ainda permanece (HAND e COCKERHAM, 1921; HUAMAM, 1992). A *Ipomoea batatas* é uma angiosperma dicotiledônea (WOOLFE, 1992; HUAMAM, 1992), pertencente à família *Convolvulaceae* (WOOLFE, 1992; CARMONA, et al., 2015).

É uma espécie hexaplóide com 90 cromossomos ($2n= 6x= 90$), (ROESLER et al., 2008; CASTRO et al., 2009; CARMONA, et al., 2015). Devido ao seu elevado nível de ploidia, a batata-doce apresenta grande diversidade fenotípica e genotípica (BORGES et al., 2009; CARMONA, et al., 2015). A espécie *I. batatas* é composta por vegetais perenes com morfologias diversificadas. Mas em geral, sua parte aérea é formada por um caule herbáceo rastejante prostrado do tipo estolho, com nós e entrenós bem definidos, podendo se dispor na horizontal rente ao solo, ou na vertical com crescimento ereto e semiereto, apresentando hastes longas em algumas variedades, ou ramos pouco desenvolvidos em outras. Das regiões nodais do caule partem ramos foliares, sustentadas por um pecíolo pubescente variando de 5 a 30 centímetros de comprimento (NELSON e ELEVITCH, 1992; SOARES et al., 2014).

Os ramos foliares de *I. batatas* podem apresentar coloração que varia de verde ao roxo e formato que pode variar do arredondado, reniforme, cordado, triangular, hastada, lobado a secto. Na planta adulta, alguns ramos podem ainda conter flores de colorações lilás ou arroxeadas presas por meio de um longo pedúnculo. Tais flores são hermafroditas, mas de fecundação cruzada devido à sua autoincompatibilidade, que por meio de polinizadores

produz pequenos frutos secos descentes, com poucas sementes, mesmo em boas condições ambientais (NELSON e ELEVITCH, 1992).

Nas regiões dos ramos de *I. batatas* que entram em contato com o solo, desenvolvem-se subterraneamente estruturas radiculares com diferentes formato e cor, que podem variar de acordo com a cultivar ou em decorrência das condições de solo. Com base no papel que desenvolvem na planta, as raízes de *I. batatas* podem ser classificadas em dois tipos fundamentais: raízes de absorção e raízes de reserva (HUAMAM, 1992).

As raízes de absorção são as responsáveis pela nutrição e suporte da planta, enquanto as raízes de reserva representam a parte de maior interesse na agricultura, por apresentar grande capacidade no armazenamento de substâncias nutritivas, principalmente carboidratos, destacando-se mais o amido (HUAMAM, 1992).

As raízes de reserva de *I. batatas* podem adquirir diversas variações morfológicas, desde o formato até a coloração da película externa e da polpa. Seu formato pode ser redondo, oblongo, fusiforme ou alongado e ainda apresentar veias, dobras e possuir pele lisa ou rugosa. Estas se dispõem na planta de forma dispersa ou formando agrupamentos abertos (HUAMAM, 1992). A película externa pode ser branca rosada ou avermelhada e a polpa geralmente é de cor branca, amarela ou creme (SILVEIRA et. al., 2008), dotada de um látex proveniente da medula central do parênquima, que pode variar em concentração dependendo do desenvolvimento da planta e das condições ambientais (HUAMAM, 1992).

2.1.1 Cultivo de *I. batatas*

O cultivo da batata-doce é uma prática que ocorre há mais de dez mil anos (NELSON e ELEVITCH, 2011) e, tradicionalmente, o cultivo é realizado em conjunto com diversas outras culturas, exercido de forma empírica por famílias rurais, visando à alimentação humana e de animais domésticos (SILVA et al., 2006; LAURIE et al., 2015).

O Brasil é um dos maiores produtores mundial de *I. batatas*, com produção anual em 2012 de 479.425 toneladas, obtida em área plantada de 40.120 hectares (FAO, 2012; IBGE, 2012) e com rendimento médio de 11,8 t/ha (SILVA et al., 2015). Embora o Nordeste apresente a maior área plantada (16.717 ha), seu rendimento médio de 8,78 t/ha é baixo quando comparado ao da região Sul, com produtividade média de 13,86 t/ha, o que representa 47,85% da produção nacional, obtida em área plantada de 16.560 ha. Já as regiões Sudeste e

Centro-Oeste apresentam os maiores rendimentos médios por área do país, com 15,84 t/ha e 27,99 t/ha, respectivamente, de acordo com dados do IBGE (2012).

I. batatas é uma planta perene, no entanto é muito cultivada como cultura anual, por meio de propagação vegetativa com raízes ou estacas (HUAMAM, 1992; COSTA, 2015). Outro fator a ser considerado na cultura da *I. batatas* é a questão do fotoperiodismo, pois segundo Nelson e Elevitch (2011), o comprimento de dia curto estimula o desenvolvimento de raízes, enquanto que o comprimento de dia longo estimula o de brotos. Conseqüentemente, durante o período de cultivo em que a temperatura do ar é mais alta e o comprimento de dias mais longos, a colheita pode ser realizada 4 a 5 meses após o plantio.

No Estado do Tocantins, foram iniciados trabalhos com o objetivo de produzir variedades de batata-doce para a produção de etanol por meio de técnicas de melhoramento genético com cultivares ocorrentes no Estado do Tocantins, os quais conseguiram obter variedades de batata-doce com excelente produção de amido e adaptação à região, mas que apresentaram diferentes tempos de maturidades entre as mesmas (SILVEIRA et al., 2008), como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - quatro cultivares de batata-doce, selecionada pelas suas características para a produção de etanol nas condições do Estado do Tocantins - Universidade Federal do Tocantins – UFT (1997 a 2007)

Cultivares	Produtividade t/há	Amido %	Etanol l/t	Etanol l/ha	Ciclo/ mês	Casca	Polpa
Amanda	46,70	21,4	141,24	6.595,00	4 ~ 5	Branca	Creme
C. Vitória	32,17	30,2	199,32	6.412,12	6 ~ 7	Roxa	Branca
Duda	65,50	24,4	161,04	10.467,00	6 ~ 7	Roxa	Branca
Marcela	36,80	22,2	146,52	5.391,93	6	Rosada	Creme

(Fonte: Silveira et al., 2008)

Portanto, selecionar cultivares de *I. batatas* bem adaptadas à região e o adequado sistema de produção são de grande importância, para a obtenção de uma boa produtividade. Contudo, isso por si só não é suficiente para o sucesso da produção do etanol em escala industrial. É necessário, também, que a cultivar tenha alta produtividade de amido, possibilitando que a produção do etanol tenha menor custo.

2.2 Etanol

A versatilidade e a elevada variabilidade genética também podem ser fatores que possam contribuir para aumentar o potencial do uso de *I. batatas* para produção de etanol (COSTA, 2015). O etanol é um excelente combustível utilizado diretamente como carburante no transporte (95% de etanol e 5% de água), podendo ainda ser adicionado à gasolina. O etanol também é empregado na indústria química e na fabricação de bebidas, sendo atualmente ao principal bicomcombustível utilizado no mundo (PRASAD et al., 2007; SÁNCHEZ e CARDONA, 2008; SILVA, 2013).

Este bicomcombustível fornece uma série de benefícios para o ambiente, devido à sua baixa pressão e reduzida emissão, em face de suas características de combustão limpa, pois se trata de combustível oxigenado, contendo 35% de oxigênio. Por possuir elevada octanagem, apresenta vantagens quando é utilizado como aditivo, pois reduz a quantidade de hidrocarbonetos não queimados e de monóxido de carbono no sistema de exaustão de motores térmicos, o que implica na redução dos compostos aromáticos, substâncias com elevado teor toxicológico, no ar atmosférico (PRASAD et al., 2007; SÁNCHEZ e CARDONA, 2008).

Em função de suas características, há 16 anos, a produção mundial de etanol cresceu 317%, atingindo em dez anos 92 bilhões de litros, dos quais quase 73% foram utilizados como combustível (SILVA, 2013). No cenário mundial, os maiores produtores e consumidores de etanol são o Brasil e os Estados Unidos da América, que juntos produziram mais de 80% da produção e do consumo mundial, que utilizam o biocombustível adicionado à gasolina (CARVALHO et al., 2013; SCHUTZ et al., 2013). Atualmente de acordo com Brasil (2015), a produção de etanol anidro no Brasil foi de 971,2 milhões de litros. Já a produção de etanol hidratado ficou em 1,9 bilhões de litros.

Visando contribuir para a produção etanol, a Universidade Federal do Tocantins (UFT) em seu programa de melhoramento genético convencional para produção industrial de etanol (SILVEIRA et al., 2008; MARTINS et al., 2012), produz nas condições edafoclimáticas do Estado do Tocantins, cultivares de *I. batatas*, que podem chegar a 10.467 litros por hectare (SILVEIRA et al., 2008). Esses resultados podem ser considerados excelentes se comparados com os estudos realizados por Taborda et al. (2015), onde demonstrou a produção de etanol, considerando os dados da produtividade média nacional de 12 toneladas por hectare de *I. batatas* e volume médio de etanol 2.186 litros por hectare.

Todavia, além de melhorar a tecnologia para produção do produto principal, o etanol, também é necessário agregar valor à cadeia produtiva da batata-doce, para isso é essencial incorporar conhecimentos, mais informações e tecnologias para orientar o desenvolvimento e

superar as barreiras dos custos de produção, sua entrada e manutenção no mercado. Neste sentido uma alternativa viável para ser considerada é encontrar formas de agregar valor a sua cadeia produtiva, com a utilização total de matéria prima, sem a geração de resíduos.

2.3 Resíduos da agroenergia

A produção agrícola e o seu beneficiamento geram restos de colheitas e resíduos, e quase sempre são devolvidos ao meio ambiente de forma inadequada, podendo originar contaminantes do solo e das águas, provocando prejuízos ambientais e ainda sociais e econômicos (MAZZER e CAVALCANT, 2004; MORALES, 2011 ROSA et al., 2011; SARKAR et al., 2012). Os efeitos da degradação ambiental em consequência das atividades industriais atingem níveis cada vez mais alarmantes (SARKAR et al., 2012). Segundo Rosa et al. (2011) a geração de resíduos está associada ao desperdício no uso de insumos, a perdas resultantes da produção, consumo e principalmente a materiais que, gerados ao longo da cadeia produtiva, não possuem valor econômico evidente (ROSA et al., 2011). A produção de materiais alternativos a partir de resíduos agroindustriais se apresenta como alternativa viável, pois podem reduzir custos na disposição final dos rejeitos e ainda fornecer produtos com maior valor agregado, além de proporcionar o adensamento da cadeia produtiva (SILVA et al., 2015).

Recentemente, especial atenção tem sido despendida ao emprego dos resíduos na produção de novos produtos, em substituição aos recursos não renováveis (PANDEY et al., 2000; ROSA et al., 2011). Um bom exemplo do emprego dos resíduos é a adoção crescente das biorrefinarias, cujo processo industrial é equivalente ao das refinarias de petróleo, que integram processos visando à valorização total da matéria-prima (ROSA et al., 2011).

2.4 Biorrefinaria

Biorefinaria é caracterizado pelo processamento sustentável da biomassa em produtos comercializáveis e energia. Uma biorrefinaria pode ser uma instalação (unidade produtiva), ou mesmo um conjunto de instalações interligadas (JONG e JUNGMEIER, 2015). O conceito de biorrefinaria enfoca o aproveitamento da matéria-prima, a biomassa, de modo que se obtenham cadeias de valores similares àquelas dos derivados do petróleo, porém com menor impacto ao meio ambiente (DEMIRBAS, 2009; GHATAK, 2011).

Uma biorrefinaria pode integrar, em um mesmo espaço físico, processos de obtenção de biocombustíveis, múltiplos produtos químicos, energia elétrica e calor, além de derivados refinados, levando-se em consideração, entre outros aspectos, os balanços de energia e de massa, o ciclo de vida e a redução de gases do efeito estufa (DEMIRBAS, 2009; GHATAK, 2011; ROSA et al., 2011; ALVIM et al., 2014; SILVA et al., 2015). Muito esforço é destinado à criação de novas rotas de utilização da biomassa na produção de compostos com maior valor agregado. Os compostos químicos de origem vegetal ganham considerável espaço no mercado graças a esses esforços e ao idealismo de criação de uma indústria química baseada em bioderivados e também devido à pressão política (SILVA et al., 2015).

No contexto das biorrefinarias *I. batatas*, que se caracteriza como uma importante fonte para a produção de bioetanol, também é relatada como potencial para metabólitos secundários na parte foliar. Os metabólitos secundários são compostos que podem ser extraídos de derivados da biomassa dos vegetais e possuem potencial para agregar valor à cadeia produtiva dessa espécie. Esses metabólitos têm função estratégica na indústria química, pois é fonte para fornecimento de insumos e produtos finais para farmacologia (ROSA et al., 2011; ALVIM et al., 2014).

2.5 Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários se constituem como fonte produtos em biorrefinarias, graças as suas propriedades químicas que aumentam a aptidão do vegetal sobreviver e permitir-lhe interagir com o seu ambiente. Tais compostos contribuem para aumentar a probabilidade de sobrevivência da espécie, por serem responsáveis por diversas atividades biológicas, atuando como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas dos patógenos. Alguns destes metabólitos atuam absorvendo luz ultravioleta para evitar que as folhas sejam danificadas (GOBBO-NETO e LOPES, 2007; FUMAGALI, 2008; PEREIRA e CARDOSO, 2012; GRANATO et al., 2013).

O metabolismo é definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas catalisadas por enzimas, visando ao aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais da célula. Além do metabolismo primário, responsável pela síntese da celulose, da lignina, das proteínas, dos lipídeos, dos açúcares e de outras substâncias importantes para a realização das funções vitais, as plantas também apresentam o chamado metabolismo secundário (PEREIRA e CARDOSO, 2012). Diferente dos metabólitos

primários, os metabólitos secundários apresentam-se em baixas concentrações e somente em determinados grupos de plantas (PEREIRA e CARDOSO, 2012). Devido às amplas atividades biológicas, os metabólitos secundários são utilizados como matéria-prima para medicina, cosmetologia, química fina ou mais recentemente, como nutracêuticos (FUMAGALI, 2008; SYTAR et al., 2016).

2.6 Metabolitos secundários utilizados na medicina, cosmetologia, química fina e como nutracêuticos

Os medicamentos à base de plantas têm sido usados desde os tempos antigos como remédio para o tratamento de doenças, pois contêm ingredientes farmacológicos e biológicos ativos (HAJIMEHDIPOOR et al., 2014 e SYTAR et al., 2016). Muitos trabalhos têm sido realizados comprovando a eficácia dos metabolitos secundários das plantas na cura ou na prevenção de doenças humanas, exercendo efeito contra células cancerígenas (GABAY et al., 2010; DUARTE, 2011; LEONG et al., 2011), doenças neurodegenerativas (LOPEZ et al., 2014), ação hipocolesterolêmica (HERCHI et al., 2009; GABAY et al., 2010) e ação antioxidante (DOM et al. 2011; GHASEMZADEH et al. 2012; SYTAR et al., 2016).

Além de poder ser utilizados pela medicina Os metabólitos secundários também podem ser usados na cosmetologia. De acordo com Sarafet al. (2014), ciência destinada à pesquisa, desenvolvimento, elaboração e produção de produtos que tratam e embelezam as partes externas do corpo humano, os bioativos podem estimular a autoproteção dos tecidos, proporcionando à formação de filmes protetores, o sequestro de radicais livres, a restauração de estrutura danificada e a lubrificação adequada dos tecidos capilares e pele.

Outro emprego que pode ser dado aos metabolitos secundários em função de suas propriedades, é na geração de compostos químicos que se caracterizam como produtos de altíssimo valor agregado e pouca quantidade, gerados pela química fina, atividade que utilizam variados e complexos processos biotecnológicos podendo gerar produtos fármacos, fragrâncias e corantes (OLIVEIRA, 2015).

Os muitos metabolitos secundários também podem ser utilizados na química fina para produção de alimentos, na indústria de cosméticos ou como corantes naturais, agentes conservadores, antioxidantes naturais e aditivos nutricionais (SOTO et al., 2015). Dessa forma, a utilização dos metabolitos secundários derivados de plantas vem aumentando nos

últimos anos, estudos de plantas medicinais passam a ser essencial, tornando-se uma área extremamente intensa para a pesquisa (JOÃO et al., 2015; SYTAR, et al., 2016).

Os metabólitos secundários são fontes também para os nutracêuticos, nutrientes específicos que não são alimentos, mas também não são remédios, são agentes terapêuticos com capacidade de diminuir o risco de doenças, que têm impulsionado a investigação científica para a identificação e caracterização de compostos moleculares, bem como o desenvolvimento de alimentos funcionais com propriedades benéficas à saúde humana, dos quais se destacam aqueles com propriedades antioxidantes (FRANCINI e SEBASTIANI, 2013). Muitos metabólitos secundários, apresentam propriedades antioxidantes comprovadas (PROCHÁZKOVÁ et al., 2011; VEBER et al., 2015; GANESHPURKAR e SALUJA, 2016), servindo como base para produção dos nutracêuticos e demonstrando potencial no controle e tratamento de várias doenças crônicas, como o câncer do cólon, diabetes e o mal de Alzheimer (KUPPUSAMY et al., 2014).

Assim como os compostos com potencial para atividade antioxidante, uma grande variedade de outros compostos integra a constituição dos vegetais que podem exercer as mais variadas funções biológicas. A batata-doce, planta que apresenta grande potencialidade energética em função de seu metabolito primário, o amido (SILVEIRA et al., 2008; SANTOS, 2015), possui também elevado potencial para ser fonte de metabólitos secundários, com possível função fitoterapêutica, em sua estrutura foliar (XU et al., 2010; GHASEMZADEH et al., 2012; SONG et al., 2011; SOARES et al., 2014). Os grupos representantes dos metabólitos secundários são os compostos fenólicos, terpênicos, fitoesteróis e os alcaloides (GOBBO-NETO e LOPES, 2007; FUMAGALI, 2008; PEREIRA e CARDOSO, 2012).

2.7 Os fitoesteróis

Os esteróis vegetais ou fitoesteróis pertencente ao grupo dos metabólitos secundários são compostos bioativos naturalmente presentes nos vegetais, podendo estar presentes em qualquer parte das plantas. São componentes estruturais da membrana celular que regulam a sua fluidez e permeabilidade, possuindo a mesma estrutura do anel ciclopentanoperidrofenantreno (LAGARDA et al., 2006; HERCHI et al., 2009). Os fitoesteróis possuem sua estrutura similar à do colesterol, porém incluem um grupo de metilo ou etilo no carbono 24 de sua molécula (FERNANDES, 2015). Há dois grupos de esteróis

vegetais: os fitoesteróis com uma ligação dupla na posição 5 e os estenóis, que não incluem a ligação dupla (FERNANDES, 2015). A maioria dos fitoesteróis contém 28 ou 29 átomos de carbono e uma ou duas ligações duplas carbono-carbono (LAGARDA et al., 2006). São compostos tetracíclicos e apesar de não serem realmente lipídios, partilham com esses algumas propriedades físicas, encontrando-se, sobretudo em óleos e gorduras, constituindo a fração insaponificável (DUARTE, 2011).

Relatos na literatura indicam que já foram identificados mais de 200 diferentes tipos de fitoesteróis (RUGGIERO et al., 2013; FERNANDES, 2015), no entanto β -sitosterol, estigmasterol e campesterol são os mais representativos. (RUGGIERO et al., 2013; BOMBO, 2014).

2.7.1 Papel biológico dos fitoesteróis

Assim como o importante papel na manutenção e função das membranas das células vegetais, os fitoesteróis são também precursores de um grupo de fatores de crescimento das plantas (PIIRONEN et al., 2000). Para os seres humanos, os fitoesteróis são de grande importância em termos nutricionais e também do ponto de vista fisiológico (SALGADO et al., 2008). São ingredientes funcionais não sintetizados pelo organismo humano, sendo fracamente absorvidos e excretados rapidamente pelo fígado (DUARTE, 2011). Alguns estudos demonstram que os fitoesteróis possuem propriedades anti-inflamatórias (GABAY et al., 2010), antibacteriana e anti-ulcerativa (HERCHI et al., 2009; GABAY et al., 2010).

Os fitoesteróis ainda são conhecidos por terem propriedades hipocolesterolémicos. Isso devido a sua estrutura química ser semelhante ao do colesterol. O composto age competindo pela absorção no lúmen do intestino, acarretando na menor absorção do colesterol, dessa forma promove benefícios para a saúde dos indivíduos cardíacos. A ingestão diária de 160 mg a 400 mg de fitoesteróis dependendo das características do indivíduo, é fundamental para diminuir o colesterol sanguíneo (CHEN et al., 2015).

Segundo Gabayet al. (2010) e Duarte (2011) os fitoesteróis também podem ter efeitos benéficos contra o câncer do cólon e da mama. Duarte (2011) e Leonget al. (2011) relatam que o β -sitosterol, é um fitoesteról, que pode exercer efeito deletério sobre células cancerígenas provenientes do câncer da próstata, diminuindo o crescimento e induzindo a apoptose dessas células, Segundo Lopez et al. (2014), o β -sitosterol no cérebro pode modular a expressão de genes envolvidos na absorção e o metabolismo lipídico, inibindo as plaquetas

β -amilóides. Cerqueira (2009) relata que a beta-amilóide desempenha papel precoce e central na patogenia da doença neurodegenerativa progressiva, responsável pela grande maioria das demências relacionadas com a idade.

O β -sitosterol também tem ação sobre a função mitocondrial, promovendo a fluidez da membrana interna em células de hipocampo. Esses efeitos sugerem seu potencial para uso na prevenção e tratamento de doenças neurodegenerativas, como o mal de Alzheimer (LOPEZ et al., 2014).

Estudos indicam que o fitoesterol, estigmasterol possui propriedades anticancerígenas de múltiplas vias, entre elas a de transdução de sinal e aptose, podendo induzir aumentos de 4 a 6 vezes de morte apoptótica de células MDA-MB-231 (linhagem de célula de mama cancerígena). Este fitoesterol pode inibir o crescimento do tumor de células não-hormonais e do câncer da mama (NACHIMUTHU e PALANISWAMY, 2013)

2.8 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são também metabolitos secundários que exercem variadas atividades fitoterápicas (AMARETTI et al., 2015). É um grupo heterogêneo de compostos derivados do metabolismo secundário de plantas. Estruturalmente, os compostos fenólicos têm, pelo menos, um anel aromático em que um ou mais grupos hidroxilo estão ligados a estruturas aromáticas ou alifáticas (AMBRIZ-PÉREZ et al., 2016). Estes compostos possuem uma ampla diversidade estrutural devido à variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. Estas combinações fenólicas podem ser categorizadas em várias classes, sendo os principais, ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, linhanos, taninos hidrolizáveis, e taninos condensados, com base do número de anéis fenólicos e nos elementos da estrutura que os ligam (AMARETTI et al., 2015).

Os flavonoides são os compostos fenólicos mais abundantes (SOTO et al., 2015), são compostos de baixo peso molecular, consistindo em 15 átomos de carbono, organizados na configuração C6 – C3 – C6. A estrutura química dos flavonoides consiste em dois anéis aromáticos, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico. As variações anel central, resultam em importantes classes de flavonoides (TARAHOVSKY et al., 2014). As principais classes pertencentes aos flavonoides são as flavonas, as flavanonas, os flavonóis, as antocianidinas e as isoflavonas (JESUS e CUNHA, 2012; AMARETTI et al., 2015). De

acordo com Jesus e Cunha (2012), há também as auronas (anel heterocíclico de seis membros substituído por um anel de cinco membros) e as chalconas (forma isomérica de cadeia aberta).

2.8.1 Papel biológico dos compostos fenólicos

As características estruturais dos compostos fenólicos são provavelmente responsáveis pelas atividades biológicas das plantas, em resposta a diferentes tensões ambientais, tais como: infecções, ferimentos, radiação ultravioleta (UV) e poluente. Os flavonoides, considerado os compostos fenólicos mais abundantes, são também os biologicamente ativos (SOTO et al., 2015). Atuam nas plantas atraindo polinizadores e disseminando de sementes. Além da pigmentação em frutas, flores, sementes e folhas, os flavonoides também possuem importantes funções na sinalização entre plantas e micróbios, na fertilidade de algumas espécies, na defesa como agentes antimicrobianos e na proteção à radiação ultravioleta (HUBER e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Estas características biológicas dos compostos fenólicos têm atraído um crescente interesse da ciência para os seus efeitos benéficos à saúde. Os dados epidemiológicos têm relacionado o consumo elevado de alimentos ricos em compostos fenólicos a uma diminuição da taxa de doenças crônicas (AMBRIZ-PÉREZ et al., 2016). Os flavonoides podem atuar positivamente em doenças humanas, reduzir a inflamação e inibir o crescimento tumoral, possuem propriedade antienvhecimento, aumentam a resistência capilar e promovem a cura de feridas (SOTO et al., 2015). Segundo Tarahovsky et al. (2014), o potencial terapêutico dos flavonoides pode revelar eficiência mais elevada do que os medicamentos convencionais. Além disso, os flavonoides e seus derivados podem potencializar a ação de outras drogas e muitas vezes, ser menos tóxicos.

Nesse sentido muitos outros efeitos biológicos positivos a saúde humana, têm sido relatados em função de vários compostos pertencentes ao grupo dos fenólicos. A morina possui eficaz efeito antidiabético e propriedades antioxidantes (KAPOOR E KAKKAR, 2012), pode ter a capacidade de suprimir a proliferação de uma grande variedade de células de tumor (NASO et al. (2013), têm ainda, mostrado efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (KAPOOR e KAKKAR, 2012). A naringina apresenta efeito antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória (RUBIO et al., 2015), pode atuar também como agente antimutagênico, antibacteriano e antifúngico (ITURRIAGA et al., 2014).

A miricetina pode exercer funções biológicas como antialérgica, antimicrobiana, antitrombótica, antioxidante, cardioprotetora e vasodilatadora (SULTANA e ANWAR, 2008). Além disso, pode atuar como inibidor da absorção de glicose, reduzindo a hiperglicemia. Pode executar funções, anti-inflamatória, estresse oxidativa e a prevenção do diabetes melito (LI e DING, 2012).

As catequinas, Catequina e galocatequina são amplamente utilizadas como nutracêutico para melhorar a saúde humana, em formulações farmacêuticas, pomadas ou cosméticos (GADKARI e BALARAMAN, 2015) têm atraído a atenção nos últimos anos para os seus vários efeitos fisiológicos, com ação antibacteriana, anticancerígena e anti-inflamatória. São compostos eficazes contra bactérias gram-positivas, sendo a galocatequina um dos mais eficientes antibacterianos. (MIYAMOTO et al., 2013).

O ácido elágico têm demonstrado diversas funções fitoterápicas, como a capacidade de prevenir estresses oxidativos, a supressão da leucemia, a inibição do crescimento de bactérias patogênicas humanas, a atividade antiulcera (MEYER et al., 2008; SILVA-JUNIOR et al., 2010; ABE et al., 2010; TAMASHIRO-FILHO et al., 2012; ISMAIL et al., 2012). Possui importantes efeitos benéficos à saúde contra muitas doenças crônicas ligadas à oxidação, dentre os quais, o câncer, as doenças cardiovasculares e as doenças neurodegenerativas (LI et al., 2013)

A rutina e a quercetina são excelentes fontes de produtos farmacêuticos para a fitoterapia. A rutina demonstra uma série de atividades farmacológicas, incluindo antioxidantes, citoprotetora, vasoprotetora, anticancerígena, neuroprotetora e atividades cardioprotetoras. (GANESHPURKAR e SALUJA, 2016). De acordo com Procházková et al. (2011) a quercetina possui capacidade de prevenir contra as lesões oxidativas. Estudo indicam a possível eficácia de rutina na formulação de protetor solar (OLIVEIRA et al., 2016). Segundo Wu et al. (2016), a administração correta de rutina na dieta alimentar pode ajudar na recuperação de doenças neurológicas e efeito anti-inflamatório.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O trabalho foi realizado nas dependências da Universidade Federal do Tocantins, campus de Palmas (UFT/Palmas), mediante a execução de experimentos e aquisição de

materiais do Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais – LPPN; Laboratório de Instrumentação Científica – LABIC e; Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a Partir de Fontes Renováveis – LASPER/UFT.

3.2 *Material vegetal*

O material vegetal foi cedido gentilmente pela equipe do LASPER/UFT e se constituiu de folhas adultas de quatro cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), desenvolvidas por melhoramento genético convencional direcionado para produção industrial de etanol, registradas no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) desde 15 de abril de 2008 sob os nomes e números de Marcela, 22592; Duda, 22598; Amanda, 22593 e Carolina Vitoria, 22597. As coletas foram realizadas em outubro de 2014.

3.3 *Preparação dos extratos*

O material coletado foi submetido à estabilização em estufa de ar circulante à temperatura de 50° C e posteriormente pulverizado em moinho de facas tipo Willy (Fortinox®, STAR FT 50).

O processo de extração foi desenvolvido segundo o método descrito por Lin et al. (2009) com algumas modificações. Para tanto, utilizou-se uma solução de metanol/acetoneitrila (80:20, v/v), por se constituir um solvente extrator tanto de compostos fenólicos, quanto de fitoesteróis (FENG et al., 2015). O pó das folhas (2 g) foi colocado em frascos de vidro juntamente com 25 mL da solução de extração. Os frascos foram imersos num banho de ultrassons (mod. USC 1600 – UNIQUE), com transdutores de 40 kHz e transmissão de ondas ultrasom a 135 W de baixo para cima. O tempo de extração foi fixado em 15 minutos à temperatura ambiente (aproximadamente 30° C), o qual se repetiu 4 vezes recolhendo-se o sobrenadante e adicionando nova solução de extração ao resíduo. Os sobrenadantes foram combinados e filtrados sob vácuo em funil de buchner, utilizando papel filtro com poro de 14 µm, posteriormente concentrado em rotaevaporador a 40° C, rotação de 70 RPM e pressão - 600 Hg por 30 min. No final deste ultimo processo, observou-se no balão de vidro que continha a amostra, a formação de um resíduo verde aderido ao balão e um líquido marrom que não evaporou nas condições acima. Estas duas partes (resíduo e líquido marrom) foram

coletadas separadamente e submetidas à secagem em capela de exaustão, congelamento a - 40° C e liofilização.

3.4 Prospecções fitoquímica

As duas frações extrativas liofilizadas foram submetidas à triagem fitoquímica conforme descrito por Matos (2009). A presença de compostos fenólicos foi determinada pela adição de 0,01 mL de cloreto férrico a 2 % (p/v) sobre a solução metanólica do extrato a 1 mg/mL e observação da formação de precipitado ou desenvolvimento de colorações contrastantes com um branco constituído apenas da solução extrativa.

A presença de fitoesteróis foi avaliada por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas cromatográficas de sílica gel 60 (ALUGRAM®) com dimensões de 10 x 10 cm, tendo como padrão de referência estigmasterol e β -sitosterol. A corrida cromatográfica foi desenvolvida em cuba de vidro saturada por 1 hora com a solução eluente diclometano/éter de petróleo/acetato de etila/ (6:3:1: v/v/v). Após a eluição, as placas foram recolhidas e tiveram o excesso de solvente movido com auxílio de secador de cabelo. Esta etapa foi precedida da exposição a um Spray do revelador SPF 15% (reagente constituído da solução de 2,5 gramas de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ com 25 mL de ácido fosfórico, da qual, se retirou 10 mL e misturou com 100 mL ácido sulfúrico (LIN et al., 2009).

O potencial antioxidante foi avaliado qualitativamente mediante a adição de 0,5 mL de soluções metanólicas dos extratos (1 mg/mL) a 5 mL de DPPH (40 $\mu\text{g/mL}$), após 30 minutos, observou-se o desenvolvimento de coloração amarela, indicativo de possível atividade antioxidante.

Ao final da prospecção fitoquímica, as duas frações tiveram a seguinte classificação: fração rica em fitoesteróis (FRF), construída pela porção que estava aderida ao balão do rotaevaporador e; fração rica em compostos fenólicos (FRCF) construída pela parte líquida marrom que não evaporou nas condições aplicadas no rotaevaporador.

3.5 Determinação de fitoesteróis totais

A quantificação dos fitoesteróis seguiu o método descrito por Lin et al. (2009) com algumas modificações. Misturou-se 1 mL do reagente SPF com 1 mL de soluções metanólicas das FRFs (1 mg/mL) das diferentes cultivares ou soluções do padrão estigmasterol (5 a 100

$\mu\text{g/mL}$). A solução foi levemente agitada e mantida ao abrigo da luz por 1 hora à temperatura ambiente. Posteriormente, mensurou-se a absorvância a 550 nm, em espectrofotômetro UV-VIS Biochrom® Biowave II+ equipado com cubetas de quartzo de um centímetro em percurso óptico, calibrado com metanol. O teor de fitoesteróis foi determinado por interpolações das absorvâncias das amostras contra a curva de calibração construída com diferentes concentrações do padrão estigmasterol, expressos como miligramas equivalentes de estigmasterol por gramas dos extratos (mg Eest/g). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.6 Conteúdos fenólicos totais

3.6.1 Determinação de fenóis totais

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada pelo método Folin–Ciocalteu, de acordo com a descrição de Amorim et al. (2008), empregando ácido gálico como padrão, em três repetições.

Para esta análise, 0,2 mL de soluções das FRCFs (1 mg/mL) das diferentes cultivares ou soluções do padrão ácido gálico (0,1 a 2,0 $\mu\text{g/ml}$) foram misturadas 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (10%, v/v), 1 mL de carbonato de sódio (7,5%, v/v) e 8,3 mL de água milli-Q (água ultrapura obtida em filtro deionizador da marca Millipore, modelo Milli-Q®). A mistura permaneceu por 30 minutos ao abrigo da luz à temperatura ambiente, antecedendo à mensuração da absorvância a 760 nm em espectrofotômetro calibrado com água milli-Q.

O teor de fenóis totais foi determinado por interpolações das absorvâncias das amostras contra a curva de calibração construída com o padrão ácido gálico, expressos como miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g).

3.6.2 Determinação de flavonoides totais

A quantificação de flavonoides totais foi realizada pelo método colorimétrico descrito por Soares et al. (2014). Para tanto, réplicas de 0,5 mL de soluções metanólicas das FRCFs (1 mg/mL) das diferentes cultivares ou soluções do padrão rutina (1 a 10 $\mu\text{g/mL}$) foram misturadas com 0,5 mL de ácido acético 60%, 2 mL de uma solução de piridina/metanol (20:80, v/v), 1 mL de cloreto de alumínio a 5% e 6 ml de água milli-Q. Um branco foi

construído mediante a junção de todos os componentes da reação e o extrato, substituindo o cloreto de alumínio por água milli-Q. A mistura permaneceu por 30 minutos ao abrigo da luz à temperatura ambiente, antecedendo à mensuração da absorvância, a 420 nm em espectrofotômetro calibrado com água milli-Q.

O teor de flavonoides totais foi determinado por interpolações das absorvâncias das amostras contra a curva de calibração construída com o padrão rutina, expressos como miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato (mg ER/g).

3.6.3 Determinação de flavonóis totais

O teor de flavonóis foi determinado pelo método descrito por Samarth e Samarth (2009) com algumas modificações. Em triplicata, 1 mL de soluções metanólicas das FRCFs (1 mg/mL) das diferentes cultivares ou soluções do padrão rutina (5 a 200 µg/mL) foram misturadas com 1 mL de uma solução etanólica de cloreto de alumínio (20 mg/mL) e 3 mL de acetato de sódio (50 mg/mL). A mistura permaneceu por 2,5 h ao abrigo da luz à temperatura ambiente, antecedendo à mensuração da absorvância, a 440 nm em espectrofotômetro calibrado com metanol. O teor de flavonóis foi calculado pela seguinte fórmula:

$$X = C \cdot V / m$$

Onde, **X** é teor de flavonóis em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato (mg ER/g); **C** é a concentração de rutina, estabelecida a partir da curva de calibração em mg/mL; **V** é o volume (mL) de extrato na reação e; **m** é a massa do extrato em mg.

3.7 Avaliações da Atividade Antioxidante

A capacidade antioxidante foi mensurada pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), seguindo a descrição de Peixoto Sobrinho et al. (2011) com algumas modificações, tendo como controles positivos os padrões rutina e ácido ascórbico. Em triplicatas, 0,5 mL de diferentes concentrações das soluções metanólicas de FRCFs das diferentes cultivares ou padrões (20 – 200 µg/mL) foram adicionados a uma solução metanólica de DPPH (3 mL a 40 µg/mL). Um branco foi construído pela substituição do DPPH por metanol no meio reacional. O complexo reacional e o branco foram agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz, e as absorvâncias medidas a 517 nm em

espectrofotômetro calibrado com metanol. A absorbância da solução de DPPH a 40 µg/mL também foi medida e utilizada como controle negativo. A atividade de remoção de radicais livres ou atividade antioxidante foi expressa como a porcentagem de inibição determinada pela equação:

$$AA\% = \frac{ABS_{cn} - (ABS_{amostra} - ABS_{branco})}{ABS_{cn}} \times 100$$

Onde: AA é a atividade antioxidante total; $ABS_{amostra}$ é a absorbância da amostra; ABS_{branco} é a absorbância das concentrações das amostra em que o DPPH foi substituído pelo metanol e ABS_{cn} é a absorbância do controle negativo.

Calculou-se também a concentração eficiente (CE_{50}), quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%. Esta foi determinada a partir da curva de calibração obtida com AA% de diferentes concentrações, plotando-se na abscissa as concentrações da amostra (µg/mL) ou do controle positivo e, na ordenada, a AA%. Por meio deste cálculo foi obtida a equação da reta ($y = ax + b$), substituindo-se y por 50 e encontrou-se o resultado correspondente à concentração da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH, expresso em µg/mL.

3.8 Identificação dos compostos

A identificação dos compostos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), desenvolvido em cromatógrafo Shimadzu® (LC-10 Avp series, Shimadzu, Kyoto, Japan) equipado com bomba (LC-10 AD), degaseificador (DGU-14A), detector UV-vis (SPD-0A), forno de coluna (CTO-10A), injetor manual Rheodyne (circular 20 µL) e integrador CLASSE (LC-10A).

Visando identificar os fitoesteróis, seguiu-se um método isocrático descrito por Feng et al. (2015) com algumas modificações. Realizou-se a separação das FRFs em coluna C18 Shim-pack CLC-ODS (M) (4,6 X 150 mm), partículas de 5 µm (Shimadzu, Kyoto, Japão), e pré-coluna do mesmo material - Shim-pack G-ODS (Shimadzu, Kyoto, Japão). A fase móvel constituiu-se de uma solução de metanol/acetoneitrila (80:20, v/v), com fluxo de 0,8 mL/min., à temperatura de 30° C, detecção UV a 205 nm e tempo máximo de 60 minutos. Os extratos foram injetadas na concentração de 5 mg/mL, os compostos foram identificados pela comparação do tempo retenção das amostras com dos padrões autênticos Stigmasterol e β-

Sitosterol (Sigma®). As amostras e padrões foram dissolvidas em metanol e filtradas em membrana Millipore® (0,45 µm de diâmetro de poro). As concentrações dos compostos foram expressos em microgramas por miligrama de extrato seco (µg/mg), correlacionando a área do analito com uma curva de calibração construída com diferentes concentrações dos padrões (125 – 500 µg/ml).

Para determinação dos compostos fenólicos, as FRCFs foram submetidas à separação em uma coluna Phenomenex Luna de 5µ C18 (2) (4,6 x 250 mm) e pré coluna Phenomenex C18 (4 x 3,0 mm) preenchida com material semelhante a coluna principal. A eluição ocorreu em um sistema de gradiente com duas fases móveis (A e B). **A:** ácido fosfórico 0,1% em água Milli-Q; **B:** ácido fosfórico 0,1% em água Milli-Q/acetoneitrila/metanol (54:35:11 v/v/v). O Programa gradiente foi: 0 a 0,01 min, 0% de B; 0,01 a 5 min, 0% de B; 5 a 10 min, 30% de B; 10 a 20 min 40% de B; 20 a 29 min, 40% de B; 29 a 30 min 50% de B; 30 a 50 min 100% de B; 50 a 80 min 100% de B. O fluxo foi de 1 mL/min, temperatura: 22° C, detecção UV a 280 nm. As amostras foram injetadas na concentração de 1 mg/mL, os compostos foram identificados pela comparação do tempo retenção das amostras com o dos padrões autênticos galocatequina, catequina, rutina, ácido elágico, naringina, miricetina, morina e quercetina (Sigma®). As amostras e padrões foram dissolvidas em metanol e filtradas em membrana Millipore® (0,45 µm de diâmetro de poro). As concentrações dos compostos foram expressos em microgramas por miligrama de extrato seco (µg/mg), correlacionando a área do analito com uma curva de calibração construída com diferentes concentrações dos padrões (4,5 – 18 µg/ml).

3.9 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos a análises estatísticas, com análise de variância (ANOVA) utilizando o teste -t_l de Student-Newman-Keuls e *Tukey* (VIEIRA, 1999) utilizando o software ASSISTAT 7,6 Beta®. Também foi executada a análise de correlação de Pearson utilizando o software BioEstat 5.3®. Para esta última análise seguiu-se a proposta de Swiscow (1997), que estabelece critérios de classificação para o coeficiente de Peason (r): Ausente ou muito fraca para -r_l variando de 0,00 a 0,19; correlação fraca para r= 0,20 a 0,39; correlação moderada para r= 0,40 a 0,59; correlação forte para r= 0,60 a 0,79 e correlação muito forte para r= 0,80 a 1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenções dos extratos e prospecções fotoquímicas

O método aplicado à obtenção dos extratos mostrou-se adequado para extrair fitoesteróis e compostos fenólicos simultaneamente. A técnica se mostra mais simples à maioria apresentada na literatura, especialmente para obtenção de fitoesteróis, pois dispensa a saponificação alcalina do material vegetal, que segundo Abidi (2001) e Feng et al. (2015) é o processo mais utilizado na extração desta classe de compostos.

Semelhante ao trabalho realizado por Soares et al. (2014) com estas cultivares, a triagem fitoquímica realizada pela análise com cloreto férrico nas FRCFs, revelou a presença de compostos fenólicos no extrato foliar das quatro cultivares de *I. batatas* estudadas.

A Figura 1 apresenta o perfil dos extratos obtidos na CCD. Como pode ser observado, detectou-se fitoesteróis apenas na parte do extrato que ficou aderido ao balão de vidro do rotaevaporador (FRF). A especificidade do revelador permitiu evidenciar manchas no extrato com mesmo Rf correspondente aos dos padrões estigmasterol e β -sitosterol ($R_f = 0,56$), além de outros compostos desta mesma classe que não foram identificados ($R_f = 0,94$; $R_f = 0,87$ e $R_f = 0,75$).

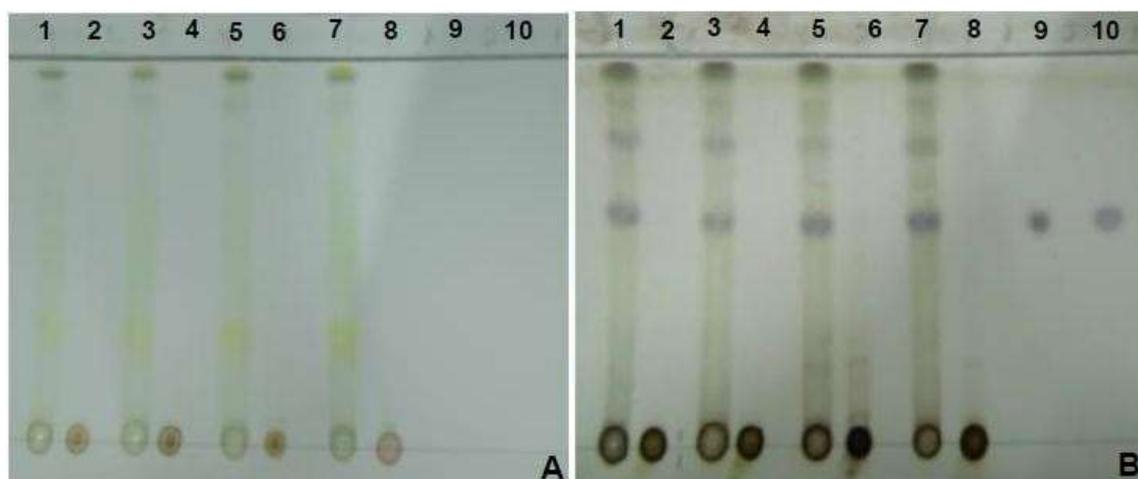


Figura 1 - Cromatograma (CCD) das soluções extrativas de *I. batatas*, A, antes de usar o revelador e B, depois. (1 – Amanda FRF, 2 – Amanda FRCF, 3– Carolina Vitória FRF, 4 – Carolina Vitória FRCF, 5 – Duda FRF, 6 – Duda FRCF, 7 – Marcela FRF, 8 – Marcela FRCF, 9 – padrão Stigmasterol e 10 – Beta Sitosterol).

Christie (2012) enfatiza que os fitoesteróis auxiliam no processo de adaptação das plantas ao ambiente. Para *I. batatas*, esta ideia é corroborada não apenas com os dados deste trabalho, mas também com fato de se tratar de um vegetal adaptado a diferentes regiões do

planeta (Milind e Monika, 2015), além de trabalhos realizados com esta planta em outras partes do mundo terem evidenciado esta classe de fitoquímicos nesta espécie (POCHAPSKI et al., 2011; CORDEIRO et al., 2013).

4.2 Quantificação dos fitoesteróis totais

Como mostrado na tabela 2, o teor de fitoesteróis totais variou entre as cultivares de *I. batatas* estudadas. A maior concentração foi obtida na FRF da cultivar Amanda (195.21 ± 3.97 mg Eest/g), seguida pela cultivar Carolina Vitória.

Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão do teor de fitoesteróis totais encontrados no resíduo foliar das quatro variedades de *I batatas* (L.) Lam. utilizadas na produção industrial de etanol.

Variedades	Fitoesteróis totais mg EStg/g
Amanda	195.21 ± 3.97 a
Carolina Vitória	159.49 ± 3.06 b
Duda	159.49 ± 3.06 b
Marcela	138.70 ± 3.10 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Alguns trabalhos, a exemplo dos realizados por Pochapski et al., (2011); Rengarajan et al. (2012) e Cordeiro et al. (2013) tem evidenciado fitoesteróis em *I. batatas*, porem, nenhum trabalho foi encontrado determinado a quantidade destes compostos nas folhas desta espécie. As quantidades encontradas no presente trabalho se mostram significativas, quando se considera a importância destes compostos para a saúde humana (GABAY et al., 2010; DUARTE, 2011) e o fato de serem obtidos a partir de um resíduo.

4.3 Determinações do conteúdo fenólico total

4.3.1 Quantificação de fenóis totais

Os resultados obtidos na determinação dos fenóis totais, expressos como miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g), são apresentados na Tabela 3. Todos os extratos avaliados apresentaram altos teores de compostos fenólicos, quando comparados com a literatura, com maior concentração na cultivares Marcela e Carolina

Vitória. Observa-se, que valores obtidos para esta análise foram ligeiramente superiores aos obtidos por Soares et al. (2014) com estas cultivares e metodologia diferente. Isto reforça a ideia de que, o método aplicado para extração, é adequado para fitoesteróis e aperfeiçoado para compostos fenólicos, além de permitir um pré-isolamento entre estas duas classes de metabólitos secundários.

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão do teor de fenóis totais, do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas*.

Cultivares	Fenóis totais (mg EAG/g)
Amanda	142.62 ± 1.64 a
C Vitoria	147.63 ± 1.64 b
Duda	140.84 ± 1.07 a
Marcela	151.20 ± 1.24 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Estudos atuais têm demonstrado que os extratos foliares de *I. batatas* são considerados boa fonte de compostos fenólicos, a maioria deles com importante papel no metabolismo humano (SOARES et al., 2014; FU et al., 2016; ZHANG et al., 2016), fato que torna importante o aproveitamento do resíduo foliar desta espécie para fins farmacológicos.

4.3.2 Quantificação de flavonoides totais

Como mostrado na Tabela 4 o teor de flavonoides variou significativamente entre as cultivares, com maior destaque para a cultivar Marcela (121.58 ± 1.22 mg ER/g) e menor na cultivar Amanda (70.98 ± 0.61). A cultivar Amanda está também entre as que apresentaram os menores valores de fenóis totais, mas se destacou com o maior teor de fitoesteróis totais. A presença de metabólitos tornam estas plantas apropriadas para um sistema de biorefinaria, à medida que diversifica os produtos obtidos a partir das folhas.

Tabela 4 - Conteúdo de flavonoides totais do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas*.

Cultivares	Flavonoides totais (mg ER/g)
Amanda	70.98 ± 0.61 a
C Vitoria	87.24 ± 0.93 b

Duda	78.29 ± 0.64 c
Marcela	121.58 ± 1.22 d

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

4.3.3 Quantificação de flavonóis totais

Os resultados obtidos na quantificação dos flavonóis totais indicam que estes compostos são encontrados em quantidades variáveis nas cultivares de batata-doce em estudo (Tabela 5). O maior teor foi encontrado na cultivar Marcela (57.463 ± 0.867 mg ER/g) e o menor na cultivar Duda (29.58 ± 0.65).

Tabela 5 - Conteúdo de flavonóis totais do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas*.

Cultivares	Flavonóis totais (mg ER/g)
Amanda	37.95 ± 0.40 a
C Vitoria	38.80 ± 0.63 a
Duda	29.58 ± 0.65 b
Marcela	57.46 ± 0.87 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

4.4 Determinação da atividade antioxidante

A análise qualitativa da atividade antioxidante apresentou positividade apenas para as FRCFs. A FRF não apresentou potencial para este papel biológico. No melhor dos esforços, também não foram encontrados trabalhos relatando atividade antioxidante para esta classe de compostos na forma isolada. Porém, estudos realizados por Liu et al. (2016), demonstraram que, em decorrência de sua natureza anfifílica, os fitoesteróis se ligam às membranas celulares e a compostos fenólicos permitindo a ancoragem destes antioxidantes para garantir proteção contra danos oxidativos.

Na avaliação quantitativa da atividade antioxidante, os valores AA% foram dependentes da concentração das FRCRs. Porém, o padrão ácido ascórbico nas concentrações

acima de 60 $\mu\text{g/mL}$, o padrão rutina e a cultivar Marcela nas concentrações acima de 120 $\mu\text{g/mL}$, apresentaram atividade antioxidante sem variação (Figura 2).

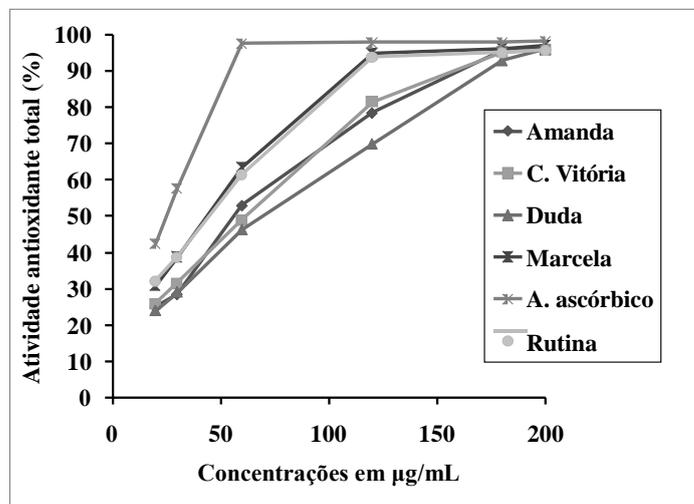


Figura 2 - Variação da atividade antioxidante do extrato das folhas de *I. batatas* e dos controles positivos, rutina e ácido ascórbico em diferentes concentrações.

A melhor AA% foi observada para cultivar Marcela com valores estatisticamente iguais ($p > 0,05$) ao do padrão rutina nas concentrações de 30, 60 e 120 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 3). As demais amostras de extratos, na concentração de 120 $\mu\text{g/mL}$, apresentaram atividade antioxidante superior a 60%. Estes dados são confirmados pela literatura, muitos autores reportam ação antioxidante em vegetais ricos em compostos fenólicos e flavonoides (DOM et al. 2011; GHASEMZADEH et al. 2012; SOARES et al., 2014; SYTAR et al., 2016).

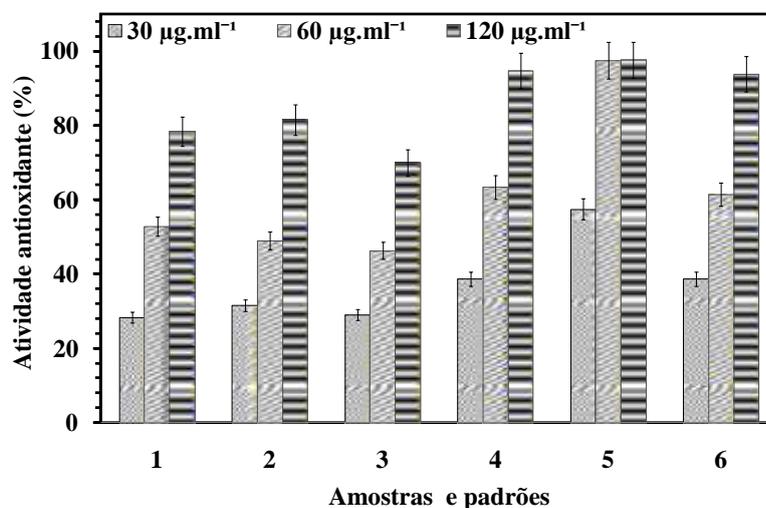


Figura 3 - Porcentagem de atividade antioxidante do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas* e controles dos positivos rutina e ácido ascórbico em três diferentes

concentrações (30, 60 e 120 µg/mL). 1 Amanda, 2 – Carolina Vitória, 3 – Duda, 4 – Marcela, 5 – ácido ascórbico, 6 – rutina. As barras (I) indicam os erros padrões.

A Tabela 6 apresenta valores das concentrações eficientes (CE₅₀). Constatou-se melhor CE₅₀ para a cultivar Marcela (43.69 ± 0.22 µg/mL) e o menos eficiente para a cultivar Duda.

Seguindo a classificação de Melo et al. (2006), para atividade antioxidante: Boa atividade (CE₅₀ < 73,86 µg/mL, ou valores com até três vezes a concentração eficiente do controle positivo); atividade moderada (73,86 µg/mL < CE₅₀ < 172,34 µg/mL, variando entre três e sete vezes a concentração inibitória do controle positivo) e baixa atividade (CE₅₀ > 172,34 µg/mL, sete vezes superior a concentração inibitória do controle positivo), constatou-se que a maioria das cultivares, apresentaram boa atividade antioxidante. A exceção ocorreu com a cultivar Duda. Dados de estudos com estas cultivares realizados por Soares et al. (2014), contrastam em parte, com os obtidos no presente trabalho. Estes autores encontraram atividade antioxidante moderada para a cultivar Marcela e Amanda, avaliando este papel biológico no extrato bruto. Como no presente trabalho o extrato foi fracionado, alguns interferentes podem ter sido eliminados.

Tabela 6 - Atividade antioxidante (DPPH CE₅₀ em µg/mL) do extrato rico em compostos fenólicos de quatro cultivares de *I. batatas* e padrões rutina e ácido ascórbico.

Cultivares	DPPH (CE₅₀)
Amanda	68.64 ± 1.77a
C Vitoria	67.22 ± 1.22 a
Duda	76.30 ± 0.93 b
Marcela	43.69 ± 0.22 c
Rutina	38,75 ± 0.22 d
A. ascórbico	24,62 ± 0.23 e

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

4.5 Identificações dos compostos

As análises por CLAE no resíduo foliar das quatro cultivares de *I. batatas* confirmaram a presença de fitoesteróis e compostos fenólicos, detectados na prospecção fitoquímica preliminar, quantificados em espectrofotômetro.

Na análise pelo método isocrático foi detectada uma matriz complexa de fitoesteróis em intervalos de 2 a 44 minutos nas FRFs. Para esta classe de compostos, a cultivar Amanda foi a que apresentou maior diversidade de compostos, total de 23 picos, enquanto a cultivar Marcela apresentou a menor diversidade: total de 15 picos. Observou-se um padrão de picos semelhantes entre as cultivares estudadas (Figuras 4, 5, 6 e 7). A comparação entre o tempo de retenção dos picos de padrões autênticos com o das amostras permitiu a identificação dos compostos estigmasterol (tR 16,9 minutos) e β -sitosterol (tR 19,2 minutos). Cordeiro et al. (2013) também identificou fitoesteróis em *I. batatas*, porém, no tubérculo. Em prospecção preliminar das folhas, Carvalho et al., (2013) detectou a presença da classe. No melhor dos esforços, não foi encontrado trabalho identificando por métodos analíticos tais compostos na estrutura foliar da espécie como aqui apresentado.

Assim, detecção destes compostos nas folhas de *I. batatas* reforça a ideia de outros autores que têm investigado a utilização das folhas dessas plantas como fonte potencial para utilização farmacológica (SHOHAIB et al., 2011; SOARES et al., 2014).

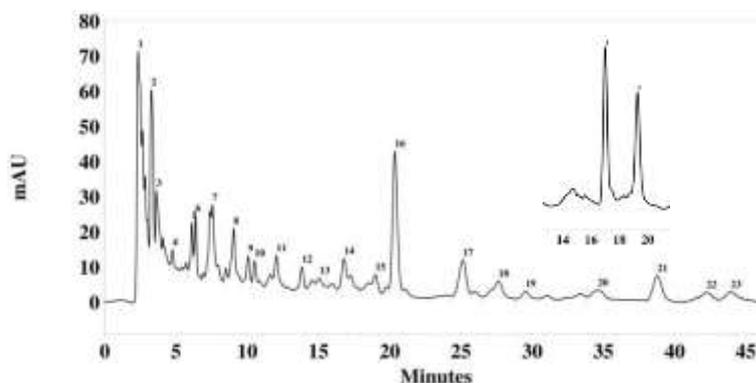


Figura 4 - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 14: estigmasterol; 15: beta sitosterol, ver padrão acima pico 1: estigmasterol e pico 2 : beta sitosterol.

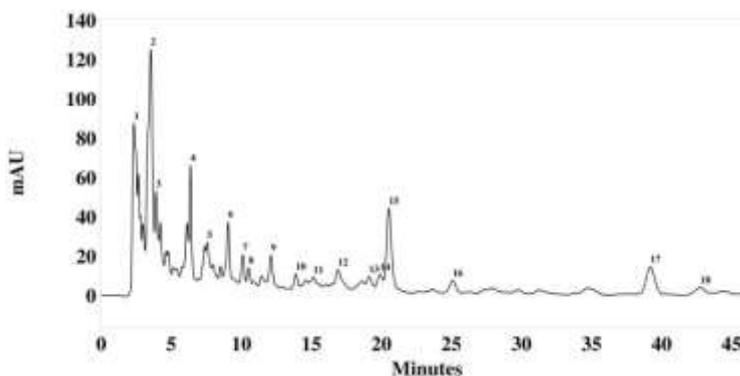


Figura 5 - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Carolina Vitoria, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 12: estigmasterol; 14: beta sitosterol.

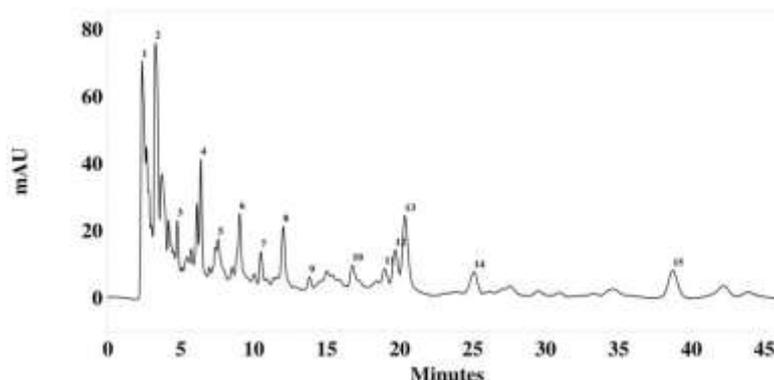


Figura 6 - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 10: estigmasterol; 12: beta sitosterol

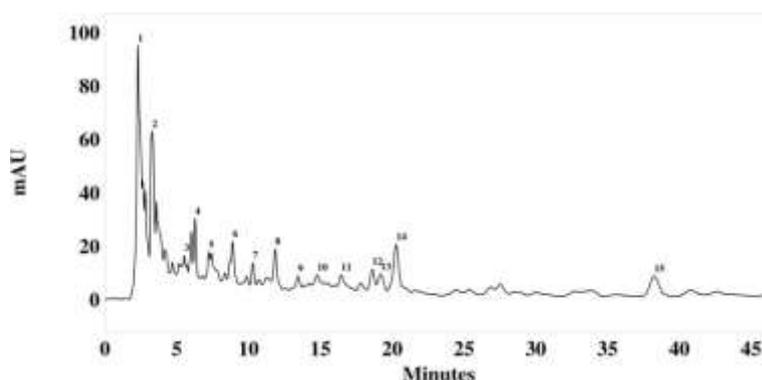


Figura 7 - Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS, conforme descrito em material e métodos, pico 11: estigmasterol; 13: Beta sitosterol.

As análises realizadas pelo método de gradiente nas FRCFs revelaram matrizes complexas de substâncias fenólicas, nas quais um total de oito compostos foram identificados entre os tempos 19 e 53 minutos (Figuras 8, 9, 10, 11 e 12). A cultivar Marcela foi a que apresentou maior diversidade na matriz identificada, tendo exclusividade para o composto catequina e compartilhando apenas com Duda, a presença de galocatequina (Tabela 7).

Em trabalho anterior realizado com estas cultivares, Soares et al. (2014) evidenciou matrizes similares de compostos fenólicos. A combinação desses compostos encontrada nestas cultivares de *I. batatas* se assemelham as encontradas em plantas medicinais amplamente utilizada na medicina popular para a cura de vários tipos de doenças (ZHAO et al., 2014).

Tabela 7 - Compostos fenólicos identificados por CLAE nos extratos ricos em compostos fenólicos das cultivares de *I. batatas* em estudo. Tempo de detecção em minutos e quantificação em micrograma de composto por miligrama de extrato liofilizado ($\mu\text{g}/\text{mg}$).

Composto	Tempo em min.	Cultivares			
		Amanda	C. Vitoria	Duda	Marcela
Galocatequina	19,117	-	-	+	+
Catequina	24,337	-	-	-	+
Rutina	41,306	+	+	+	+
Acido elágico	41,835	+	+	+	+
Naringina	43,881	+	+	+	+
Miricetina	46,910	+	+	+	+
Morina	49,524	+	+	+	+
Quercetina	52,258	+	+	+	+

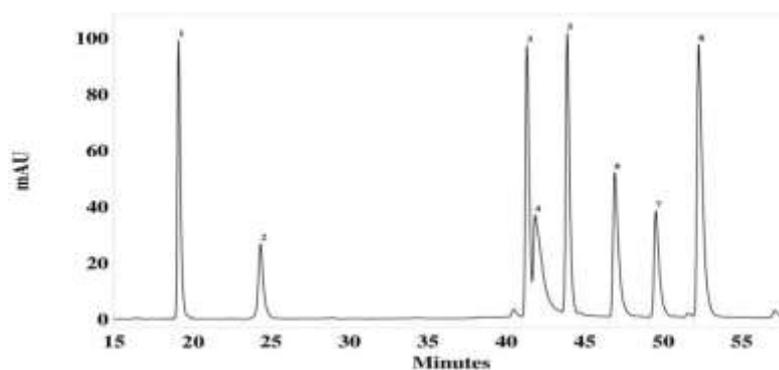


Figura 8 - Cromatograma da mistura de padrões fenólicos, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 1: galocatequina; 2: catequina; 3: rutina; 4: ácido elágico; 5: naringina; 6: miricetina; 7: morina; 8: quercetina

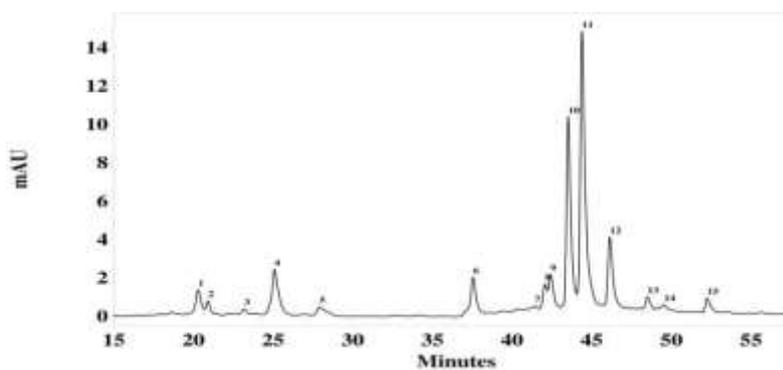


Figura 9 - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 8: rutina; 9: ácido elágico; 10: naringina; 12: miricetina; 14: morina; 15: quercetina.

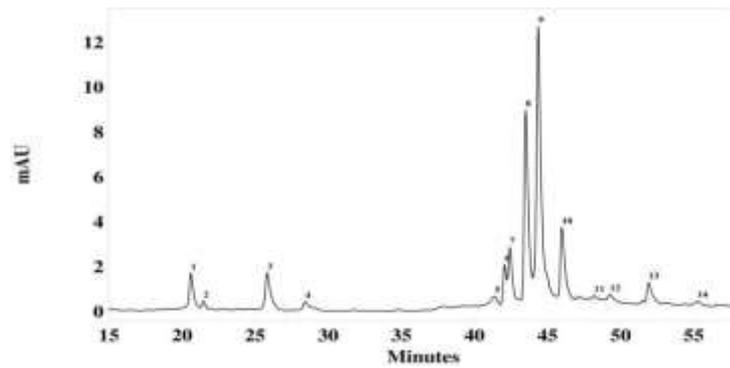


Figura 10 - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Carolina Vitoria, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 6: rutina; 7: ácido elágico; 8: naringina; 10: miricetina; 12: morina; 13: quercetina.

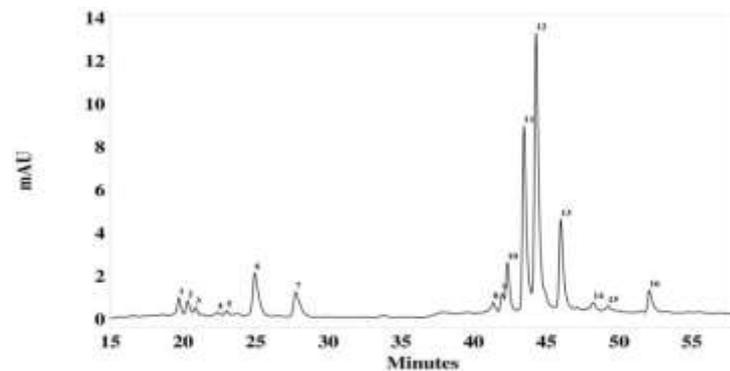


Figura 11 - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 1: galocatequina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: naringina; 13: miricetina; 15: morina; 16: quercetina.

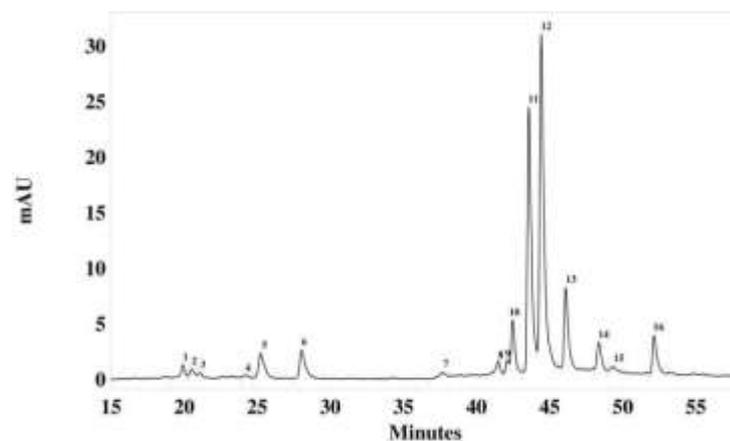


Figura 12 - Cromatograma do extrato rico em compostos fenólicos das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS a 280 nm, conforme descrito em material e métodos. Pico 1: galocatequina; 4: catequina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: naringina; 13: miricetina; 15: morina; 16: quercetina.

4.6 Análises de Correlação

Observa-se correspondência fortemente positiva nos resultados das análises de correlação de Pearson entre DPPH CE₅₀ e os fotoquímicos fenóis, flavonóides e flavonóis totais dos extratos ricos em fenóis de *I. batatas*, cujos resultados podem ser observados na Tabela 8, sendo que a correlação mais alta ocorre com flavonóis totais ($r = -0,9970$), seguida de flavonóides totais. As análises de correlação também evidenciaram que os flavonóis, classe avaliada pela primeira vez nas cultivares em estudo, se constituem os principais flavonoides das folhas de *I. batatas*, os quais demonstraram influência direta sobre o conteúdo fenólico.

Muitos autores têm investigado a utilização das folhas de batata-doce como fonte potencial de atividade antioxidante natural (ISHIDA et al., 1999; ISLAM, 2006; XU et al., 2010; AGATI et al., 2012; HUE et al., 2012; SOARES et al., 2013). A detecção de flavonóides nas cultivares de *I. batatas* e a correlação com DPPH reforçam a ideia de outros autores, que investigam a utilização das folhas destas plantas como fonte potencial de antioxidantes naturais (ISHIDA et al., 1999; ISLAM, 2006; XU et al., 2010; HUE et al., 2012), já que estes compostos demonstram forte atividade antioxidante (AGATI et al., 2012).

Tabela 8 - Correlação entre os teores de fenóis, flavonoides, flavonóis totais e atividade antioxidante (DPPH – CE₅₀) das folhas de quatro cultivares de *I. batatas* utilizadas na produção industrial de etanol. Valores em coeficiente r (Pearson) e p -valor.

Métodos	Fenóis totais	Flavonoides	Flavonóis
Fenóis totais	—		
Flavonoides	$r = 0,8936$; $p = 0,1064$	—	
Flavonóis	$r = 0,9061$; $p = 0,0939$	$r = 0,9080$; $p = 0,0919$	—
DPPH (CE ₅₀)	$r = -0,8989$; $p = 0,1010$	$r = -0,9328$; $p = 0,0672$	$r = -0,9970$; $p < 0,0001$

Observa-se correspondência fortemente positiva nos resultados das análises de correlação de Pearson entre DPPH CE₅₀ e os fotoquímicos fenóis, flavonóides e flavonóis totais dos extratos ricos em fenóis de *I. batatas*, cujos resultados podem ser observados na Tabela 8, sendo que a correlação mais alta ocorre com flavonóis totais ($r = -0,9970$), seguida de flavonóides totais.

Muitos autores têm investigado a utilização das folhas de batata-doce como fonte potencial de atividade antioxidante natural (ISHIDA et al., 1999; ISLAM, 2006; XU et al., 2010; AGATI et al., 2012; HUE et al., 2012; SOARES et al., 2013). Soares et al., (2013) detectou nestas folhas compostos flavonóides que demonstraram forte atividade antioxidante.

A detecção de flavonóides nas cultivares de *I. batatas* e a correlação com DPPH reforçam a ideia de outros autores, que investigam a utilização das folhas destas plantas como fonte potencial de antioxidantes naturais (ISHIDA et al., 1999; ISLAM, 2006; XU et al., 2010; HUE et al., 2012), já que estes compostos demonstram forte atividade antioxidante (AGATI et al., 2012). Além dessas propriedades, esses dados reforçam a idéia de uma possível utilização farmacológica dos extratos dessas folhas, pois várias pesquisas reportam o efeito dos flavonóides para a cura de doenças como pneumonia, câncer, disenteria amebiana, infestações por vermes entre outras (SHOHAIB et al., 2011).

5. CONCLUSÃO

✓ O método de extração aplicado ao resíduo foliar de *I. batatas* permitiu a extração simultânea de fitoesteróis e compostos fenólicos e a separação entre estas duas classes de forma simples.

✓ A quantificação de fitoesteróis totais evidenciou valores significativos desta importante classe de compostos, dados incipientes na literatura para folha de *I. batatas*.

✓ A quantificação do conteúdo fenólico confirmou dados anteriores para compostos fenólicos e flavonoides totais, permitindo a constatação de que os flavonóis estão entre os principais constituintes fenólicos nas folhas das cultivares estudada. Isto contribui significativamente com a ideia de aproveitamento das partes aéreas desta planta para fins farmacológicos, tendo em vista que se trata de compostos com atividades biológicas importantes para organismo humano.

✓ A maioria das cultivares de *I. batatas* estudadas apresentaram alta atividade antioxidante, tal atividade foi fortemente correlacionada com o conteúdo fenólico, principalmente flavonóis, demonstrando grande potencial de aproveitamento do resíduo foliar desta planta como fonte de antioxidantes naturais.

✓ As análises por CLAE confirmaram a presença dos compostos detectadas na prospecção fitoquímica preliminar e quantificados em espectrofotômetro, permitindo a identificação do estigmasterol e β -sitosterol, fitoesteróis de grande importância fitoterápica, inéditos para folhas de *I. batatas*. Identificaram-se também oito compostos fenólicos muito bem relatados como importantes para a prevenção e cura de diversas patologias humanas.

✓ O resultado deste trabalho sugere o aproveitamento das folhas de *I. batatas* em um sistema de biorrefinaria para tornar o cultivo da espécie competitivo em relação a culturas com maiores impactos sociais e ambientais, além contribuir com inclusão de pequenos produtores na produção de biocombustíveis.

✓ Os dados obtidos no presente trabalho sugerem o desenvolvimento de pesquisas que avaliem a logística de implementação de biorrefinarias na produção de etanol a partir de *I. batatas*.

6. REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

- ABIDI, S.L. Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, v. 935, p. 173–201, 2001.
- AGATI, G. et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v.196, p.67-76, 2012.
- ALVIM, J. C.; ALVIM, F. A. L. S.; SALES, V. H. G.; SALES, P. V. G.; OLIVEIRA, E. M.; COSTA, A. C. R. Biorrefinarias: Conceitos, classificação, matérias primas e produtos. **Journal of Bioenergy and Food Science**. Macapá, v.1, n. 3, p. 61-77, out.- dez. 2014.
- ALVIM, J.C. **Composição e caracterização química da fração sacarídica do coproduto da biofermentação etanólica da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam)**. 2014. Dissertação (Mestrado - Área de concentração em Agroenergia) - Departamento de Agroenergia, Universidade Federal do Tocantins, Palmas.
- AMARETTI, A.; RAIMONDI, S.; LEONARDI, A.; QUARTIERI, A.; ROSSI, M. Hydrolysis of the Rutinose-Conjugates Flavonoids Rutin and Hesperidin by the Gut Microbiota and Bifidobacteria. **Nutrients**. V. 7, n. 4, p. 2788–2800, apr. 2015.
- AMBRIZ-PÉREZ, D. L.; LEYVA-LÓPEZ, N.; GUTIERREZ-GRIJALVA, E. P.; HEREDIA, J. B. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, p. 1-14, jan. 2016.
- AMORIM, E. L. C.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO, J. M.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; ARAÚJO, T. A. S.; ALBUQUERQUE, U. P. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. **Func Ecosyst and Communit**. v. 2, n. 1, p. 88- 94, 2008.
- ASHRAFUL, M. A.; SUBHAN, N.; M. RAHMAN, M. M.; UDDIN, S. J.; REZA, H. M.; SARKER. S. D. Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, on Metabolic Syndrome and Their Mechanisms of Action. **Adv. Nutr.** v. 14, n. 4, p. 404-17, jul. 2014.
- BOMBO, R. de P. A. **Ação dos Fitoesteróis Sobre Lesão Aterosclerótica em Camundongos com Ablação Gênica do Receptor de LDL**. 2014. 78 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- BURG, V. K.; GRIMM, H. S.; ROTHHAAR, T. L.; GRÖSGEN, S.; HUNSDÖRFER, B.; HAUPENTHAL, V. J.; ZIMMER, V. C.; METT, J.; WEINGÄRTNER, O.; LAUFS, U.; BROERSEN, L. M.; TANILA, H.; VANMIERLO, T.; LÜTJOHANN, D.; HARTMANN, T.; GRIMM1, M.O.W. Plant Sterols the Better Cholesterol in Alzheimer’s Disease? A Mechanistical Study. **The Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 41, p. 16072–16087, 2013.
- CARMONA, P. A. O.; PEIXOTO, J. R.; AMARO, G. B.; MENDONÇA, M. A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando descritores morfoagronômicos das raízes. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 33, n. 2, p. 241-250, abr. - jun. 2015.
- CARVALHO, I. S.; CAVACO, T.; CARVALHO, L. M.; DUQUE, P. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves. **Food Chemistry**. v. 118 p. 384–390, 2010.
- CARVALHO, L. C.; BUENO, R. C. O. de F.; CARVALHO, M. M.; FAVORETO, A. L.; GODOY, A. F. Cana-de-açúcar e álcool combustível: histórico, sustentabilidade e segurança energética. **Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.9, N.16; p. 2013.

CASTRO, H. F. de; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C. dos. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2009.

CERQUEIRA a. A. B. **Estratégias Farmacológicas para as Alterações Precoces do Comportamento na Doença de Alzheimer**. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Coimbra, 2009.

CHEN, Y.-Z.; KAO, S.-Y.; JIAN, H.-J.; YU, Y.-M.; LI, J.-Y.; WANG, W.-H.; TSAI, C.-W. Determination of cholesterol and four phytosterols in foods without derivatization by gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, i. 4, p. 636-644, dez. 2015.

CORDEIRO, N.; FREITAS, N.; FARIA, M.; GOUVEIA, M. *Ipomoea batatas* (L.) Lam.: A Rich Source of Lipophilic Phytochemicals. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 61, n. 50, p.12380-12384, 18 dez. 2013.

COSTA, D.M.da. **Avaliação de cultivares de batata-doce quanto a produtividade, composição e aproveitamento das ramas visando a produção de etanol**. 2015. 74 p. Dissertação (Mestrado - Área de concentração em Agroenergia) - Departamento de Agroenergia, Universidade Federal do Tocantins, Palmas.

CHRISTIE, W.W. Sterols 3. Sterols and their conjugates from plants and lower organisms: structure, occurrence, biochemistry and analysis. **The Lipid Library**, p.1-8, 2012. Disponível em: <http://lipidlibrary.aocs.org/content.cfm?ItemNumber=39358>. Acesso em 8 jul. 2016.

DALE, V. H.; KLINE, K. L.; BUFORD, M. A.; VOLK, T. A.; SMITH, C. T.; STUPAK, I. Incorporating bioenergy into sustainable landscape designs. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 56, p.1158-1171, abr. 2016.

DEMIRBAS, A. Biorefineries: Current activities and future developments. **Energy Conversion and Management**, v.50, p.2782-2801, 2009.

DUARTE, C. S. C. **Extração e Encapsulamento de Compostos Bioativos do Bagaço de Azeitona**. 2011. Lisboa. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar). Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, 2011.

DUFOURC, E. J. The role of phytosterols in plant adaptation to temperature. **Plant Signaling & Behavior**, v 3, n. 2, p. 133-134, 2008.

FRANCINI, A. e SEBASTIANI, L. Phenolic Compounds in Apple (*Malus x domestica* Borkh.): Compounds Characterization and Stability during Postharvest and after Processing. **Antioxidants**. v. 2, n. 3, p. 181-193, aug.-sep. 2013.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations.2012. **FAOSTAT, estadísticas de producción de alimentos**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 06/10/2015.

FENG, S.; LIU A, S.; LUOA, Z.; TANG, K. Direct saponification preparation and analysis of free and conjugated phytosterols in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 181, p. 9–14, aug. 2015.

FERNANDES, A. D. C. **Esteróis e Estanóis na matriz alimentar: Relação com a redução dos níveis de colesterol e a redução de risco de doenças coronárias**. 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Farmácia. Universidade de Lisboa. Lisboa, 2015.

FU, Z.; TU, Z.; ZHANG, L.; WANG, H.; WEN, Q.; HUANG, T. Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities. **Food Bioscience**, v. 15, p. 11–18, 2016.

- FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; GENTIL JOSÉ VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J.B. de. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. vol.18 no.4 João Pessoa Oct./Dec. 2008.
- GABAY, O. SANCHEZ, C.; SALVAT, C.; F. CHEVY, F.; BRETON, M.; NOURISSAT, G.; LOBO, C.; JACQUES, C.; BERENBAUM, F. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 18, n. 1, p.106-116, jan. 2010.
- GADKARI, P. V. e BALARAMAN, M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. **Food and Bioproducts Processing**. V. 93, P. 122-138, Jan. 2015.
- GANESHPURKAR, A. e SALUJA, A. K. The Pharmacological Potential of Rutin. **Saudi Pharmaceutical Journal**. Apr. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016416300263>> Acesso em: 01-07-2016.
- GHASEMZADEH, A.; OMIDVAR, V.; JAAFAR, H. Z. E. Polyphenolic content and their antioxidant activity in leaf extract of sweet potato (*Ipomoea batatas*). **Journal of Medicinal Plants Research**, v.6, n.15, p.2971-2976, 2012.
- GOBBO-NETO, L. e LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química Nova**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p.374-381, 2007.
- GOLDEMBERG, J. e LUCON, O. **Energia e meio ambiente no Brasil**. ESTUDOS AVANÇADOS 21 (59), 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ea/v21n59/a02v2159.pdf>> Acesso em: 10 mai. 2016.
- GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M.; GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ, H. O.; VILA, M. M. D. C. Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. **Revista Brasileira de Farmacia**. V. 94, n.2, p. 130-135, 2013.
- GRATTAN Jr., B. J. Plant Sterols as Anticancer Nutrients: Evidence for Their Role in Breast Cancer. **Nutrients**, v. 5, p. 359-387, 2013.
- GYLLING, H.; PLAT, J.; TURLEY, S.; GINSBERG, H. N.; ELLEGARD, L.; JESSUP, W.; JONES, P. J.; LÜTJOHANN, D.; MAERZ, W.; MASANA, L.; SILBERNAGEL, G.; STAELS, B.; BOREN, J.; CATAPANO, A. L.; BACKER, G. D.; DEANFIELD, J.; DESCAMPS, O. S.; KOVANEN, P. T.; RICCARDI, G.; TOKGÖZOGLU, L.; CHAPMAN, M. J. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. **Atherosclerosis**, v. 232, p. 346 – 360, 2014.
- HAJIMEHDIPOOR, H.; GOHARI, A. R.; AJANI, Y; SAEIDNIA, S. Comparative study of the total phenol content and antioxidant activity of some medicinal herbal extracts. **Research Journal of Pharmacognosy**. v. 1, n. 3, p. 21–25, 2014.
- HALLENBECK, P. C.; GROGGER, M.; MRAZ, M.; VEVERKA, D. Solar biofuels production with microalgae. **Applied Energy**. v. 179, p. 136–145, 2016.
- HAND, T. E.; COCKERHAM, K. L. **The Sweet Potato: A Handbook for the Practical Grower**. The macmillancompany. New York, 1921.
- HERCHI, W.; HARRABI, S.; SEBEL, K.; ROCHUT, S.; BOUKHCHINA, S.; PEPE, C.; KALLEL, H. Phytosterols accumulation in the seeds of *Linum usitatissimum* L. **Plant Physiology and Biochemistry**. V. 47 p. 880–885, jul. 2009.
- HUAMAM, Z. **Systematic botany na morphology of the sweet potato plant**. **Technical Informatin bulletin 25**. International Potato Center. Lima, 1992.

HUBER, L. S. e RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimento e Nutrição**. Araraquara: v.19, n.1, p. 97-108, jan.-mar. 2008.

HUE, S. M.; BOYCE, A. N.; CHANDRAN, S. Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents in the leaves of different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas*). **Australian Journal of Crop Science**, v.6, n.3, p.375-380, 2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2012. Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes - PAM. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2012_v39_br.pdf>. Acesso em: 06/10/2015.

ISHIDA, H.; SUZUNO, H.; SUGIYAMA, N.; INNAMI, S.; TADOKORO, T.; MAEKAWA, A. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalk and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Poir). **Food Chemistry**, v. 68, p. 359 – 367, Ago. 1999.

ISLAM, S. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaf: Its potential effect on human health and nutrition. **Journal of Food Science**. v. 4: p. 2–27, 2006.

ITURRIAGA, L.; IDOIA OLABARRIETA, I.; CASTELLAN, A.; GARDRAT, C.; VÉRONIQUE, C. Active naringin-chitosan films: Impact of UV irradiation. **Carbohydrate Polymers**. V. 110, i. 22, P. 374–381, Sep. 2014.

JESUS, W. M. de M. e CUNHA, T. N. da. Estudo das propriedades farmacológicas da espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reissek) e de duas espécies adulterantes. **Revista Saúde e Desenvolvimento**. n. 1, Jan. – Jun. 2012.

JONG, E. de e JUNGMEIER, G. **Biorefinery Concepts in Comparison to Petrochemical Refineries**. In: PANDEY, A.; HOFER, P.; LORROCHE, C.; TAHERZADEH, M.; NAMPOOTHIRI, M. Industrial Biorefineries and White Biotechnology, Chapter. Elsevier p. 3-33, 2015.

KANG, Q.; APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEWIL, R.; TAN, T. Energy efficient production of cassava-based bioethanol. *Adv. Biosci. Biotechnol.* v. 5, p. 925–939, 2014.

KAPOOR, R. E KAKKAR, P. Protective Role of Morin, a Flavonoid, against High Glucose Induced Oxidative Stress Mediated Apoptosis in Primary Rat Hepatocytes. **PLoS ONE**. V. 7, n.8, p. 1-11, aug. 2012.

KLEIN, M.; GRIESS, O.; PULIDINDI, I. N.; PERKAS, N.; GEDANKEN, A. Bioethanol production from *Ficus religiosa* leaves using microwave irradiation. **Journal of Environmental Management**. v. 177, p. 20 – 25, 2016.

LAGARDA, M. J.; GARCÍA-LLATAS, G.; FARRE, R. Analysis of phytosterols in foods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 41, p. 1486–1496, ago. 2006.

LAURIE, S.; FABER, M.; ADEBOLA, P.; BELETE, A. Biofortification of sweet potato for food and nutrition security in South Africa. **Food Research International**. v.76, p. 962–970, may-jun, 2015.

LAVADO, A.L.C. **Os atuais desafios da energia. Implementação e utilização das energias renováveis**. 2009. 58p. Dissertação (Mestrado – Área de concentração em Ciências e Tecnologias do Ambiente) - Departamento de Biologia Animal, Universidade de Lisboa, Lisboa.

LAVIOLA, B. V. ALVES, A. A. Matérias-primas oleaginosas para Biorrefinarias. in: SOUZA JR. M. T. Biorrefinarias: Cenários e Perspectivas, **Embrapa Agroenergia**, Brasília, 2011.

LEONG, W.; LAI, O.; LONG, K.; MAN, Y. B. C.; MISRAN, M.; TAN, C. P. Preparation and characterisation of water-soluble phytosterolnanodispersions. **Food Chemistry**, v. 129, p. 77–83, nov. 2011.

LI, B.; HARICH, K.; WEGIEL, L.; TAYLOR, L. S.; EDGAR, K. J. Stability and solubility enhancement of ellagic acid in cellulose ester solid dispersions. **Carbohydrate Polymers**. V.92, i. 2, p. 1443-1450, fev. 2013.

LIN, Y.; SONG, X.; FU, J.; LIN, J.; QU, Y. Microbial transformation of phytosterol in corn flour and soybean flour to 4-androstene-3,17-dione by *Fusarium moniliforme* Sheld. **Bioresource Technology**, v.100, p.1864-1867, 2009.

LIU, S.; HU, H.; LI, C. Antioxidant activities of novel galloyl phytosterols evaluated by human erythrocytes with the aid of confocal microscopy imaging. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 224–231, 2016.

LI, Y.; DING, Y. Minireview: Therapeutic potential of myricetin in diabetes mellitus. **Food Science and Human Wellness** . v. 1, i. 1, p. 19–25, dec., 2012.

MARTINS, E. C. A.; PELUZIOII, J. M.; COIMBRAIII, R. R.; OLIVEIRA JUNIOR, W. P. de. Variabilidade fenotípica e divergência genética em clones de batata doce no estado do Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 691-697, out-dez, 2012.

McDANIEL, A. L.; ALGER, H. A.; SAWYER, J. K.; KELLEY, K. L.; KOCK, N. D.; BROWN, J. M.; TEMEL, R. E.; RUDEL, L. L. Phytosterol Feeding Causes Toxicity in ABCG5/G8 Knockout Mice. **The American Journal of Pathology**, v. 182, n. 4, p. 1131-1138, Apr. 2013.

MAZZER, C.; CAVALCANT, O. A. **Introdução à gestão ambiental de resíduos**. v.16, nº 11-12, 2004. Disponível em: <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/77/i04-aintroducao.pdf>> Acesso em 19-05-2016.

MATOS, F.J.A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3.ed. Fortaleza: UFC, 2009. 141p.

MELO, E. de A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. da S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MILIND, P. e MONIKA. Sweet potato as a super-food. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**. v. 6, n. 4, p. 557 – 562, 2015.

MIYAMOTO, T.; MEKADA, Y.; KURAHACHI, M.; UMENO, M.; NAKAYAMA, M.; SHIGEMUNE, N.; TSUGUKUNI, T.; TOKUDA, H.; TACHIBANA, H.; HONJOH, K. A highly sensitive method for quantifying gallocatechin gallate and its epimer using a catechin-specific peptide. **Food Control**. v. 29, i. 1, , p. 162–166. jan. 2013.

NACHIMUTHU, K. e PALANISWAMY, C. Physiochemical analysis and HPLC-PDA method for quantification of stigmasterol in *Dipteracanthus patulus* (Jacq.) Nees. **Journal of Pharmacy Research**. v. 7, p. 741 -746, India, ago. 2013.

NASO, L. G.; LEZAMA, L.; ROJO T.; ETCHEVERRY, S. B.; VALCARCEL, M.; ROURA, M.; SALADO, C.; FERRER, E. G.; WILLIAMS, P. A. Biological evaluation of morin and its new oxovanadium (IV) complex as antioxidant and specific anti-cancer agents. **Chemico-Biological Interactions**, v. 206, n. 2, p. 289-301, Nov. 2013.

NELSON, S.C.; ELEVITCH C.R. **Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Sweetpotato (*Ipomoea batatas*)**. In: ELEVITCH, C.R. (ed.). Specialty Crops for Pacific

Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawai_ 2011. Disponível em <<http://agroforestry.net/scps>>. Acesso em: 19 de maio de 2016.

NOGUEIRA, M. A. F. de S. e GARCIA, M. da S. Gestão dos resíduos do setor industrial sucroenergético: estudo de caso de uma usina no município de rio brilhante, mato grosso do sul. Reget: **Revista Eletronica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental - REGET**, Santa Maria, v. 17, n. 17, p.3275-3283, 13 fev. 2013. Quadrimestral. Universidad Federal de Santa Maria.

OLIVEIRA, C. A. de; PERES, D. D'A.; GRAZIOLA, F.; CHACRA, N. A. B.; ARAÚJO, G. L. B. de; FLÓRIDO, A. C. F.; MOTA, J.; ROSADO, C.; VELASCO, M. V. R.; RODRIGUES, L. M.; FERNANDES, A. S.; BEBÊ, A. R. Cutaneous biocompatible rutin-loaded gelatin-based nanoparticles increase the SPF of the association of UVA and UVB filters. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 81, p. 1–9 jan. 2016.

OLIVEIRA, N. B. de. Inovação e produção na química fina. **Química Nova**. São Paulo: v. 28, Nov.-Dec. 2005.

PACHECO, T. F. Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração? Circular Técnica, 04 **Embrapa**. 10 ed. Brasília, abr. 2011.

PAVLAK, M. C. M.; ABREU-LIMA, T. L.; CARREIRO, S. C.; PAULILLO, S. C. L. Estudo da fermentação do hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**. v. 34, n.1, p. 82-86. 2011.

PEIXOTO-SOBRINHO TJS, Castro VTNA, Saraiva AM, Almeida DM, Tavares EA, Amorim ELC. Phenolic content and antioxidant capacity of four *Cnidioscolus* species (Euphorbiaceae) used as ethno pharmacologicals in Caatinga, Brazil. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology** . V. 5, n. 20, p. 2310- 2316, 2011.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. das G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal Of Biotechnology And Biodiversity**. Palmas, p. 146-152. nov. 2012.

PIIRONEN, V.; LINDSAY, D. G.; MIETTINEN, T. A.; TOIVO, J.; LAMPI, A.-M. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 939-966, 2000.

POCHAPSKI, M. T.; FOSQUIERA, E. C.; ESMERINO, L.A.; DOS SANTOS, E. B.; FARAGO, P. V.; SANTOS, F. A.; GROPPA, F. C. Phytochemical screening, antioxidant, and antimicrobial activities of the crude leaves' extract from *Ipomoea batatas* (L.) Lam. **Pharmacognosy Magazine**, v. 26, p. 165-170, 2011.

PROCHÁZKOVÁ, D.; BOUŠOVÁ, I. WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**. v. 82, i. 4, p. 513–523, jun. 2011.

PURNOMO, Y.; SOEATMADJI, D. W.; SUMITRO, S. B.; WIDODO, M. A. Anti-diabetic potential of *Urenalobata* leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v. 5, i. 8, p. 645–649, aug. 2015.

RABELO, D.S.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Quantificação de fenóis totais presentes nas cascas de *Trichilliacatigua* A. Juss (Meliaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu. v.15, n.2, p.230-236, 2013.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. **Revista Virtual Química**, v. 5, n. 1, p. 2-15, 2013.

- RENGARAJAN, S.; RANI, M.; KUMARESAPILLAI, N. Study of Ulcer Protective Effect of Ipomea batatas (L.) Dietary Tuberos Roots (Sweet Potato). **Journal of Pharmacology & Therapeutics**, v. 11, n. 1, p. 36-39, Jan. 2012.
- RIBEIRO, A. P. B.; MOURA, J. M.L. N. de; GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G. Interesterificação química: alternativa para obtenção de gorduras zero trans. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1295-1300, 2007.
- ROCHA, L. P. Biocombustíveis: uma alternativa eficaz e menos agressiva ao meio ambiente. **Bolsista de Valor: Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense**, v. 2, p. 77-87, 2012.
- RODRIGUES FILHO, S. e JULIANI, A. J. Sustentabilidade da produção de etanol de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. **Estudos Avançados**. São Paulo: v.27, n.78, p. 195-2012, 2013.
- RODRIGUES, J. A. R. Do Engenho à Biorrefinaria. A Usina de Açúcar como Empreendimento Industrial para a Geração de Produtos Bioquímicos e Biocombustíveis. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1242-1254, 2011.
- RODRIGUES, W.; BERARDO, K. A.; SILVIEIRA, M. A. **Análise econômica da sustentabilidade da cadeia produtiva de etanol de Batata-doce no Estado do Tocantins**. SOBER-470 Congresso, Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Porto Alegre, jul. 2009.
- ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M. S .M.; FIGUEIREDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; SANTAELLA, S.T.; LEITÃO, R. C. **Valorização De Resíduos Da Agroindústria. II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais – SIGERA**: Foz do Iguaçu, v. 01, p. 98 – 105, mar 2011.
- RYAN, L.; SELMET, N.; AASRUD, A. Plugging the energy efficiency gap with climate finance. **International Energy Agency**, 2012.
- RUBIO, D. I. C.; PINO, R. G. S.; DELGADO, D. R. Solvatación preferencial de lanaringina en mezclas de solventes etanol + agua mediante el método de las integrales inversas de Kirkwood-Buff. **Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas**. v. 44 n.2, Bogotá May- Aug. 2015.
- SAAVEDRA, O. M.; SÁNCHEZ, I. R.; SÁNCHEZ, J. R. G.; REYES, G. M. C.; BOLAINA, E. M. Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. **Revista Mexicana de Ciências Farmacéuticas**, México, v. 2, n. 43, p.07-22, 05 mar. 2012.
- SÁ, P. G. S. de; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P. de; SIQUEIRA FILHO, J. A. de ; FONTANA A. P.; DAMASCENO, P. K. F.; BRANCO, C. R. C.; BRANCO, A.; ALMEIDA, J. R. G. da S. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de Selaginella convoluta (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacéuticas Básica e Aplicada**. V. 33, n.4, p. 561-566, 2012.
- SALGADO, J. M.; BIN, C.; NIOROMANSI, D.; SOUZA, A. Efeito do abacate (Persea americana Mill) variedade hass na lipidemia de ratos hipercolesterolêmicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p.922-928, dez. 2008.
- SAMARTH, R. M e SAMARTH, M. Protection against Radiation-induced Testicular Damage in Swiss Albino Mice by Mentha piperita (Linn.). **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v.34, p. 104-329, 2009.

- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte, MG: FEPMVZ, 2002.
- SÁNCHEZ, Ó. J.; CARDONA, C. A.. Trends in: biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p.5270-5295, set. 2008.
- Santos, f. a.; Queiróz, J. H. de; Colodette, J. L.; Fernandes, S. A.; Guimarães, V. M.; Rezende, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v.35, p.1004-1010, 2012.
- SARAF, S.; JHARANIYA, M.; GUPTA, A.; JAIN, V.; SARAF, S. HERBAL hair cosmetics: Advancements and recent. **World Journal of Pharmaceutical ReseaRch**. v. 3, n. 2, p. 3278-3294, jan.-feb. 2014.
- SARKAR, N.; GHOSH, S. K.; BANNERJEE, S.; AIKAT, K. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.19-27, jan. 2012. Elsevier BV.
- SCHUTZ, F.; MASSUQUETTI, A.; ALVES, T. W. Demanda e oferta energética: uma perspectiva mundial e nacional para o etanol. **Revista Eletronica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. v. 16, n. 16, p. 3167 – 3186, nov. 2013.
- SHOHAIB,T.; SHAFIQUEM, M.; DHANYA, N.; MADHU,C. D. Importance of flavonoides in therapeutics. **Hygeia: Journal for Drugs and Medicines**, v. 3, p.1-18, 2011.
- SILVA, A. M.; OLIVEIRA, R. L.;RIBEIRO, O. L.; BAGALDO, A. R.; BEZERRA, L. R.;CARVALHO, S. T.; ABREU, C. L.; LEÃO, A. G. Valor nutricional de resíduos da agroindústria para alimentação de ruminantes. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 05, n. 04, p.370-379, 31 out. 2014.
- SILVA, G. O. da; SUINAGA, F. A.; PONIJALEKI, R.; , AMARO, G. B. Desempenho de cultivares de batata-doce para caracteres relacionados com o rendimento de raiz. **Revista Ceres**. Viçosa: v.62, n.4, p. 379-383, Jul.-Aug. 2015.
- SILVA, J. B. C; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. Cultura da batata doce. In: Embrapa Hortaliças: sistema de produção. **Embrapa**, 2006.
- SILVA, M. E. R. FERNANDES, J. B.X; , SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C; PAGNOCCA, F. C., BUENO, O.C. **Constituintes Químicos de Ipomoea batatas (Convolvulaceae)**. In: 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia – SP, 2007.
- SILVA, E. M. da; COSTA, M. N. F. da; LIMA, M. T. V. L.; SILVA, F. L. de S.; LOPES, I. R. V.**características de carcaça de frangos de corte de crescimento lento alimentados com resíduos de frutas**. In: Congresso técnico científico da engenharia e da agronomia CONTECC, 72. 2015, Fortaleza: Soea, v. 01, p. 01 – 04, 2015.
- SILVA, G. S. P.; **Concentração de amido e estimativa de rendimento de álcool em batata doce**. 2013. (Dissertação de Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Centro – Oeste. Guarapuava, 2013.
- SIMÕES, C.M.O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª. ed. Porto Alegre / Florianópolis:Editora UFRGS, p.1102, 2003.
- SILVA, J. F. L.; SELICANI, M. A.; JUNQUEIRA, T. L.; KLEIN, B. C.; BONOMI, A. **Integração da produção de furfural em uma biorrefinaria de cana-de-açúcar**. In: congresso brasileiro de engenharia química em iniciação científica, 2015, Campinas: Anais do Xi CobeqIc, p. 1 – 6, 2015.

SILVEIRA, M. A.; DIAS, L. E. D.; ALVIM, T. C.; TAVARES, I. B.; SANTANA, W. R.; SOUZA, R. S. **A Cultura da Batata-doce como Fonte de Matéria Prima para Etanol**. Boletim técnico- UFT. Palmas, 2008, 64 p.

SYTAR, O.; HEMMERICH, I.; ZIVCAK, M.; RAUH, C.; BRESTIC, M. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, p.1-11, 2016.

SOARES, I. M.; BASTOS, E. G. B.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. da S.; ALVIM, T. da C.; SILVEIRA, M. A. da; AGUIAR, R. W. de A.; ASCÊNCIO, S. D. Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de diferentes cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. obtidas por melhoramento genético para produção industrial de etanol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 35, n. 3, p. 479-488, 2014.

SONG, J.; LI, D.; LIU, C.; ZHANG, Y. Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity, **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. p.1-6, 2011.

SOTO, M. L.; FALQUÉ, E.; HERMINIA DOMÍNGUEZ, H. Relevance of Natural Phenolics from Grape and Derivative Products in the Formulation of Cosmetics. **Cosmetics**. v. 2, n. 3, p. 259-276, 2015.

SULTANA, B. e ANWAR, F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. **Food Chemistry**. v. 108, i. 3, p. 879–884, jun. 2008.

SYTAR, O.; HEMMERICH, I.; ZIVCAK, M.; RAUH, C.; BRESTIC, M. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**. Dec.-Jan. 2016.

TABORDA, L.W.; JAHN, S.L.; LOVATO, A.; EVANGELISTA, M.L.S. Avaliação da viabilidade técnica e econômica da produção de etanol em planta piloto a partir da batata-doce (*Ipomoea batatas*). **Custos e @gronegocio**, v. 11, n. 1, Jan-Mar, 2015.

TAHA, D. A.; WASAN, E. K.; WASAN, K. M.; GERSHKOVICH, P. Lipid-lowering Activity of Natural and Semi-Synthetic Sterols and Stanols. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. Canada. v. 18, n. 4, p. 344 - 367, aug.-sep. 2015.

TARAHOVSKY, Y. S.; KIM, Y. A. K.; YAGOLNIK, E. A.; MUZAFAROV, E. N. Flavonoid–membrane interactions: Involvement of flavonoid–metal complexes in raft signaling. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes**. v. 1838, i. 5, p. 1235–1246, may 2014.

TAVERNE, F.; RICHARD, C.; COUTURE, P. LAMARCHE, B. Abdominal obesity, insulin resistance, metabolic syndrome and cholesterol homeostasis. **Pharmanutrition**, [s.l.], v. 1, n. 4, p.130-136, out. 2013.

TÁVORA, F.L. **Deve o Brasil persistir no fomento aos biocombustíveis mesmo com a descoberta da volumosa reserva de petróleo do Pré-sal?** Publicado em 21/02/2011. Disponível em: <<http://www.brasil-economia-governo.org.br/2011/02/21/deve-o-brasil-persistir-no-fomento-aos-biocombustiveis/>>. Acessoem: 10 set. 2015.

TOLMASQUIM, M.; GUERREIRO, A. **O Brasil como potência energética**. IN: Traçando novos rumos : o Brasil em um mundo multipolar / Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada .- Brasília : Ipea, p 92, 2011.

- TRAN, K-Q. Fast hydrothermal liquefaction for production of chemicals and biofuels from wet biomass – The need to develop a plug-flow reactor. **Bioresource Technology**, v. 213 p. 327–332, 2016.
- UDEM, S. C.; ASOGWA, O. Effects on hematological and biochemical parameters in albino mice fed Ipomoea batatas leaf aqueous extract. **Springer-Verlag**, London Limited, 2010.
- UGGIERO, A.; VITALINI, S.; BURLINI, N.; BERNASCONI, S.; IRITI, M. Phytosterols in grapes and wine, and effects of agrochemicals on their levels. **Food Chemistry**. v. 141, p. 3473–3479, dez. 2013.
- UNICA – União da Indústria da Cana-de-Açúcar. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br/historico-de-producao.htm>> Acesso em 10 Mar. 2014.
- VAZ JUNIOR, S. Biorrefinarias: cenários e perspectivas. **Embrapa Agroenergia**. Brasília, ed 1, p. 176, 2011.
- VEBER, J.; PETRINI, L. A.; ANDRADE, L. B.; SIVIERO, J. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygiumcumini*L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s. Botucatu: v.17,n.2, Apr.-Jun, 2015.
- VIEIRA, S. H. **Estatística Experimental**. São Paulo, 2 ed. Editora Atlas, 1999, 179 p.
- WISCOW, T. D. V. Statistics at square one: correlation and regression. **The BMJ**, 1997.
- WOOLFE, J. A. **Sweet Potato: An Untapped Food Resource**. Cambridge University Press, Cambridge, UK., 643 p. 1992.
- WU, J.; LI MAOQIANG, L.; FAN, H.; ZHENYU, B.; QIFANG, H.; XUEPENG, W.; LIULONG, Z. Rutin attenuates neuroinflammation in spinal cord injury rats. **journal of surgical research**, v. 15, i. 203, p. 331-337, jun. 2016.
- XU, W.; LIU, L.; HU, B.; SUN, Y. YE, H., MA, D., ZENG, X. TPC in the leaves of 116 sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) varieties and Pushu 53 leaf extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**. V. 23, p. 599–604, 2010.
- YUEA, D.; YOUA, F.; SNYDER, S.W. Biomass-to-bioenergy and biofuel supply chain optimization: Overview, key issues and challenges. **Computers and Chemical Engineering**. V. 66, p. 36–56, Jul. 2014.
- ZHANG, L.; TU, Z.; YUAN, T.; WANG, H.; XIE, X.; FU, Z. Antioxidants and a-glucosidase inhibitors from *Ipomoea batatas* leaves identified by bioassay-guided approach and structure-activity relationships. **Food Chemistry**, v. 208, p. 61–67, 2016.
- ZHAO, H.; ZHANG, H.; YANG, S. Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. **Food Science and Human Wellness**. v. 3, i. 3-4, sep-dec, p. 183–190, 2014.