



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

DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO, FLAVONOIDES E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE NAS FOLHAS DE DEZ CULTIVARES DE *Ipomoea batatas* (L.)
Lam. DESENVOLVIDAS PARA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE ETANOL

Mestrando: Ilsamar Mendes Soares

Orientador: Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio

**PALMAS – TO
2013**



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

DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NAS FOLHAS DE DEZ CULTIVARES DE *Ipomoea batatas* (L.) Lam. DESENVOLVIDAS PARA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE ETANOL

Mestrando: Ilsamar Mendes Soares

Orientador: Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio

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
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca da Universidade Federal do Tocantins

Campus Universitário de Palmas

S676d Soares, Ilsamar Mendes (ordem inversa)

Determinação do conteúdo fenólico, flavonoides e atividade antioxidante nas folhas de dez cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. desenvolvidas para produção industrial de etanol / Ilsamar Mendes Soares - Palmas, 2013.

124 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Agroenergia, 2013.

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

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio.

1. Compostos fenólicos. 2. *Ipomoea batatas*. 3. Antioxidante.
I. Donizeti, Sérgio Ascêncio II. Universidade Federal do Tocantins. III. Título.

CDD 662. 6692

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 – CAMPUS DE PALMAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

DETERMINAÇÃO DE FLAVONOÍDES, FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FOLHAS DE *Ipomoea batatas* (L.) Lam. DESENVOLVIDAS POR MELHORAMENTO GENÉTICO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL

Aluno: ILSAMAR MENDES SOARES

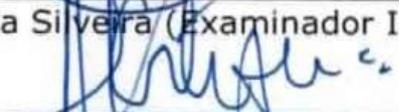
COMISSÃO EXAMINADORA



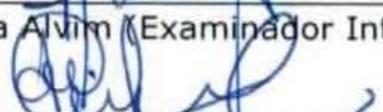
Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio (Presidente)



Dr. Márcio Antônio da Silveira (Examinador Interno - UFT)



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



Dr.ª Maria Cristina da Silva Pranchevicius (Examinadora Externa - UFT)

Data da Defesa: 22/04/2013

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas do Programa de Pós-graduação em Agroenergia para o formato da Dissertação foram contempladas.



Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio (Presidente)

Dedico este trabalho, especialmente

*A minha esposa, Maria Jereza Ferreira da Costa Soares,
Por todo apoio, amor e compreensão durante esta caminhada.
Obrigado por aceitar viver comigo este sonho.*

*Ao meu filho Mendel Mendes Costa Soares, minha inspiração,
Obrigado por me ensinar que a vida também é de brincadeiras.*

*A minha mãe Maria Souza Mendes
Pelo seu amor incondicional
Ao meu padrasto José Ribamar e toda minha família
Por todo carinho e incentivo.*

*Ao prof. Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio,
Pela amizade, confiança e orientação,
Obrigado por me fazer trilhar por um crescimento profissional que julgava
impossível em tão pouco tempo.*

AGRADECIMENTOS

Ao Deus eterno por criar todas as providências à realização deste trabalho e ao mesmo tempo me mostrar parte da complexidade envolvida em sua criação.

A minha esposa Maria Tereza Ferreira da Costa Soares, por todo amor, dedicação, incentivo e presença constante mesmo durante os momentos mais difíceis.

Ao prof. Dr. Sérgio Donizeti Ascêncio, pela orientação, amizade, disponibilidade, conhecimentos transmitidos e capacidade de estímulo ao longo de todo o trabalho.

A toda minha família, em especial a minha mãe Maria Souza Mendes e meu padrasto José Ribamar Rodrigues de Araújo por sempre me darem apoio e incentivo.

A minha amiga e “Sogra” Eva Mendes de Araujo por todo apoio indispensável a minha permanência neste mestrado.

Ao amigo Rafael Ávila pelo companheirismo e incentivo na realização de algumas etapas cruciais deste mestrado.

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

A coordenação do curso de Pós-Graduação em Agroenergia e seu corpo docente, pela contribuição e responsabilidade pela minha formação.

A rede BioFitoAmazon pela viabilização dos recursos necessários a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Domingos Tabajara de Oliveira Martins pela idealização do grande projeto no qual este trabalho foi inserido.

Ao CNPq pela concessão da Bolsa que muito me auxiliou na realização deste trabalho.

A equipe do LASPER/UFT especialmente o professor Dr. Márcio Antônio da Silveira e o mestrando Wesley Rosa Santana por fornecerem as folhas das cultivares de batatas doces utilizadas em meus experimentos.

Aos técnicos dos laboratórios de medicina em especial o técnico Thiago de Cesaro a técnica Millena Tavares por estarem sempre à disposição.

Ao Professor Dr. Tarso da Costa Alvim por permitir a realização de grande parte dos experimentos no laboratório que está sob sua coordenação.

Aos companheiros de laboratório, Fernanda Alvim e Jonas Alvim por estarem sempre dispostos a contribuir com minha pesquisa.

Ao Professor Dr. Tadeu José da Silva Peixoto Sobrinho, pelas instruções técnicas concessão de reagentes e protocolos.

Aos companheiros Saulo Rolindo, Thiago Collicchio e Fernanda Melo pelo auxílio em várias atividades experimentais.

A professora Poliana Guerino Marson Ascêncio pelas muitas informações e disponibilização do principal livro de meus estudos.

Ao Professor Dr. Emerson Guarda por está sempre disponível e conceder alguns reagentes e equipamentos que estavam sob sua responsabilidade.

Aos colegas de disciplinas pela companhia, em especial José Fernandes, Vanessa Oster, Diana Lopes, Patrícia Gobira e Paulo Vitor pelas parcerias.

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS.....	xx
LISTA DE SIGLAS E ABREVEATURAS	xxii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1. Transformação sustentável da biomassa.....	4
3.2. A batata-doce.....	4
3.2.1. Classificação taxonômica	5
3.2.2. Morfologia da planta.....	5
3.2.3. Cultivo de <i>I. batatas</i>	6
3.2.4. Formas de utilização da batata-doce	8
3.3. Metabólitos secundários de plantas	9
3.3.1. Compostos fenólicos	14
3.3.1.2. Flavonoides	16
3.3.1.3. Taninos	19
3.3.1.4. Compostos fenólicos como antioxidantes	21
3.4. Estudos químicos de plantas.....	24
3.4.1. A coleta.....	24
3.4.2. A preparação do material vegetal.....	25
3.4.3. A extração	25
3.4.4. A prospecção fitoquímica preliminar	26
3.4.5. Caracterização de extratos vegetais	27
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1. Local do experimento.....	28
4.3. Origem do material vegetal.....	28
4.4. Coletas e Tratamentos iniciais do material vegetal	28

4.5. Prospecção fitoquímica preliminar	29
4.6. Obtenção dos extratos	31
4.7. Quantificação de compostos fenólicos totais	33
4.8. Quantificação de flavonoides totais	34
4.9. Avaliação da atividade antioxidante	35
4.9.1. Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical DPPH	35
(2,2-difenil-1-picrilhidrazila).....	35
4.9.2. Avaliação da Atividade Antioxidante total pelo de redução do ferro – FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	36
4.9.3. Atividade quelante do íon ferro (FIC)	37
4.10. Cromatografia em camada delgada (CCD)	39
4.11. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	40
4.12. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1. Prospecção fitoquímica.....	42
5.1.1. Análise de flavonoides por cromatografia em camada delgada (CCD)	44
5.2. Quantificação de compostos fenólicos totais	45
5.3. Quantificação de flavonoides totais	49
5.4. Avaliação da atividade antioxidante	53
5.4.1. Avaliação da Atividade Antioxidante total pelo de redução do ferro – FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	53
5.4.2. Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical DPPH	55
(2,2-difenil-1-picrilhidrazila).....	55
5.4.3. Correlação do ensaio FRAP, DPPH com os teores de fenóis e flavonoides totais.....	57
5.4.4. Atividade quelante do íon ferro (FIC).....	60
5.5. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	63
6. CONCLUSÕES.....	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

RESUMO

Este trabalho objetivou determinar os principais constituintes fenólicos e avaliar o potencial antioxidante das folhas de dez cultivares de *Ipomoea batatas*, todas provenientes de melhoramento genético direcionado para a produção industrial de etanol. Para tanto, coletaram-se folhas de plantas adultas, as quais foram secas, reduzidas a pó e submetidas a extrações por refluxo em aparelho de Soxhlet com etanol 70 %, seguido de liofilização. Realizaram-se prospecções fitoquímicas do extrato por diferentes reações químicas e CCD, as quais revelaram a presença de compostos fenólicos gerais, antraquinonas, alcaloides, saponinas, flavonas, flavonol, xantonas, catequinas, taninos gerais, taninos gálicos, e flavonoides. Os teores de fenóis totais determinado pelo método Folin-ciocalteu e de flavonoides totais pela reação com cloreto de alumínio correlacionaram-se entre si e variaram entre as cultivares, sendo menor na cultivar Duda e maior na cultivar Lívia com teores de fenóis entre $54,7170 \pm 4,354$ e $112,288 \pm 3,653$ mg EAT/g, teores de flavonoides variando de $29,155 \pm 3,725$ a $97,358 \pm 2,128$ mg ER/g. Os teores destes compostos correlacionaram-se com as atividades antioxidantes determinadas pelos métodos DPPH e FRAP que também variaram entre as cultivares e apresentaram-se boa em todas, exceto na cultivar Duda que tal atividade mostrou-se moderada. Por outro lado, houve baixa correlação entre os teores de fenóis e flavonoides totais com a atividade quelante determinada pela reação com ferrozina e sulfato ferroso. Esta variou entre as cultivares e foi mais eficiente na cultivar Duda. A análise por CLAE UV-VIS a 280 nm revelou uma matriz complexa de compostos fenólicos no extrato das cultivares estudadas e possibilitou identificar 10 substâncias, ácido elágico, ácido gálico, (-)-galocatequina, (+)-catequina, rutina, quercetina, naringina, (+/-)-naringenina, miricetina, morina e luteolina. Os resultados revelaram grande potencial de utilização dos compostos fenólicos das folhas de *I. batatas*, como opção de diversificação de produtos derivados da cultura de batata-doce, fato que torna estas partes da planta atraente para contínuas pesquisas e talvez futura aplicação na medicina.

Palavras-chave: Compostos fenólicos, flavonoides, antioxidante, *Ipomoea batatas*, CLAE.

ABSTRACT

This study aimed to determine the main phenolic constituents and evaluate the antioxidant potential of the leaves of ten cultivars of *Ipomoea batatas*, all directed from improvement genético for the industrial production of ethanol. To that end, leaves were collected from mature plants, which were dried, reduced to powder and subjected to extraction by refluxing in Soxhlet with ethanol 70 %, followed by lyophilization. There were prospects of phytochemical extracts by different chemical reactions and CCD, which revealed the presence of phenolic general, anthraquinones, alkaloids, saponins, flavones, flavanols, xanthonas, catechins, general tannins, gallic tannins and flavonoids. The total phenolic content determined by the Folin-Ciocalteu and total flavonoids by reaction with aluminum chloride correlated with each other and varied among cultivars, being lower in Duda and cultivate greater in cultivar Lívia with phenols between 54.7170 ± 4.354 and 112.288 ± 3.653 mg ATE/g, flavonoids ranging from 29.155 ± 3.725 to 97.358 ± 2.128 mg RE/g. The levels of these compounds correlated with the antioxidant activities determined by DPPH and FRAP methods also varied among cultivars and showed up in all good except the cultivar Duda that such activity was moderate. Moreover, there was a low correlation between phenol content and total flavonoids with activity determined by reaction with chelating ferrozina and ferrous sulfate. This varied among cultivars and cultivar was more efficient in Duda. Analysis by HPLC-UV VIS at 280 nm revealed a complex array of phenolic compounds in the extract of the cultivars under study and identify possible 10 substances, ellagic acid, gallic acid, (-)-gallocatechin, (+)-catechin, rutin, quercetin, naringin, (+ / -)-naringenin, myricetin, luteolin and morin. Results showed great potential use of phenolic compounds from the leaves of *I. batatas* as an option for diversification of products derived from the culture of sweet potato, a fact that makes these parts of the plant attractive to continuous research and perhaps future application in medicine.

Key words: phenolic compounds, flavonoids, antioxidant, *Ipomoea batatas*, HPLC.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Características do desenvolvimento e morfologia geral da planta de *I. batatas* (HUAMAN, 1992) 6
- Figura 2** – Esquema simplificado do ciclo biossintético dos metabólitos secundários (SANTOS 2003) 13
- Figura 3** – Representação de uma estrutura básica simples e outra polimerizada de compostos fenólicos (adaptado de Bravo (1998))..... 15
- Figura 4** – Estrutura genérica dos flavonoides. Os três anéis fenólicos são referidos como A, B e C. Os átomos de carbono recebem números ordinários nos núcleos A e C e os mesmos números seguidos de linha (') para o núcleo B (COOK et al., 1996; PIETTA, 2000; ZUANAZZI; MONTANHA, 2003) 17
- Figura 5** – Estrutura do esqueleto básico dos flavonoides (adaptado de Hodek et al. (2002)) 18
- Figura 6** – Modelo da estrutura básica de taninos condensados, onde R = H ou OH, assim, cada estrutura representa uma procianidina ou prodelfinidina. A ligação 4 → 6 (linha pontilhada) é uma ligação interflavan alternativa. A unidade da parte inferior representa a unidade terminal de uma determinada estrutura de várias unidades (SCHOFIELD et al., 2001) 20
- Figura 7** – Exemplo de estrutura química de um tanino hidrolizável (β -1,2,3,4,6-pentagaloil-Dglicose). Fonte: Mello; Santos (2007) 20
- Figura 8** – Secagem das folhas de *I. batatas* em estufa dotada de circulação de ar. Na parte indicada pela seta encontram-se as folhas e os pecíolos sendo secos (fonte: arquivo pessoal) 29
- Figura 9** – Sistema Soxhlet utilizado no experimento. A) condensador; B) a amostra no interior do extrator; C) balão de fundo chato; D) chapa de aquecimento (fonte: arquivo pessoal) 32
- Figura 10** – Concentração do extrato em rotaevaporador. O recipiente indicado pela seta contém a solução hidroalcolica do extrato (fonte: arquivo pessoal). 32
- Figura 11** – Liofilizador utilizado na secagem do extrato. Na parte indicada pela seta está a amostra de extrato a ser liofilizada (fonte: arquivo pessoal) 33

- Figura 12** – Introdução dos extratos de *I. batatas* e o padrão de referência em cromatoplaças de alumínio (fonte: arquivo pessoal)..... 39
- Figura 13** – Desenvolvimento da cromatografia em camada delgada com os extratos de *I. batatas* e o padrão de referencia rutina (fonte: arquivo pessoal). 40
- Figura 14** – Teste fitoquímico para detecção de compostos fenólicos no extrato bruto de *I. batatas*. Tubos escuros, reação com cloreto férrico; tubos claros, controle. (A e B) cultivar Beatriz; (C e D) cultivar Marcela; (E e F) cultivar Amanda 42
- Figura 15** – Reação com hidróxido de sódio no pó das folhas da cultivar Beatriz. (a) início da reação; (b) aparecimento de coloração amarelada, indicando a presença de antraquinonas 43
- Figura 16** – Teste para detecção de alcaloides com o reagente Dragendorff sobre o extrato clorofórmico a partir do pó das folhas da cultivar Beatriz. Em destaque, a formação de um precipitado branco, indicativo da presença de alcaloides..... 43
- Figura 17** – Cromatograma (CCD) das soluções extrativas de *I. batatas* (1 – Beatriz, 2 – Marcela, 3 – padrão rutina). A figura da estrutura molecular da rutina foi extraída de Wikipédia (2012) 45
- Figura 18** – Curva de calibração do padrão ácido tânico..... 45
- Figura 19** – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e a produtividade expressa em tonelada/hectare (t/ha), das seis cultivares de menor conteúdo fenólico (1 – Amanda, 2 – Duda, 3 – Marcela, 4 – Beatriz, 5 – Ana Clara, 6 – Barbará)..... 48
- Figura 20** – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e a produtividade expressa em tonelada/hectare (t/ha) das cultivares de maior conteúdo fenólico (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Carolina Vitória)..... 48
- Figura 21** – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e a produtividade expressa em tonelada/hectare (t/ha) nas dez cultivares de *I. batatas* (1 – Julia;

2 – Lívia; 3 – Izabela; 4 – Amanda; 5 – Carolina Vitória; 6 – Duda; 7 – Marcela; 8 – Beatriz; 9 – Ana Clara; 10 – Bárbara)	49
Figura 22 – Curva de calibração do padrão rutina.....	49
Figura 23 – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) nas cultivares de <i>I. batatas</i> (1 - Lívia, 2 – Duda, 3 – Marcela, 4 – Beatriz e 5 – Bárbara).....	51
Figura 24 – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) nas cultivares <i>I. batatas</i> (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara)	51
Figura 25 – Correlação entre flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) e a produtividades das cultivares expressa em t/ha. Análise realizada com as cultivaves Julia (1), Amanda (2), Duda (3), Beatriz (4) e Bàrbara (5)	52
Figura 26 – Correlação entre flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) e a produtividades das cultivares expressa em t/ha. Análise realizada com as dez cultivares (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara).....	52
Figura 27 – Curva de calibração do padrão sulfato ferroso	53
Figura 28 – Porcentagem de atividade antioxidante mensurada pelo ensaio DPPH no extrato etanólico das folhas de <i>I. batatas</i> e do controle positivo em três concentrações (20, 60 e 100 µg/mL). 1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara, 11 controle positivo rutina. As barras finas (I) indicam erro padrão	55
Figura 29 – Correlação entre as atividades antioxidantes realizadas pelos os métodos DPPH e FRAP, expressas como concentração eficiente (CE ₅₀) em equivalentes de ácido tânico, EAT e atividade antioxidante total (AAT) em micromolis de ferro por grama de peso seco (µM Fe ²⁺ /g) respectivamente (1 –	

Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 –
Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara) 58

Figura 30 – Correlação entre fenóis totais expressos em equivalentes de ácido
tânico, EAT e atividade antioxidante expressa como concentração eficiente,
CE₅₀ dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas (1 – Julia, 2 – Lívia, 3
– Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 –
Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara) 58

Figura 31 – Correlação entre fenóis totais expressos em equivalentes de ácido
tânico, EAT e atividade antioxidante total (AAT FRAP) dos extratos das
cultivares de *I. batatas* estudadas (1 - Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 –
Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 - Beatriz, 9 – Ana
Clara, 10 – Bàrbara) 59

Figura 32 – Correlação entre flavonoides totais expressos em equivalentes de
rutina, ER e atividade antioxidante expressa como concentração eficiente,
CE₅₀ dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas (1 – Julia, 2 – Lívia, 3
– Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 –
Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara) 59

Figura 33 – Correlação entre flavonoides totais expressos em equivalentes de
rutina, ER e atividade antioxidante total, AAT FRAP dos extratos das
cultivares de *I. batatas* estudadas (1 - Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 –
Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana
Clara, 10 – Bàrbara) 60

Figura 34 – Diferentes concentrações dos extratos das folhas de *I. batatas*
testados quanto a capacidade em quelar íons metálicos 61

Figura 35 – Correlação entre atividade quelante expressos como concentração
eficiente (CE₅₀ µg/mL) e compostos fenólicos totais expressos em
equivalentes de ácido tânico, EAT e flavonoides totais expressos em
equivalentes de rutina, ER dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas
(1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7
– Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara) 63

Figura 36 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Júlia,
obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando
coluna Phenomenex Luna C18 5µ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída
de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min.,
temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12:

ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina; 19: luteolina 67

Figura 37 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Lívia, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina; 17: luteolina 68

Figura 38 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Izabela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água 55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 11: naringina; 12: rutina; 13: ácido elágico; 14: miricetina; 15: morina; 18: quercetina; 19: (+/-)-naringenina; 20: luteolina..... 69

Figura 39 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12: ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina; 19: luteolina..... 70

Figura 40 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Carolina Vitória, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina; 17: luteolina..... 71

Figura 41 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 9: naringina; 10: rutina; 11: ácido elágico; 12: miricetina; 13: morina; 16: quercetina; 17: (+/-)-naringenina 72

Figura 42 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12: ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina 73

Figura 43 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Beatriz, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12: ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina; 19: luteolina..... 74

Figura 44 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Ana Clara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina 75

Figura 45 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Bárbara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina 76

Figura 46 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Júlia, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 16: (+)-catequina 78

Figura 47 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Lívia, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min.,

temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 6: ácido gálico; 8: (-)-galocatequina; 15: (+)-catequina 79

Figura 48 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Izabela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina 80

Figura 49 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: ácido gálico; 10: (-)-galocatequina; 18: (+)-catequina 81

Figura 50 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Carolina Vitória, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 8: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina 82

Figura 51 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina 83

Figura 52 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 6: ácido gálico; 8: (-)-galocatequina; 12: (+)-catequina 84

Figura 53 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Beatriz, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1

mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 13: (+)-catequina 85

Figura 54 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Ana Clara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina 86

Figura 55 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Bárbara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: ácido gálico; 10: (-)-galocatequina; 17: (+)-catequina 87

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Cultivares de *I. batatas* desenvolvidas para produção de etanol nas condições do Estado do Tocantins - Universidade Federal do Tocantins - UFT (1997 – 2007) 8
- Tabela 2** – Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico (CARVALHO et al., 2003)..... 15
- Tabela 3** – Resultados da Caracterização fitoquímica preliminar de classes de flavonoides nos extratos das folhas de *I. batatas* 44
- Tabela 4** – Resumo das análises de variância do teor de compostos fenólicos totais encontrados nas folhas de dez variedades de *I. batatas*..... 46
- Tabela 5** – valores médios e desvio padrão do teor de compostos fenólicos totais encontrados nas dez cultivares de batata doce expresso como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT/g) 47
- Tabela 6** – Resumo das análises de variância do teor de flavonoides totais encontrados nas folhas de dez cultivares de *I. batatas* 50
- Tabela 7** – Valores médios e desvio padrão do teor de flavonoides totais encontrados nas dez cultivares de *I. batatas* estudadas. Os valores são expressos como miligramas equivalente de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) 50
- Tabela 8** – Resumo das análises de variância da atividade antioxidante total pelo método FRAP nas dez variedades de *I. batatas*..... 54
- Tabela 9** – Valores médios e desvio padrão das atividades antioxidantes totais testadas pelo método FRAP (AAT FRAP) encontrado nas dez variedades *I. batatas* estudadas. Valores expressos em micromoles de sulfato ferroso por miligrama de extrato (μM de Fe^{2+} /g) 54

Tabela 10 – Resumo das análises de variância da concentração eficiente necessária para reduzir a absorbância do DPPH em 50 % nas dez variedades de <i>I. batatas</i>	56
Tabela 11 – Valores médios e desvio padrão da concentração eficiente necessária para reduzir a absorbância do DPPH em 50 % encontrado nas dez cultivares de <i>I. batatas</i> estudadas. Resultados expressos em µg/mL.....	57
Tabela 12 – Resumo das análises de variância da atividade quelante nas dez variedades de <i>I. batatas</i>	62
Tabela 13 – Valores médios e desvio padrão da concentração eficiente necessária para reduzir a absorbância da ferrozina em 50 %, encontrado nas dez cultivares de batata-doce estudadas. Resultados expressos em µg/mL.....	62
Tabela 14 – Principais compostos fenólicos identificados por CLAE nos extratos das cultivares de <i>I. batatas</i> estudadas, utilizando um método isocrático com fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45 v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Tempo de detecção em minutos e quantificação em micrograma de composto por miligrama de extrato seco (µg/mg)	66
Tabela 15 – Principais compostos fenólicos identificados por CLAE nos extratos das cultivares de <i>I. batatas</i> estudadas, utilizando um método isocrático constituído da fase móvel metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1 v/v). Tempo de detecção em minutos e quantificação em micrograma de composto por miligrama de extrato seco (µg/mg)	77

LISTA DE SIGLAS E ABREVEATURAS

%: porcentagem

$(C_6-C_1)_n$: estrutura básica da cadeia carbônica dos taninos hidrolisáveis

$(C_6-C_3)_2$: estrutura básica da cadeia carbônica das lignanas $(C_6-$

$C_3)_n$: estrutura básica da cadeia carbônica das ligninas $(C_6-C_3-C_6)_2$:

estrutura básica da cadeia carbônica dos diflavonoides

$(C_6-C_3-C_6)_n$: estrutura básica da cadeia carbônica dos taninos condensados

$\cdot HO$: radical hidroxila

$^{\circ}C$: graus Celsius

$\mu g/mL$: microgramas por mililitro

$^1O_2^{\cdot}$: oxigênio singlete

AAT: atividade antioxidante total

ABS: absorvância

Acetil-coA: acetil coenzima A

ANOVA: análise de variância

FIC: ferrous ion chelating

C.V.: coeficiente de variação

C₆: corresponde ao anel benzênico (fenol simples).

C₆C₁: estrutura básica da cadeia carbônica de um ácido fenólico.

C₆-C₁-C₆: estrutura básica da cadeia carbônica das xantonas

C₆C₂: estrutura básica da cadeia carbônica das acetofenonas e ácidos fenilacéticos

C₆-C₂-C₆: estrutura básica da cadeia carbônica dos estilbenos, antoquinonas

C₆-C₃: estrutura básica da cadeia carbônica dos fenilpropanoides

C₆-C₃-C₆: estrutura básica da cadeia carbônica dos flavonoides, isoflavonoides

C₆-C₄: estrutura básica da cadeia carbônica das nafitoquinonas

CCD : cromatografia em camada delgada

CE: concentração eficiente

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazila

EAT: equivalentes de ácido tânico

EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético

ER: equivalentes de rotina

EROs: espécies reativas de oxigênio

Fe: Ferro

FeSO₄: sulfato ferroso

Fingerprint: “impressão digital”

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

FV: fontes de variação

g: gramas

GL: grau de liberdade

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

HCl: ácido clorídrico

HPLC: high performance liquid chromatography

L: litro

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

MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

mg/mL: miligrama por mililitro

mg: miligrama

Milli-Q: água deionizada e filtrada

mL: mililitro

mM: milimol

nm: nanômetro

O₂^{•-}: oxigênio superóxido

p/v: parte por volume

pH: potencial Hidrogeniônico

QM: quadrado médio

R•: denota espécie radicalar

R²: coeficiente de linearidade

R_f: retention factor

RPM: rotação por minuto

TPTZ: 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine

UFT: Universidade Federal do Tocantins

UV-Vis: ultravioleta e visível

v/v: volume por volume

XIX: número romano 19

y= ax+b: equação da reta

β: denota anomeridade beta

μ: micrometro

μM: micromol

1. INTRODUÇÃO

Na exploração eficiente dos recursos naturais pode ser encontrado um imenso potencial para o desenvolvimento sustentável. As plantas por representarem uma fonte excepcional de produtos biologicamente ativos acabam ganhando maior destaque, pois seus diversos processos vitais de biossíntese são responsáveis pelo acúmulo de inúmeras substâncias que encontram emprego utilitário em diversas áreas aplicadas, como a produção de produtos energéticos, nutracêuticos, farmacêuticos e outros produtos da química (ABAD; BERMEJO, 2001; BROWN, 2003; MATOS, 2009).

Nos últimos anos, tem-se verificado um grande avanço científico e tecnológico envolvendo a exploração dos recursos vegetais, para fins agroenergéticos, principalmente por ser esta uma alternativa à dependência de combustíveis fósseis e que copera diretamente com a mitigação dos gases de efeito estufa (GEE) (JOHANSSON et al, 1993; POPP ET AL, 2010), uma questão cada vez mais fortalecida à medida que se aumentam a conscientização do uso da bioenergia, biocombustíveis e produtos de base biológica como pré-requisitos da sustentabilidade ambiental (KAMM et al., 2006).

Entre as diversas formas de se obter energia renovável, a exploração da biomassa, denominada agroenergia (CHING; RODRIGUES, 2007), têm se mostrado como a alternativa mais promissora da atualidade. No entanto, a utilização da matéria-prima vegetal pelas técnicas agroenergéticas não ocorre de forma integral. Grande parte dos processos de conversão de vegetais em biocombustíveis produz resíduos ou coprodutos, que podem potencialmente, serem usados ou convertidos em outros produtos de interesse humano. As potencialidades desses coprodutos fornece uma perspectiva para inúmeras aplicações que incluem desde a fabricação de plásticos biodegradáveis ao uso cosmético e medicinal (CANGEMI, et al., 2010;).

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), uma planta amplamente utilizada na alimentação humana e de animais domésticos têm proporcionado grandes expectativas para área agroenergética, principalmente por que algumas pesquisas demonstram que suas raízes se constituem uma fonte alternativa de matéria prima para produção de etanol, e seu fácil cultivo configura-se como

possibilidade de inclusão social do agricultor familiar (SILVEIRA et al., 2008; PAVLAK et al., 2011).

Por outro lado, distintos trabalhos como o de Ishida et al. (1999), Miyazaki et al. (2005), Royhan et al. (2009), Islam (2009) têm demonstrado que por meio do metabolismo secundário, esta espécie sintetiza uma variedade de compostos com diferentes propriedades medicinais. O fato de as folhas de *I. batatas* serem consumidas em algumas partes do mundo, motivou estudos que culminaram com a detecção de substâncias capazes de prevenir várias doenças, principalmente as decorrentes da oxidação de moléculas biológicas, o câncer, o envelhecimento precoce e as doenças cardiovasculares (ISLAM, 2009).

Entretanto, variedades de batata-doce produzidas para fins agroenergéticos têm suas folhas descartadas no ambiente agrícola ou servida como ração para animais, podendo isto ser decorrente da escassez de pesquisas fitoquímicas com variedades cultivadas para este fim.

Sabe-se que, os metabólitos secundários são compostos importantes no equilíbrio da planta com o ambiente adjacente (HARBORNE, 1988; CROTEAU et al., 2000; SANDES; DI-BLASI, 2000; SANTOS, 2003). Na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins, a equipe do Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a Partir de Fontes Renováveis (LASPER/UFT) têm desenvolvido por melhoramento genético convencional, variedades de batata-doce bem adaptadas a esta região, com alto teor de amido e excelentes resultados na produção de etanol em escala industrial. Assim este trabalho se estabeleceu mediante a possibilidade de haver alguma relação das características agrônômicas alcançadas com a produção de metabólitos secundários de interesse farmacológico produzido por estas linhagens.

Por ser uma alternativa capaz de agregar valor ao cultivo da batata-doce em decorrência de possíveis aplicações na medicina, o presente trabalho centrou-se na análise fitoquímica das folhas das espécies de *I. batatas* melhoradas geneticamente pela equipe do LASPER/UFT, com ênfase nos constituintes fenólicos, compostos já encontrados em quantidades consideráveis em estudos realizados com outras variedades desta espécie em várias partes do mundo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Determinar os principais constituintes fenólicos e avaliar o potencial antioxidante em folhas de dez cultivares *I. batatas* provenientes de melhoramento genético convencional direcionado para a produção industrial de etanol.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar o perfil fitoquímico das folhas de *I. batatas*;
- Qualificar e quantificar o teor de fenóis totais e flavonoides totais nos extratos das folhas de *I. batatas*;
- Avaliar o potencial antioxidante das folhas de *I. batatas*;
- Identificar os principais compostos fenólicos das folhas de *I. batatas*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Transformação sustentável da biomassa

Os combustíveis provenientes da biomassa como o biodiesel e o álcool, se constituem o foco das alternativas energéticas sustentáveis da atualidade (TÁVORA, 2010). A grande vantagem na utilização de produtos derivados da biomassa para fins energéticos decorre do fato dessa matéria prima apresentar baixo valor agregado e ser abundante na natureza (BEVILAQUA, 2010), questão que poderá ser fortalecida cada vez mais com o desenvolvimento científico e tecnológico na investigação e aplicação dos seus diversos produtos agregados (KAMM et al., 2006).

Os recursos biomássicos são constituídos por grandes grupos de substâncias passíveis de serem transformados a uma gama de produtos de interesse humano. Como citado por Kamm; Kamm (2004), assim como na petroquímica, onde produtos químicos básicos, produtos intermediários e produtos sofisticados são produzidos, a transformação da biomassa pode adotar o mesmo princípio, uma vez que o desempenho da síntese natural, na qual a biomassa está envolvida produz compostos químicos em proporções semelhantes ao petróleo, podendo se dizer que a eficiência de sua exploração depende da associação de novas cadeias de valores.

3.2. A batata-doce

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é uma hortaliça tuberosa, adaptada a diversas condições edafoclimáticas, cultivada tanto nos trópicos como nas regiões temperadas do planeta. Seu principal diferencial está na capacidade de suportar adversos estresses abióticos, não necessitando de cuidados intensivos, se constituindo como cultura de baixo custo de produção com destaque no cenário da agricultura mundial (WOLFE, 1992; LUO et al., 2006; LOEBENSTEIN; THOTTAPPILLY, 2009; EDSON et al., 2009).

3.2.1. Classificação taxonômica

A batata-doce é uma angiosperma dicotiledônea, pertencente à família *Convolvulaceae* (HAND; COCKERHAM, 1921; WOOLFE, 1992; HUAMAM, 1992), tribo *Ipomoeae*, gênero *Ipomoea*, sub-gênero *Quamoclit* e seção *batatas*. Esta 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 dentro do gênero *Ipomoea*, mudando seu nome para *Ipomoea batatas* (L.) Lam. o qual ainda permanece (HAND; COCKERHAM, 1921; HUAMAM, 1992).

3.2.2. Morfologia da planta

A espécie *I. batatas* é composta por vegetais perenes com morfologias diversificadas. Como ilustrado na Figura 1, a parte aérea da planta é formada por um caule herbáceo do tipo estolho, com nós e entrenós bem definidos, disposto na horizontal rente ao solo, ou na vertical com crescimento ereto e semi-ereto, 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 com cinco a trinta centímetros de comprimento. Estes, podem apresentar coloração que varia de verde a roxo e formato que pode variar de arredondado, reniforme, cordado, triangular, hastado, lobado a secto. Na planta adulta, alguns ramos podem ainda conter flores de coloração lilás ou arroxeadas presas através de um pedúnculo. Tais flores são hermafroditas, mas de fecundação cruzada, devido à sua auto-incompatibilidade, que por meio de polinizadores produz pequenos frutos secos descentes, com poucas sementes, mesmo em boas condições ambientais (NELSON; ELEVITCH, 2011).

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

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

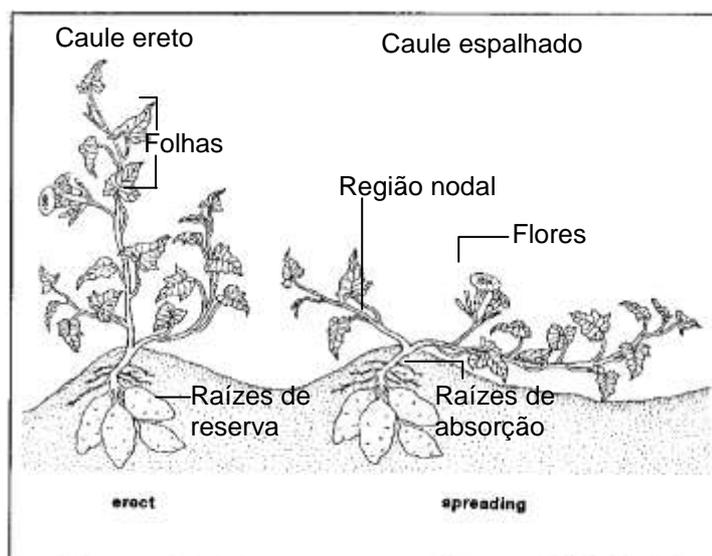


Figura 1 – Características do desenvolvimento e morfologia geral da planta de *I. batatas* (HUAMAN, 1992).

As raízes de reserva de *I. batatas* podem adquirir diversas variações morfológicas, desde o formato até a coloração da película externa e polpa. Seu formato pode ser redondo, oblongo, fusiforme ou alongado e ainda podem apresentar veias, dobras, podendo a pele ser lisa ou rugosa. Sua disposição na planta pode ocorrer na forma dispersa ou agrupada (HUAMAM, 1992). A película 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).

3.2.3. Cultivo de *I. batatas*

Apesar de ser uma planta perene a *I. batatas* é muito cultivada como cultura anual, por meio de propagação vegetativa com raízes ou estacas (HUAMAM, 1992).

Entre os fatores que influenciam no desenvolvimento das plantas de *I. batatas* estão as condições de solo. Em trabalhos publicados no começo do século XX, Price (1903) relata que variedades de batatas cultivadas em solo pobre, quando comparada com exemplares da mesma cultivados em solo fértil, apresentam diferenças em sua morfologia que levam a confundi-las com variedades diferentes e acrescenta que em solos recém desmatados crescem batatas de boa qualidade.

Atualmente sabe-se que além da fertilidade, a textura do solo também tem grande influencia sobre o desenvolvimento de *I. batatas*. Lerner (2001) coloca que o melhor solo para o plantio desta cultura é o de terras soltas, baixo conteúdo de barro, bem escoadas, e relativamente livre de pedras. Este autor afirma que terras ligeiramente ácidas com pH de 5,0 – 6,0 apresentam resultados satisfatórios no cultivo de batata-doce.

Outro fator a ser considerado na cultura da *I. batatas* é o fotoperíodo, pois segundo Nelson; Elevitch (2011), o comprimento de dia curto estimula desenvolvimento de raiz, enquanto que comprimento de dia longo estimula desenvolvimento de broto. 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 com 4 a 5 meses após o plantio. Em locais mais frescos ou em estações de comprimento de dia mais curto, as plantas de *I. batatas* só estão prontas a partir de 5 a 6 meses de plantio. No entanto, o trabalho realizado por Silveira et al. (2008) demonstra que a resposta às condições de solo e clima por *I. batatas* pode também variar de uma cultivar para outra. Como mostrado na Tabela 1, estes pesquisadores, ao desenvolverem por melhoramento genético convencional, cultivares de *I. batatas* para produção industrial de etanol obtiveram cultivares, que nas mesmas condições climáticas variam tanto em produtividade, teor de amido e etanol, quanto no tempo de maturação.

Tabela 1 – Cultivares de *I. batatas* desenvolvidas para produção de etanol nas condições do Estado do Tocantins - Universidade Federal do Tocantins - UFT (1997 – 2007).

Cultivares	Produtividade t/ha	Amido %	Etanol Litros/t	Etanol Litros/ha	Ciclo (mês)	Ciclo
Duda	65,5	24,4	161,04	10467,00	6 – 7	Tardia
Amanda	46,70	21,4	141,24	6595,00	4 – 5	Precoce
Ana Clara	45,70	23,4	154,44	7057,90	6	Médio
Beatriz	43,00	26,2	172,92	7435,56	6	Médio
Julia	40,56	24,6	162,36	6585,32	4 – 5	Precoce
Bárbara	37,70	23,2	153,12	5772,62	6 – 7	Tardia
Izabela	37,20	18,8	124,08	4615,77	4 – 5	Precoce
Marcela	36,80	22,2	146,52	5391,93	6	Médio
Lívia	36,40	25,1	165,66	6030,02	6	Médio
Carolina Vitória	32,17	30,2	199,32	6412,12	6 – 7	Tardia

Fonte: Silveira et al., 2008.

3.2.4. Formas de utilização da batata-doce

O crescente interesse por alimentos orgânicos têm promovido um aumento no consumo de batata-doce pelas mais diversas populações do mundo em decorrência da versatilidade de uso que esta apresenta. As raízes de *I. batatas* podem ser consumidas diretamente cozidas, assadas ou fritas, ou na forma de doces, pães, bolos e farinha (SILVA et al. 2006; Lana et al., 2011), além de sua utilização na produção de etanol (SILVEIRA et al., 2008; PAVLAK et al., 2011).

Em geral a preferência de consumo de *I. batatas* se restringe apenas a suas raízes, sendo a parte aérea descartada ou fornecida a animais domésticos. No entanto, em algumas partes do mundo há populações que utilizam as folhas de *I. batatas* da mesma forma que se consome outras hortaliças (WOOLFE, 1992; SONG, et al., 2011). Estudos fitoquímicos das folhas de batata-doce realizadas por diversos autores, como Ishida et al. (1999), Islam (2006), Xu et al. (2010), Song et al. (2011), Udem; Asogwa (2010) demonstram que a parte aérea de *I. batatas* possui uma variedade de combinações químicas capazes de conferir

um bom funcionamento do organismo, principalmente o sistema imunológico (MIYAZAKI et al., 2005), além de reduzir processos de oxidação que causam envelhecimento precoce, câncer e doenças cardiovasculares (ISLAM, 2009).

Entre os componentes químicos presentes nas folhas de *I. batatas* os mais comuns são as vitaminas, sais minerais e compostos fenólicos (ISLAM, 2009). Tais componentes apresentam percentuais variáveis que mudam de uma cultivar para outra e sofrem alterações significativas decorrentes de alguns fatores determinantes, tais como a idade da planta e folhas, período de colheita, sistema de cultivo, região e condições do solo (ISLAM, 2006). Entretanto as folhas de *I. batatas* têm como principais componentes as vitaminas E, B, C e K; os sais de ferro, cálcio e zinco; compostos fenólicos como antocianinas, ácidos caféicos, monocateoilquínicos (ISHIDA et al., 1999) ácidos quínicos (clorogênicos), dicaféoilquínicos e tricaféoilquínicos (ISLAM, 2006) *I. batatas* apresenta vários outros componentes muito frequentes em vegetais da terapêutica medicinal. Segundo Simões (2003), as plantas medicinais podem ser ricas em alcaloides, flavonoides, glicosídeos, saponinas. Um exemplo desta possibilidade é trabalho preliminar realizado por Silva et al. (2007), em que foram identificados flavonas, flavonoides, esteroides, triterpeno e lupeol em folhas desta planta.

3.3. Metabólitos secundários de plantas

Um aspecto característico dos vegetais é a capacidade de sintetizar e armazenar uma grande variedade de substâncias químicas, algumas diretamente relacionadas às funções vitais do organismo produtor, outras se caracterizando apenas como elementos de diferenciação e especialização, que, embora não necessariamente essenciais à vida, garantem vantagens à sobrevivência e perpetuação da espécie no ecossistema (VERPOORTE; ALFERMANN, 2000; DIXON, 2001; SANTOS, 2003; FERRO, 2006; CHEMLER; KOFFAS, 2008; WU; CHAPPELL, 2008,). Diferente da maioria dos organismos vivos, as plantas dispõem de uma natureza autotrófica e capacidade fotossintética, que torna as transformações químicas responsáveis pelo seu metabolismo dotadas de arranjos bioquímicos complexos. Assim, muitas sequências de reações químicas reguladas por enzimas específicas estabelecem rotas metabólicas determinantes

de produtos peculiares, que garantem não só a nutrição, mas também a interação da planta com o ambiente (SANTOS, 2003; LEITE, 2009).

Utilizando energia solar pelo processo de fotossíntese, as plantas são capazes de sintetizar uma matriz de compostos orgânicos a partir de precursores inorgânicos, que servem de base para os diferentes processos de biossíntese responsáveis pela formação, acúmulo e degradação de inúmeras substâncias orgânicas indispensáveis às funções vitais dos organismos (SCHWACHTJE; BALDWIN, 2008; THOMPSON, 2010). E como a diversidade química dos produtos formados, degradados ou simplesmente transformados nas diversas rotas metabólicas do reino vegetal tem origem em um número limitado de precursores bioquímicos (DIXON, 2005), os compostos sintetizados pelas plantas podem ser classificados em dois grupos principais, metabólitos primários e metabólitos secundários (WU; CHAPPELL, 2008), onde cada um apresenta estrutura e função química diferente.

Os metabólitos primários são entendidos como um grupo de compostos com distribuição universal no reino vegetal, capazes de desempenhar funções essenciais na planta, tais como fotossíntese, respiração e transporte de solutos. Desta forma, são compostos indispensáveis à sobrevivência do organismo produtor e servem para a nutrição e crescimento ou para a síntese de metabólitos secundários (SANTOS, 2003; WU; CHAPPELL, 2008).

Já os metabólitos secundários caracterizam-se como expressão da individualidade das espécies vegetais, constituindo um grupo de substâncias com distribuição restrita na natureza, sendo encontrados apenas em alguns organismos ou grupos de organismos específicos (LEITE, 2009). Sua biossíntese, que ocorre partir dos metabólitos primários, tendo como principais matérias-primas bioquímicas os lipídios, os carboidratos e os aminoácidos, em reações mediadas por enzimas denominadas rotas metabólicas (DIXON, 2001; HANSON, 2003; WU; CHAPPELL, 2008).

Durante muito tempo acreditou-se que os metabólitos secundários fossem produzidos sem uma função específica, simplesmente como produtos finais das reações, chegando a ser considerado até como anomalias ou apenas produtos de excreção sem vantagem aparente para a planta. Essa visão foi mudada radicalmente à medida que as funções dessas substâncias foram sendo

constatadas nos processos fisiológicos (VERPOORTE; ALFERMANN, 2000; SANTOS, 2003; ROCHA et al., 2006), abrindo uma nova área de investigação científica, muitas vezes chamada de bioquímica ecológica (HARBORNE, 1988), devido ao fato de muitos destes compostos terem importante significado adaptativo, com grande influência nas interações ecológicas que afetam a sobrevivência dos vegetais (CROTEAU et al., 2000).

O papel dos metabólitos secundários como mediadores das interações das plantas com os outros organismos e o ambiente tem levado a inferências de que a grande diversidade dessas substâncias é uma consequência das forças ecológicas sofridas ao longo da evolução, pois as diferentes classes desses compostos sintetizados nos vegetais lhes conferem vantagens na sobrevivência e reprodução, principalmente os defendendo de predadores, atraindo organismos favoráveis e ajustando-os às condições de estresse (HARBORNE, 1997, 1988; MELLO; SILVA-FILHO, 2002; SANTOS, 2003; ROCHA et al., 2006; WU; CHAPPELL, 2008). Portanto, constituem-se uma forma de resposta das plantas ao meio ambiente, já que são incapazes de se deslocarem e não podem responder pelas vias possíveis aos animais, tendo de lançar mão de artifícios moleculares para garantir sua sobrevivência (HARBORNE, 1988; SANDES; DI-BLASI, 2000, SANTOS, 2003).

Como se trata de uma grande diversidade molecular com propriedades químicas, bioquímicas ou organolépticas de produção restrita aos seres vivos, os metabólitos secundários são também chamados de produtos naturais. Estes são estudados no âmbito da química de produtos naturais. Embora compreenda, assim, o estudo da composição química de animais e vegetais, é no campo da fitoquímica que a exploração destes compostos tem maior destaque (MATOS, 2009). Por possuírem vários princípios biologicamente ativos que se relacionam muito com a prevenção e cura de várias patologias, muitas substâncias vegetais encontram emprego em diversas áreas aplicadas à alimentação e a saúde. Suas atividades biológicas têm motivado há séculos o desenvolvimento de pesquisas em vários campos da ciência, partindo de indícios do uso de plantas pela sabedoria popular (SANDES; DI-BLASI, 2000; MATOS, 2009).

A utilização de plantas para curar os mais diversos males é tradicionalmente conhecida e utilizada há centenas de anos pela humanidade.

Começando com o homem primitivo, que ao procurar plantas para o seu sustento foi descobrindo algumas com ação tóxica ou medicinal, formando assim, um conhecimento empírico das ações benéficas e malélicas dos vegetais. Contudo, a medicina popular não tinha em seu uso qualquer comprovação científica. Foi somente a partir do século XIX que alguns cientistas caracterizaram sua atividade sobre o metabolismo de organismos diferentes daqueles no qual é produzido (SANDES; DI-BLASI, 2000; GARCÍA; CARRIL, 2009; LEITE, 2009).

A diversidade em termos de estrutura e de propriedades químicas na qual essas substâncias ocorrem na natureza é impressionante, no entanto, deve-se ressaltar que a fotossíntese é o processo sintético primário, por meio do qual as plantas verdes utilizam a energia solar para a produção de compostos orgânicos. Assim, embora se faça a divisão em metabólitos primários e secundários, a linha divisória entre o metabolismo deles em parte não é nítida. Devendo assim, o metabolismo ser considerado como um todo, com a produção de metabólitos primários e secundários, devido à ocorrência de um inter- relacionamento entre as diferentes rotas metabólicas responsáveis pela produção de ambos (CROTEAU et al. 2000; SANTOS, 2003; CASTRO et al., 2004).

Geralmente a classificação dos compostos secundários tem como base as suas características estruturais resultantes da biossíntese, sendo convencionalmente divididos em três grupos principais, isoprenoides, alcaloides e os fenilpropanoides e compostos fenólicos afins (CROTEAU et al. 2000; MAZID et al., 2011). Como ilustrado na Figura 2 sua síntese ocorre a partir de um número reduzido de precursores bioquímicos, sendo os principais o Ácido chiquímico e o Acetato. O ácido chiquímico é tido como o mais importante, por originar os aminoácidos aromáticos, precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos (SANTOS 2003, CASTRO et al., 2004).

Vale ressaltar que as rotas biossintéticas dos metabólitos secundários não são tão gerais e talvez só sejam ativadas durante alguns estágios particulares de crescimento e desenvolvimento ou em períodos de estresse causadas por limitações nutricionais ou ataque microbiológico (SANTOS, 2003).

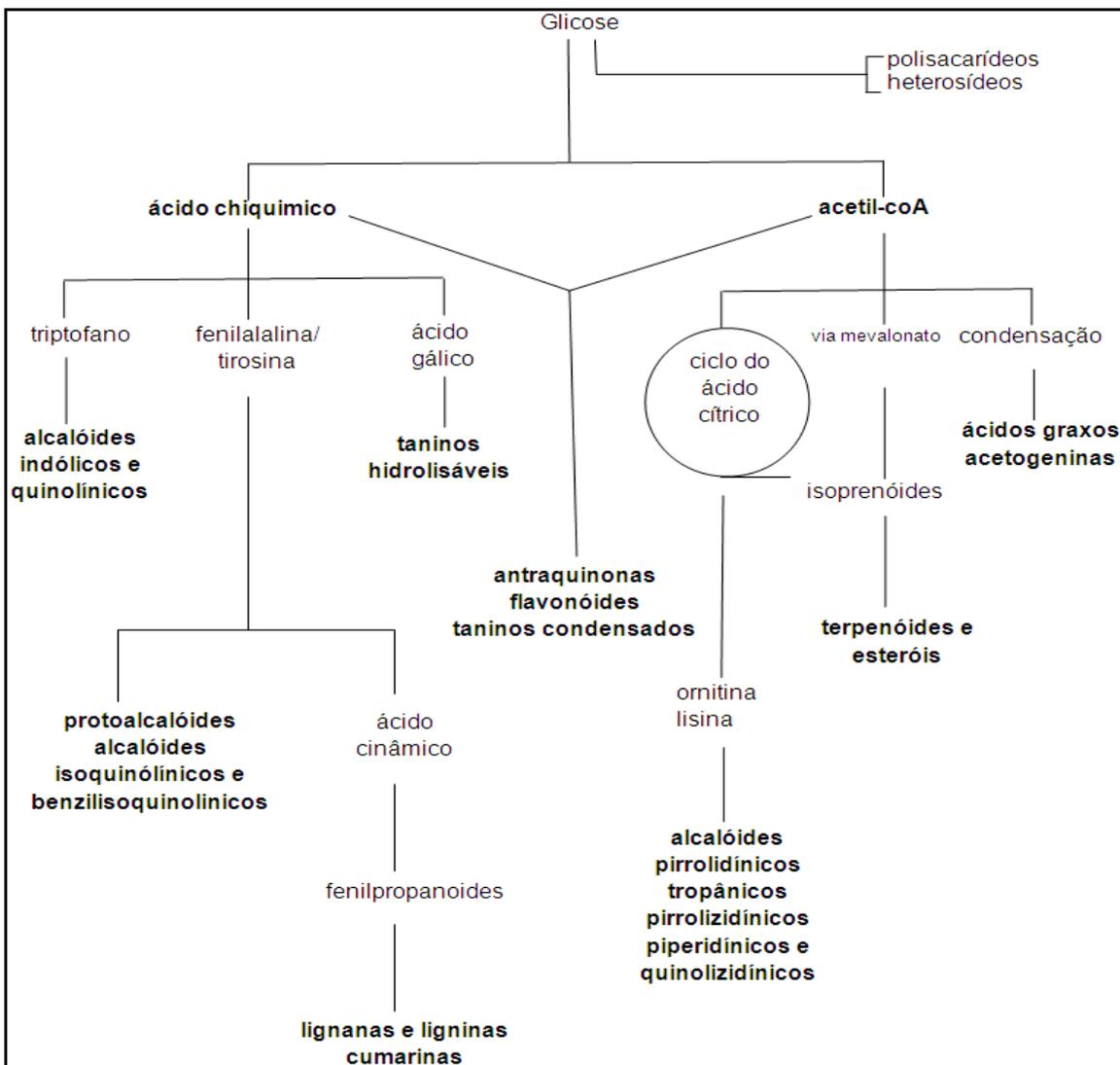


Figura 2 – Esquema simplificado do ciclo biossintético dos metabólitos secundários (SANTOS 2003).

Uma vez que as enzimas catalisadoras das vias biossintéticas são expressas de acordo com as informações genéticas de uma espécie e as respostas gênicas podem ser induzidas ou inibidas de acordo com a necessidade de adaptação, a interação do ambiente com os mecanismos fisiológicos das plantas pode influenciar no metabolismo secundário. O que implica uma grande variação na produção destes compostos intra e interespecies, razão que os torna como substâncias estruturalmente e quimicamente complexas e diversificadas, superando os metabólitos primários por ordens de magnitude (HARBORNE, 1998; MARASCHIN; VERPORTE, 1999; MELLO; SILVA-FILHO, 2002; HALL, 2006; SCHWACHTJE; BALDWIN, 2008; LEITE, 2009, WU; CHAPPELL, 2008).

Tal diversidade química imperante nos compostos secundários é também relacionada ao fato de serem substâncias muito instáveis sujeitos a diversas modificações químicas como metilações, hidroxilações, glicosilações, acilações, intercalações com íons metálicos, entre outras reações, que levam a um espectro largo de substâncias funcionalmente diferentes (DIXON, 2005).

3.3.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são um grupo de substâncias com distribuição universal no reino vegetal. Estes compostos são comumente caracterizados com base na constituição química, sendo assim, definidos como substâncias estruturalmente diversas que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (Figura 3) (WATERMAN; MOLE, 1994; ROBARDS et al., 1999, CARVALHO et al., 2003; CARTEA et al., 2011;). Como esta definição não é inteiramente satisfatória para tais compostos, uma vez que, inevitavelmente, inclui outras substâncias, tais como o hormônio sexual feminino estrona, que é principalmente de origem terpenoide, os fenóis de plantas são mais adequadamente caracterizados com base na origem metabólica, considerando-os como aquelas substâncias derivadas a partir da rota metabólica do chiquimato e fenilpropanoide (ROBARDS et al., 1999; BENNET; WALLSGROVE, 1994).

Alguns compostos fenólicos são também caracterizados como polifenóis, um termo não muito esclarecido, pelo fato de muitas substâncias assim classificadas não serem derivadas ou constituídas de polióis (ROBARDS et al., 1999). Assim, as substâncias fenólicas de plantas consideradas como verdadeiros polifenóis são os taninos, devido ao seu alto nível de polimerização e, os flavonoides seus constituintes monoméricos (BRAVO, 1998, QUIDEAU et al., 2011).

Os compostos fenólicos apresentam grande diversidade estrutural, que varia desde moléculas simples, tais como os ácidos fenólicos a compostos altamente polimerizados, como os taninos (Figura 3). Podem estar presentes nos vegetais na forma livre (agliconas) ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (BRAVO, 1998; ANGELO; JORGE, 2007;).

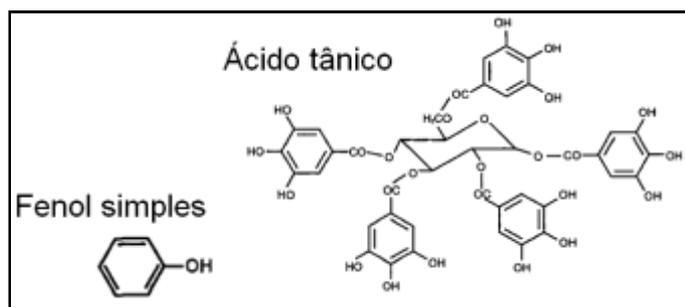


Figura 3 – Representação de uma estrutura básica simples e outra polimerizada de compostos fenólicos (adaptado de Bravo (1998)).

Como representado na Tabela 2, a diversidade química dos compostos fenólicos segue padrões estruturais, que possibilita sua classificação de acordo com o esqueleto básico de carbono (CARVALHO et al., 2003).

Os derivados fenólicos simples e os flavonoides são os mais difundidos entre as diferentes espécies de plantas, seguido pelos ácidos fenólicos que são compostos de estrutura C_6C_1 muito difundidos nas plantas superiores. Por outro, lado as acetofenonas e os ácidos fenilacéticos (C_6C_2) são os de distribuição menos frequente segundo a literatura (BRAVO, 1998).

Tabela 2 – Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico (CARVALHO et al., 2003).

Esqueleto básico	Classe de compostos fenólicos
C_6-C_6-	fenóis simples, benzoquinonas
C_1-C_6-	ácidos fenólicos
C_2-C_6-	acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C_3	fenilpropanoides: ácidos cinâmicos e compostos análogos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas
$C_6-C_4-C_6-C_1-$	naftoquinonas
$C_6-C_6-C_2-C_6$	xantonas
$C_6-C_3-C_6 (C_6-$	estilbenos, antoquinonas
$C_3)_2$	flavonoides, isoflavonoides
$(C_6-C_3-C_6)_2$	lignanas
$(C_6-C_3)_n$	diflavonoides
$(C_6-C_1)_n$	ligninas
$(C_6-C_3-C_6)_n$	taninos hidrolisáveis
	taninos condensados

C_6 = anel benzênico

Os compostos fenólicos se configuram como mecanismos indispensáveis às interações ecológicas entre plantas, animais e o ambiente. (STRUBE et al., 1993; BRAVO, 1998; SIMÕES, 2003; HUBER et al., 2008;), a medida que influenciam tanto a fisiologia, quanto a morfologia da planta, estando envolvidos no crescimento, reprodução, proteção à radiação ultravioleta, resistência a predadores e patógenos (BRAVO, 1998, SANTOS, 2003; HURBER et al., 2008).

Esses compostos apresentam várias atividades biológicas potencialmente significativas para saúde humana. Devido a sua capacidade de agir contra danos normais causados pelos efeitos do processo fisiológico de oxidação no tecido animal, acredita-se que sua presença nos alimentos têm ajudado na prevenção do desenvolvimento de doenças crônicas como o câncer, doenças cardíacas, derrame, Mal de Alzheimer, artrite reumatoide, catarata, entre outros (ATOUI et al., 2005; SOUSA et al., 2007; CARTEA et al., 2011). Como se trata de um grupo de compostos com estrutura química muito variável, as atividades biológicas variam dentro e entre as diferentes classes de substâncias fenólicas. Dentre as diversas classes, os flavonoides e os taninos têm recebido muita atenção, sobretudo, por desempenharem papel importante na saúde humana (HASLAN, 1996).

3.3.1.2. Flavonoides

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os metabólitos secundários de plantas, principalmente dentre as angiospermas, onde apresenta enorme diversidade estrutural e desempenham diferentes papéis em sua ecologia (ZUANAZZI; MONTANHA, 2003; DORNAS, 2007; HUBER et al., 2008).

Estes compostos exibem diversas formas estruturais. Entretanto, a maioria dos representantes dessa classe possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental (o núcleo flavan $C_6-C_3-C_6$), constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de 3 carbonos entre elas (PIETTA, 2000; ZUANAZZI; MONTANHA, 2003). A Figura 4 mostra a sua estrutura genérica e o sistema de numeração utilizada para distinguir as posições de carbono em toda a molécula. Suas

atividades bioquímicas dependem da estrutura química e a orientação relativa das várias porções da molécula (COOK; SAMMAN, 1996).

As várias classes de flavonoides diferem no grau de oxidação e padrão de substituição do anel de C, enquanto que os compostos individuais dentro de uma classe diferem no padrão de substituição dos anéis A e B (PIETTA, 2000).

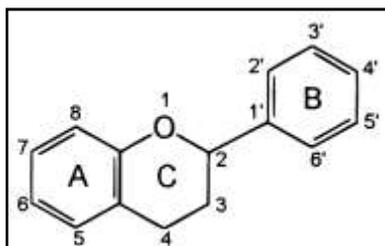


Figura 4 – Estrutura genérica dos flavonoides. Os três anéis fenólicos são referidos como A, B e C. Os átomos de carbono recebem números ordinários nos núcleos A e C e os mesmos números seguidos de linha (') para o núcleo B (COOK et al., 1996; PIETTA, 2000; ZUANAZZI; MONTANHA, 2003).

Segundo Hodek et al. (2002), os flavonoides podem ser classificados em 8 grupos, tendo como base o esqueleto de carbono: flavanas, flavanonas, isoflavanonas, flavonas, isoflavonas, antocianidinas, chalconas e flavonolignanas. A estrutura destes compostos é derivado de um hidrocarboneto heterocíclico, cromano, por substituição do seu anel C nas posições 2 ou 3 com um grupo fenil (anel B) que formam as flavans, e um grupo oxo na posição 4 resultando em flavanonas e isoflavanonas (Figura 5).

Frequentemente, uma ligação dupla (entre Carbono 2 e o Carbono 3 no anel C) está presente, proporcionando compostos com propriedades semelhantes à quinona. Dependendo da substituição no anel C, estes flavonoides são atribuídos como flavonas (grupo 2-fenil) ou de isoflavonas (grupo 3-fenil). A presença de uma ligação dupla adicional no anel C, em vez de um grupo oxo, faz destes compostos substâncias coloridas bem conhecidas como antocianidinas. Além disso, chalconas, compostos bicíclicos que possuem um anel C aberto são também classificados como flavonoides.

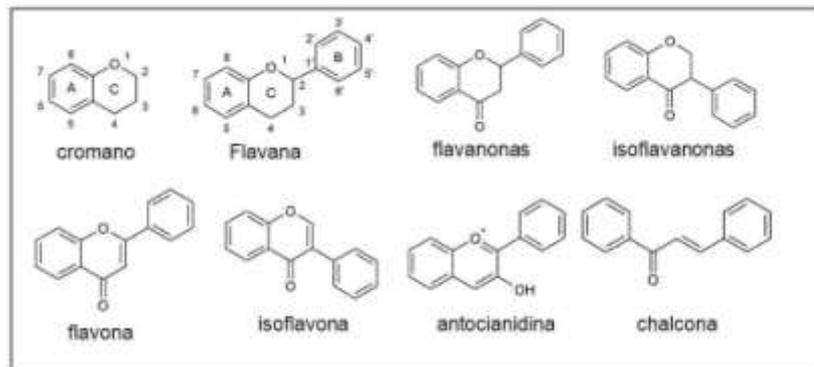


Figura 5 – Estrutura do esqueleto básico dos flavonoides (adaptado de Hodek et al. (2002)).

Atualmente mais de 8000 estruturas de flavonoides já foram identificados. Este grande número resulta de várias combinações entre vários grupos hidroxila e metoxila substituídos no esqueleto básico. Nas plantas estes compostos geralmente ocorrem como glicosídeos, mas as suas estruturas podem ser mais complexas, como ésteres catequinas ou chalconas prenilados (HODEK et al., 2002).

Diversas funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas. Dentre elas pode se citar a proteção contra a incidência de raios ultravioleta e visível; proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; atração de animais com finalidade de polinização; antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos e; inibidores de enzimas (ZUANAZZI; MONTANHA, 2003).

Além de seus papéis fisiológicos desempenhados nas plantas, os flavonoides, são também componentes importantes na dieta humana. Vários estudos epidemiológicos fornecem suporte para um efeito protetor de algumas classes de flavonoides contra várias patologias podendo apresentar ação antitumoral, antiinflamatória, antioxidante, antiviral, entre outras (LI et al., 2009). Esta possibilidade tem sido evidenciada por vários estudos *in vitro*, *ex vivo* e com animais. Por possuir propriedades redutoras a maioria dos estudos com estes compostos investigam a sua atividade antioxidante. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (PIETTA, 2000; SOUZA et al., 2007).

3.3.1.3. Taninos

Os taninos constituem uma classe complexa de compostos fenólicos polihidroxilados, de alto peso molecular, amplamente difundido no reino vegetal. Distinguem-se da maioria dos outros compostos fenólicos, por serem substâncias solúveis em solvente polar e pela capacidade de precipitar proteínas, pectinas, alcaloides, gelatina e metais pesados em solução aquosa. O termo tanino deriva das propriedades tanantes destes compostos, descobertos em vários extratos vegetais historicamente utilizados na obtenção de couros maleáveis e de grande durabilidade (SCALBER, 1991; SILANIKOVE et al., 2001; QUEIROZ et al., 2002; SANTOS; MELLO, 2003; MOUCO et al., 2003; QUIDEAU et al., 2011).

Por serem encontrados na natureza geralmente sob a forma de ésteres ou de heterosídeos, os taninos são muito reativos quimicamente, capazes de formar pontes de hidrogênio, intra e intermoleculares. Um mol de taninos pode ligar-se a doze moles de proteínas; fundamentando-se nessa propriedade, pode-se identificar taninos por teste de precipitação de protídeos. Estes compostos são facilmente oxidáveis, tanto através de enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais, como cloreto férrico, o que ocasiona o escurecimento de suas soluções (MONTEIRO et al., 2005).

Nas plantas terrestres, os taninos constituem um importante componente gustativo conferindo sabor adstringente, protegendo contra herbívoros e doenças patogênicas. Podem ser encontrados em raízes, flores, frutos, folhas, cascas e madeira (QUEIROZ et al., 2002) e são quimicamente divididos em dois grupos básicos, os derivados de flavonoides denominados proantocianidinas, comumente chamados de taninos condensados e os derivados do ácido gálico denominados taninos hidrolisáveis (HAGERMAN et al., 1998, RANGARI, 2007).

Taninos condensados são oligômeros e polímeros constituídos de uma mistura de flavonoides polimerizados, de pesos moleculares variados (Figura 6), sua denominação como proantocianidina se dá devido ao fato de os taninos condensados produzirem pigmentos da classe antocianidinas, tais como cianidina e delphinidina, após a degradação com ácido mineral diluído a quente (SANTOS; MELLO, 2003; CARNEIRO et al., 2009).

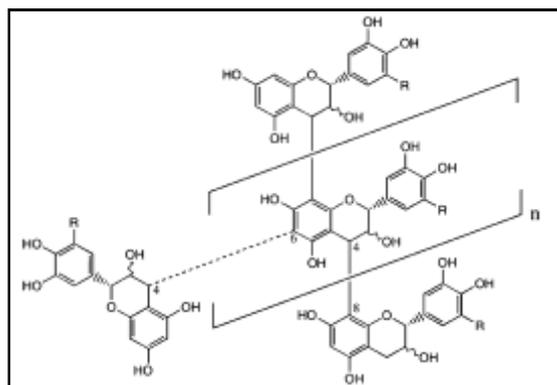


Figura 6 – Modelo da estrutura básica de taninos condensados, onde R = H ou OH, assim, cada estrutura representa uma procianidina ou prodelfinidina. A ligação 4 → 6 (linha pontilhada) é uma ligação interflavan alternativa. A unidade da parte inferior representa a unidade terminal de uma determinada estrutura de várias unidades (SCHOFIELD et al., 2001).

Taninos hidrolisáveis são caracterizados por um poliol central, geralmente β -D-glucose, cujas funções hidroxilas são esterificadas com o ácido gálico. Estes podem ser divididos em galotaninos e elagitaninos, tendo o composto β -1,2,3,4,6-pentagaloil-D-glucose (Figura 7) como o padrão máximo de substituição alcançado e o precursor imediato de ambos (SANTOS; MELLO, 2003).

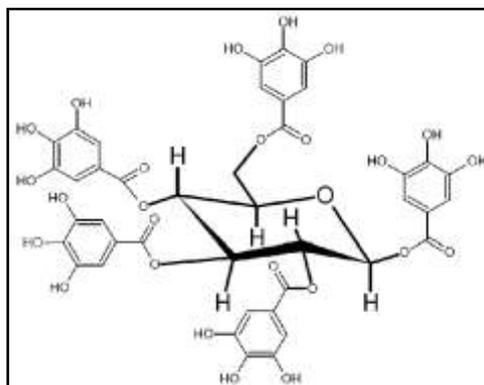


Figura 7 – Exemplo de estrutura química de um tanino hidrolizável (β -1,2,3,4,6-pentagaloil-Dglicose). Fonte: Mello; Santos (2007).

Ambos os tipos de taninos, condensados e hidrolisáveis, são amplamente distribuídos no reino vegetal e, em algumas espécies, os dois tipos estão presentes, embora um deles deva ser predominante. Sua principal função é a de inibir herbívoros, pois em altas concentrações, frutos, folhas, sementes ou demais tecidos jovens tornam-se impalatáveis aos fitófagos e, ainda, combinado a

algumas proteínas, estes tecidos resistem fortemente à putrefação (MONTEIRO et al., 2005).

Além dos seus efeitos adstringentes, os taninos podem influenciar também no metabolismo dos animais de várias maneiras, sendo capazes de interferir na absorção de minerais e no crescimento. Consequentemente tem sido extensivamente estudado seu efeito na alimentação animal (BENNICK, 2002).

As múltiplas propriedades biológicas dos taninos os caracterizam tanto como substâncias tóxicas como medicinal. Por esta razão, plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas moléstias, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias feridas, queimaduras, problemas estomacais, problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatório em geral (SANTOS; MELLO, 2003; MONTEIRO et al., 2005). Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos têm demonstrado ação bactericida e fungicida, antiviral, moluscicida, inibição de enzimas como glicosiltransferases de *streptococcus*, inibição da peroxidação de lipídeos, sequestrador de radicais livres e ação antitumoral (SANTOS; MELLO, 2003). Além disso, os taninos são hemostáticos e, como precipitam alcaloides, pode servir de antídotos em casos de intoxicações (MONTEIRO et al., 2005).

Acredita-se que as propriedades biológicas dos taninos são devidas a sua capacidade complexante que os torna ativos com a parede celular de bactérias e com enzimas extracelulares secretadas, o que inibi o transporte de nutrientes para dentro da célula e retarda o crescimento do organismo (MCSWEENEY et al., 2001).

A decomposição de materiais vegetais ricos em taninos podem também ter um efeito ecológico sobre taxas de controle na liberação de nitrogênio e do acúmulo de matéria orgânica no solo. Que por sua vez, afetam o crescimento das plantas e, indiretamente, animais e população microbiana (BENNICK, 2002).

3.3.1.4. Compostos fenólicos como antioxidantes

Os organismos vivos são permanentemente sujeitos a ação de moléculas altamente reativas, como os radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (EROs), compostos instáveis de oxigênio com um elétron não emparelhado em

um de seus orbitais atômicos, principalmente os radicais livres superóxidos ($O_2^{\bullet-}$), oxigênio singlete ($^1O_2^{\bullet-}$), radicais hidroxila ($^{\bullet}HO$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que se formam normalmente durante o metabolismo aeróbico (MITTLER, 2002; SHARMA et al., 2012).

Em quantidades moderadas os EROs são necessários para algumas funções celulares, tais como indução de mediadores reguladoras no processamento de sinalização e na defesa contra vírus e a bactérias. No entanto, o seu excesso pode provocar danos irreparáveis às células (YEUM et al., 2009).

Nos animais e nas plantas a homeostase celular redox é mantida por um sistema de defesa constituído de reguladores enzimáticos e não enzimáticos, inibidores de enzimas, cofactores de enzimas e quelantes de metais de transição. Quando o nível de EROs excede os mecanismos de defesa, diz-se que a célula está em estado de "estresse oxidativo", uma situação que pode ser induzido por diferentes fatores, principalmente tensões ambientais como salinidade, seca, refrigeração, toxicidade, radiação ultra violeta, bem como agentes patogênicos. Uma grande produção de EROs durante estresses ambientais podem representar uma ameaça para as células por causar peroxidação de lípidos, oxidação de proteínas, danos aos ácidos nucléicos, a inibição de enzimas e ativação da morte celular programada (SHARMA et al., 2012).

As moléculas biológicas capazes de prevenir a formação descontrolada de EROs, ou inibirem as suas reações com as estruturas biológicas são denominadas antioxidantes (CHAUDIEÁRE; FERRARI-ILIOU, 1999). Os vegetais possuem sistemas específicos de produção de uma grande variedade dessas substâncias em diferentes compartimentos, as quais atuam de forma coordenada para mitigar o dano celular em condições oxidativas (GRACE, 2000; SHARMA et al., 2012),).

Um crescente número de evidências permite inferir que as plantas respondem a fatores de estresse biótico e abiótico, aumentando a sua capacidade antioxidante, principalmente por meio de seu arsenal molecular proveniente do metabolismo secundário, encontrado em abundância em suas diferentes estruturas (GRACE, 2000). E dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de plantas, os compostos fenólicos constituem a classe mais

abundante, com atividade reconhecida na peroxidação lipídica e lipooxigenase *in vitro* (HASLAN, 1996; NDHLALA et al., 2010).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos decorre principalmente de sua capacidade de atuar como agentes redutores, doadores de hidrogênio e supressores de oxigênio singlete (ATOUI, 2005; HASLAN, 1996). Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, tendo como vantagem o fato de seus intermediários serem relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático que os constitui (SOUSA et al., 2007).

Recentemente, um conjunto de evidências tem demonstrado que os radicais livres são os principais responsáveis pelo envelhecimento precoce e às doenças degenerativas, como o câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imunológico, e disfunção cerebral (ATOUI, 2005). Com isso, muitas pesquisas são desenvolvidas, na tentativa de aproveitar a capacidade antioxidante de fontes naturais, como os compostos fenólicos de plantas. Isto tem estimulado o desenvolvimento de grande número de métodos para determinar a tal papel biológico *in vitro*. Devido à complexidade da composição dos compostos vegetais, recomenda-se, que a mensuração da capacidade antioxidante de extratos de plantas seja realizada por diferentes métodos (MELLADO et al., 2012), entre os quais, o método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e método de redução do ferro FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) são os mais utilizados. Principalmente por se constituírem métodos simples, rápidos, precisos, reprodutíveis e aplicáveis a maioria dos estudos com extratos e substâncias isoladas (BENZIE; STRAIN, 1996; RUFINO et al., 2006 e 2007).

Em estudo *in vitro* realizado por Sun et al. (2011) com folhas de caqui foi demonstrado que os compostos fenólicos são capazes de limpar ânions superóxido, radicais hidroxila e estabilização de metais de transição.

I. batatas se mostra como uma fonte potencial de antioxidantes naturais, apresentando substâncias fenólicas das mais diversas naturezas, principalmente flavonoides e taninos. Em trabalho realizado com folhas desta espécie,

Ghasemzadeh et al. (2012) constatou que nesta planta a atividade antioxidante correlaciona-se com seu conteúdo fenólico.

3.4. Estudos químicos de plantas

O grande incremento do uso de plantas para fins medicinais nos últimos anos têm provocado um renovado interesse pelo conhecimento da composição química dos vegetais. Os avanços nesta área se deve a exploração bem sucedida de técnicas conhecidas, e o contínuo desenvolvimento de outras para resolver problemas à medida que surgem (HARBORNE, 1988; MATOS, 2009). Tais técnicas constituem o estudo químico de plantas (ou estudo fitoquímico), ou seja, atividades desenvolvidas visando o conhecimento dos constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliação de sua presença (FALKENBERG et al., 2003).

O principal diferencial do estudo fitoquímico, concentra-se na fundamentação científica que permite aos pesquisadores lançarem mão de várias técnicas (MATOS, 2009) e produzem informações que cobrem aspectos importantes no desenvolvimento tecnológico, como a estrutura dos constituintes químicos, atividade biológica, extração e purificação, dados espectroscópicos e o entendimento dos processos de sínteses e biossínteses de compostos vegetais (MARCANO; HASEGAWA, 2002).

Em geral o estudo químico de plantas segue etapas que exigem a aplicação de técnicas envolvidas em um conhecimento multidisciplinar, principalmente de biologia, química e bioquímica. As principais etapas são: a coleta, a preparação do material vegetal, a extração, a prospecção fitoquímica preliminar e a caracterização dos extratos.

3.4.1. A coleta

Esta é a etapa em que é feita uma cuidadosa seleção do material vegetal. Nesta seleção, se escolhe não apenas a planta alvo, mas também partes específicas, evitando incluir aquelas afetadas por doenças, parasitas e também materiais estranhos. Registra-se o local, a hora e a data da coleta, já que o meio ambiente, a hora do dia e a época do ano exercem grande influência sobre a

produção e o acúmulo dos metabólitos vegetais (FALKENBERG et al., 2003). Segundo Gobbo-Neto; Lopes (2007) a composição de metabólitos secundários de uma planta pode também variar apreciavelmente em decorrência de outros fatores como idade da planta, sazonalidade, índice pluviométrico, temperatura, altitude, entre outros.

3.4.2. A preparação do material vegetal

A preparação do material pode ocorrer de diferentes formas, que dependem dos objetivos de estudo e quantidade de matéria prima disponível, pois muitas vezes, para a detecção de alguns componentes específicos, o material vegetal deve ser fresco. Seu emprego traz a vantagem de evitar a presença de substâncias oriundas do metabolismo de fenecimento vegetal. Por outro lado, o material deve ser processado imediatamente ou conservado, até a análise, a baixas temperaturas (FALKENBERG et al., 2003).

Segundo Kim; Verpoorte (2010), a maneira mais adequada de manter a estabilidade química dos compostos é secando o material vegetal, principalmente porque a água fornece o meio para reações mediadas por enzimas que podem ocorrer durante a preparação da amostra, o que resulta na decomposição dos metabólitos. Além disso, a água na amostra afeta a quantificação de compostos de interesse.

Tanto no material vegetal fresco quanto no seco o estudo fitoquímico segue mediante a redução mecânica da amostra a fragmentos de pequenas dimensões, o que permite um aumento de sua superfície de contato melhorando o processo extrativo (FALKENBERG et al., 2003).

3.4.3. A extração

Existem várias metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos. De um modo geral, os principais aspectos considerados em tais metodologias são as características do solvente, proporção de solvente e de amostra, a duração da

extração, a temperatura e aparelhagem utilizada (MARCANO; HASEGAWA, 2002; KIM; VERPOORTE, 2010,).

Como a composição química das plantas é extremamente complexa, muito frequentemente, ocorre a extração concomitante de vários tipos de substâncias, desejadas ou não. Por isso, deve-se primeiramente definir, com maior precisão possível, o que se deseja obter antes de definir o método e o solvente que serão empregados (FALKENBERG et al., 2003).

A escolha do solvente deve ser feita baseado nas características químicas do composto alvo, levando-se em conta que solventes pouco polares, extraem da planta, mais facilmente, misturas de compostos de baixa polaridade e compostos polares, porem pouco hidrofílicos. Compostos mais polares e hidrofílicos são também com mais facilidade extraídos com etanol ou metanol. Compostos que se comportam como ácidos ou bases lipossolúveis são extraídas, de preferência, utilizando-se suas propriedades de formarem sais hidrossolúveis, com bases inorgânicas no caso dos ácidos e com ácidos inorgânicos no caso das bases inorgânicas (MATOS, 2009).

Os métodos de extração mais empregados são a maceração, percolação, extração em Soxhlet, destilação por arraste de vapor, extração com fluidos supercríticos e extração em fase sólida (MARCANO; HASEGAWA, 2002). A extração com Soxhlet se destaca ante as demais por apresentar altos rendimentos, permitir a utilização sequencial de diferentes solventes no processo e a possibilidade de recuperação do solvente após o processo (Matos, 2009), que é realizado em vários ciclos de operação, sendo que em cada ciclo, o material vegetal entra em contato com o solvente renovado; assim o processamento possibilita uma extração altamente eficiente, empregando uma quantidade reduzida de solvente, em comparação com as quantidades usadas em outros processos extrativos (FALKENBERG et al., 2003).

3.4.4. A prospecção fitoquímica preliminar

A prospecção é a etapa que permiti ao pesquisador o conhecimento preliminar do comportamento químico dos extratos com o qual se deverá trabalhar. Alem de facilitar a escolha do material a ser estudado, permite ao

pesquisador a possibilidade de adaptar as técnicas de fracionamento de extratos e isolamento e caracterização de substâncias puras, de acordo com a natureza dos constituintes previamente detectados, facilitando assim o subsequente trabalho de isolamento e purificação dos constituintes mais interessantes (MATOS, 2009).

Classicamente, a caracterização dos principais grupos de substâncias vegetais de interesse tem sido conseguida pela realização de reações químicas que resultem no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado característico. Para algumas reações, o extrato pode ser empregado diretamente, enquanto que em outras, o solvente deve ser previamente eliminado. Usualmente estas reações são realizadas em tubos de ensaio ou placa de toque, podendo também ser utilizada a cromatografia com reagentes específicos (FALKENBERG et al., 2003).

3.4.5. Caracterização de extratos vegetais

Na obtenção de compostos ativos isolados, diversos processos de separação e purificação podem ser empregados aos extratos de plantas. Atualmente as técnicas mais utilizadas são as cromatográficas, espectrofotométricas e as espectrométricas (MARCANO; HASEGAWA, 2002; FALKENBERG et al., 2003; BARBOSA, 2004; MATOS, 2009). O emprego destas técnicas permite que os extratos vegetais sejam tanto qualificados quanto quantificados de forma eficiente.

Ensaio espectrofotométrico realizado para quantificação de fenóis e flavonoides totais em extratos vegetais têm sido descrito classicamente na literatura. Porém, vários trabalhos têm demonstrado a aplicabilidade da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) no doseamento de compostos fenólicos, inclusive flavonoides, em extratos vegetais (RODRIGUES et al., 2004, CHEW et al., 2009). Por esta técnica, os compostos são detectados de forma individualizada, o que facilita sua identificação e quantificação (CHEW et al., 2009). A resolução, exatidão e precisão, bem como boa sensibilidade e reprodutibilidade, têm tornado a técnica CLAE a maneira mais adequada para a análise de matrizes complexas como as formas extrativas vegetais (RODRIGUES et al., 2004).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local do experimento

O presente trabalho foi realizado nas dependências da Universidade Federal do Tocantins, *campus* de Palmas (UFT/Palmas), com execução de experimentos e aquisição de material nos laboratórios de cultura de células, Farmacologia e de Bioquímica do departamento de Medicina; laboratório de Instrumentação Científica do departamento de Engenharia de Alimentos e; laboratório de Sistemas de Produção de Energia a Partir de Fontes Renováveis (LASPER/UFT) do departamento de Engenharia Ambiental.

4.3. Origem do material vegetal

O material vegetal em estudo foi cultivares de batata-doce *I. batatas* adaptadas às condições climáticas do Estado do Tocantins, com características específicas para produção industrial de etanol, desenvolvidas por melhoramento genético convencional. Constituem o produto de pesquisas realizadas pela equipe de pesquisadores do LASPER/UFT, que as mantém em um banco de germoplasma na UFT/Palmas (SILVEIRA et al., 2008).

Visando uma amostragem satisfatória, estudaram-se todas as variedades de batata-doce disponíveis no LASPER/UFT até a data do experimento, um total de dez cultivares, todas registradas desde 15 de abril de 2008 no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Seus respectivos nomes e números de registros são: Marcela, 22592; Bárbara, 22595; Duda, 22598; Amanda, 22593; Carolina Vitória, 22597; Ana Clara, 22594; Beatriz, 22596; Julia, 22599; Lívia, 22591; Izabela, 22600.

4.4. Coletas e Tratamentos iniciais do material vegetal

As coletas foram realizadas entre os meses de Junho a outubro de 2011. Tiveram-se como partes vegetais estudadas as folhas de *I. batatas*, que após

serem coletadas de plantas adultas, foram conduzidas ao laboratório e submetidas à triagem e limpeza macroscópica. O limbo foi separado do pecíolo, ambos submetidos à secagem em estufa com circulação de ar a 50° C (Figura 8). Realizaram-se pesagens periódicas em balança semianalítica até estabilização do peso, que caracterizou a secagem completa. Após a estabilização, as folhas foram colocadas inteiras em frascos plásticos e armazenadas a temperatura ambiente e protegidas da luz, conforme recomendações de cuidados práticos do manuseio de plantas medicinais (SIMÕES, 2003). Momento antes das análises, o material vegetal seco foi reduzido a pó em liquidificador doméstico.



Figura 8 – Secagem das folhas de *I. batatas* em estufa dotada de circulação de ar. Na parte indicada pela seta encontram-se as folhas e os pecíolos sendo secos (fonte: arquivo pessoal).

4.5. Prospecção fitoquímica preliminar

Para determinação do perfil fitoquímico, escolheu-se aleatoriamente três variedades (Amanda, Beatriz e Marcela), as quais foram submetidas a métodos clássicos de triagem fitoquímica para detecção das principais classes de metabólitos secundários. Para isto foram realizados testes fitoquímicos com o pó da droga, extratos aquosos, etanólicos e clorofórmicos.

Para a detecção de antraquinonas seguiu-se o método descrito por Mouco et al. (2003). Para isto, pesaram-se 0,5 g da droga que foi colocada em um vidro de relógio e adicionaram-se algumas gotas de hidróxido de sódio 0,5 % (p/v). Esperou-se para observar o desenvolvimento de coloração amarela que indicasse

a presença de antraquinona na forma reduzida ou de uma coloração avermelhada que indicasse a presença de antraquinona na forma oxidada.

A detecção de alcaloides foi realizada de acordo com Matos (2009). Primeiramente juntou-se 10,0 gramas da droga a 100,0 mL de uma solução de ácido acético 5 % (v/v), esta mistura foi fervida por 10,0 minutos e filtrada em papel de filtro (poro de 14 μ m) sob vácuo; o filtrado foi alcalinizado com hidróxido de amônio 10 % (p/v) e adicionado a 50,0 mL de clorofórmio em um funil de separação, o qual foi agitado energicamente e deixado em repouso até a formação de duas fases. Coletou-se a fase clorofórmica em recipientes de vidro, os quais foram colocados em banho-maria para evaporação até que ficasse apenas o resíduo. Este foi dissolvido em ácido clorídrico 1 % (v/v) e colocado sobre lâminas histológicas, onde foram adicionadas algumas gotas de reagente Mayer (obtido pela mistura de 1,35g de cloreto de mercúrio com 5 g iodeto de potássio em 100 mL e água) observando a formação de precipitado.

A qualificação de fenóis e taninos e flavonoides foi realizada de acordo com as descrições de Mouco et al. (2003). Para tanto, realizou-se um decócto de 2,0 gramas da droga pulverizada com 40,0 mL de água deionizada e filtrada (água Milli-Q, obtida em filtro deionizador da marca Millipore, modelo Milli-Q[®]). Após 2,0 minutos de fervura a mistura foi filtrada em papel filtro (poro de 14 μ m) sob vácuo. O filtrado foi diluído em água Milli-Q na proporção de 1:5. Esta solução foi transferida para tubos de ensaio de 5 mL, colocando um volume de 3,0 mL em cada. Em um tubo adicionaram-se algumas gotas de cloreto férrico 2 % (p/v). Observou-se a formação de precipitado ou desenvolvimento de colorações, que indicassem a presença de compostos fenólicos, que foi comparado com um branco constituído apenas da solução extrativa. Em outro tubo adicionaram-se algumas gotas de acetato de neutro chumbo a 10 % (p/v). Observou-se a formação de precipitado castanho avermelhado volumoso denso que indicasse a presença de taninos. Num terceiro tubo a solução extrativa foi misturada com ácido acético (2,0 mL a 10 %, v/v), solução de acetato de chumbo (3,0 mL a 10, p/v), observando a formação de precipitado castanho que indicasse a presença de taninos gálios. Para a detecção de flavonoides, 2,0 g da droga pulverizada foi fervida com 20 mL de etanol 75 % (v/v) por 5,0 minutos, e filtrada em papel filtro sob vácuo. O filtrado foi gotejado em um papel de filtro de modo a formar duas

manchas. Em uma delas colocou-se algumas gotas de cloreto de alumínio 5 % (p/v). Após a secagem, verificou-se o comportamento das duas áreas frente à luz ultravioleta, sendo que o aparecimento de fluorescência na área contendo o reagente pode ser considerado um indício de flavonoides.

A detecção da presença de compostos pertencentes a diferentes classes de flavonoides foi realizada segundo a metodologia descrita por Barbosa (2001) e Matos (2009). Inicialmente dissolveram-se alguns miligramas do extrato seco em 20 mL de água milli-Q e transferiram-se para três tubos de ensaio de 5 mL, ficando 3 mL da solução para cada. Acidulou-se um dos tubos com ácido clorídrico 1 % (v/v) a pH 1-3 e alcalinizou-se os dois restantes hidróxido de amônio 5 % (p/v) a pH 8,5 e 11 e verificou-se a mudança de coloração das soluções frente à mudança de pH e temperatura (antocianinas e antocianidinas: vermelho em pH 3, lilás em pH 8,5 e azul púrpura em pH 11; Flavononas, flavonois e exantonas: amarela em pH 11; Chalconas e auronas: vermelho em pH 3 e vermelho púrpura em pH 11; Flavonois: vermelho laranja em pH 11; leucoantocianidinas: vermelho em pH 1 aquecido; catequinas: pardo amarelado em pH 1 aquecido; flavanonas: vermelho laranja em pH 11 aquecido).

4.6. Obtenção dos extratos

Para obtenção dos extratos, as folhas secas e estabilizadas das dez cultivares estudadas foram trituradas a seco em liquidificador doméstico. O material triturado foi submetido a refluxo em aparelho de Soxhlet utilizando uma solução de etanol/água (70:30, v/v) como solvente. Por esta técnica, o solvente permeia a amostra mediante um sistema de vaporização e condensação em vários ciclos, que o renovam na extração e o separam dos compostos solúveis já extraídos, evitando a saturação do mesmo em relação à amostra (JENSEN, 2007).

A aparelhagem Soxhlet utilizado neste experimento foi montada como mostrado na Figura 9. Cerca de 20 g de amostra foram pesadas em balança semi-analítica e acondicionadas em um cartucho de papel-filtro, o qual foi inserido num extrator com capacidade de 250 mL acoplado na extremidade inferior a um balão de fundo chato sobre uma chapa de aquecimento e na extremidade

superior a um condensador, arrefecido por água proveniente de um banho-maria termostaticado. Ao balão foram adicionados 150 mL do solvente, o qual foi aquecido à sua temperatura de ebulição por período contínuo de 12 h (MATOS, 2009).

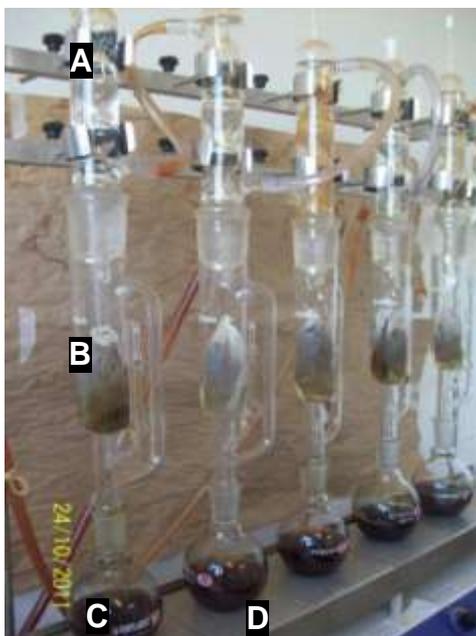


Figura 9 – Sistema Soxhlet utilizado no experimento. A) condensador; B) a amostra no interior do extrator; C) balão de fundo chato; D) chapa de aquecimento (fonte: arquivo pessoal).

A solução de compostos obtida pelo processo de refluxo em aparelho de Soxhlet foi concentrado sob vácuo em evaporador rotativo, conforme mostrado na Figura 10. O equipamento teve a temperatura do banho-maria ajustada para 50°C, rotação a 70 RPM e pressão variável.



Figura 10 – Concentração do extrato em rotaevaporador. O recipiente indicado pela seta contém a solução hidroalcolica do extrato (fonte: arquivo pessoal).

O extrato concentrado foi colocado em recipientes de plástico e congelado a -70°C , para depois serem secos por sublimação em liofilizador (Figura 11). Após a liofilização, o extrato foi acondicionado em dessecador de vidro sob vácuo e protegido da luz até o momento das análises.



Figura 11 – Liofilizador utilizado na secagem do extrato. Na parte indicada pela seta está a amostra de extrato a ser liofilizada (fonte: arquivo pessoal).

4.7. Quantificação de compostos fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada pelo método Folin–Ciocalteu como descrito por Amorim et al. (2008), empregando ácido tânico como padrão. Este método baseia-se no princípio de que os compostos fenólicos são oxidados pelo reagente de Folin-Ciocalteu. Este reagente é constituído por uma mistura de ácido fosfotúngstico e de ácido fosfomolibdico, que é reduzido quando da oxidação dos fenóis, numa mistura de óxidos azuis de tungstênio e de molibdênio. A cor azul produzida possui uma absorção máxima na proximidade dos 760 nm, que é proporcional à taxa de compostos fenólicos no meio reacional.

Para esta análise preparou-se uma solução metanólica dos extratos secos na concentração de 1 mg/mL e do padrão ácido tânico na concentração de 0,1 mg/mL (soluções estoques). Tréplicas de 0,2 mL da solução do extrato foram transferidas para tubos de ensaio. Posteriormente, adicionou-se 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído em água milli-Q (10:90, v/v), 1 mL de carbonato de sódio 7,5 % (p/v) e 8,3 mL de água milli-Q. Esta mistura permaneceu por 30 minutos numa câmara escura, a temperatura ambiente, para depois ter a sua

absorbância medida a 760 nm em espectrofotômetro da Marca Biochrom, modelo Biowave II⁺, utilizando cubetas de quartizo, contra um branco constituído apenas de água milli-Q. Preparou-se também uma curva de calibração do ácido tânico transferindo-se em triplicata alíquotas de 0,01 a 0,2 mL da solução estoque e os demais reagentes citados anteriormente para tubos de ensaio, aferindo-se o volume final para 10 mL com água milli-Q, tornando as concentrações finais de ácido tânico numa variação de 0,1 a 2,0 µg/mL.

O teor de fenóis totais das amostras foi determinado por interpolação das absorbâncias das amostras contra a curva de calibração construída com o padrão de ácido tânico, expresso como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT/g).

4.8. Quantificação de flavonoides totais

A quantificação de flavonoides totais foi realizada pelo método colorimétrico descrito por Peixoto Sobrinho et al. (2008) com algumas modificações. Primeiramente, preparou-se soluções metanólicas dos extratos secos na concentração de 1 mg/mL e do padrão rutina na concentração de 0,1 mg/mL (soluções estoques). Tréplicas de 0,5 mL das soluções dos extratos foram transferidas para tubos de ensaio. Posteriormente, adicionou-se 0,5 mL de ácido acético diluído em água milli-Q (60:40, v/v), 2 mL de piridina diluída em metanol (20:80, v/v), 1 mL de cloreto de alumínio 5 % (p/v) e 6,0 mL de água milli-Q. Um branco foi construído pela junção de todos os componentes da reação e o extrato, substituindo-se cloreto de alumínio por água milli-Q. Estas misturas permaneceram por 30 minutos numa câmara escura à temperatura ambiente, para depois terem a suas absorbâncias medidas a 420 nm, em espectrofotômetro como na análise anterior, o qual foi zerado com água milli-Q. Preparou-se também uma curva de calibração da rutina transferindo-se em triplicata alíquotas de 0,1 a 1 mL da solução estoque e os demais reagentes citados anteriormente, para tubos de ensaio, aferindo-se o volume final para 10 mL com água milli-Q, tornando as concentrações finais de rutina numa variação de 1 a 10 µg/mL.

A concentração de flavonoides totais das amostras foi determinada por interpolação das absorbâncias das amostras (descontando a absorbância do

branco) contra a curva de calibração construída com o padrão de rutina e expresso como miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato (mg ER/g).

4.9. Avaliação da atividade antioxidante

4.9.1. Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

A capacidade antioxidante medida pelo método DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995), consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre DPPH•, de coloração púrpura. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância em espectrofotômetro. Conforme Sousa et al. (2007), a partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional.

A avaliação da atividade antioxidante das folhas de *I. batatas* estudadas foi realizada seguindo a metodologia descrita por Peixoto Sobrinho et al. (2011) com modificações. Nesta, avaliou-se o consumo do radical livre DPPH pelas amostras, através da medida do decréscimo da absorbância de soluções de diferentes concentrações. Estas medidas foram feitas em espectrofotômetro UV-VIS no comprimento de onda 517 nm, tendo como controle positivo rutina e o ácido ascórbico.

Para execução desta análise o extrato seco ou controle positivo foram dissolvidos em metanol (1 mg/mL), obtendo-se soluções estoques. Em Triplicatas transferiram-se alíquotas de 0,1 a 0,9 mL da solução do extrato ou padrão para tubos de ensaio, aferindo-se o volume final para 5 mL, com metanol, obtendo-se concentrações finais no ensaio de 20-180 µg/mL. De cada uma destas concentrações transferiu-se 1 mL para novos tubos de ensaio e acrescentou-se 3 mL da solução de DPPH a 40 µg/mL (p/v). Num quarto tubo, o DPPH foi substituído por 3 mL de metanol e usado como branco. Estas soluções foram

agitadas cuidadosamente e deixadas em repouso por 30 minutos no escuro a temperatura ambiente. Após este período mediou-se suas absorvâncias a 517 nm, zerando-se o espectrofotômetro com metanol. A absorvância 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 (AA %) foi expressa como a porcentagem de inibição utilizando a seguinte equação:

$$\% \text{ AA} = \text{ABS}_{\text{cn}} - (\text{ABS}_{\text{amostra}} - \text{ABS}_{\text{branco}}) / \text{ABS}_{\text{cn}} \times 100$$

onde % AA é a atividade antioxidante total; ABS_{cn} a absorvância do controle negativo; $\text{ABS}_{\text{amostra}}$ é a absorvância da amostra; $\text{ABS}_{\text{branco}}$ é a absorvância das concentrações da amostra em que o DPPH foi substituído pelo metanol.

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

4.9.2. Avaliação da Atividade Antioxidante total pelo de redução do ferro – FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

A determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) foi realizada baseada na metodologia descrita por Benzie e Strain (1996) e Rufino et al. (2006) com algumas modificações. Este método fundamenta-se na capacidade dos antioxidantes da amostra em reduzirem, em meio ácido o complexo Fe^{3+} /tripiriditriazina (TPTZ), para formar Fe^{2+} de intensa cor azul e absorção máxima em torno de 593 nm (Kukić et al., 2008).

Para esta reação, inicialmente preparou-se uma solução de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) 10 mM em HCl 40 mM; uma solução de tampão acetato

0,3 M (pH 3,6), pela mistura de 3,1 g de acetato de sódio com 16 mL de ácido acético glacial, aferindo-se o volume para 1 L com água milli-Q; uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM. O reagente FRAP foi obtido momentos antes das análises pela combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M com 2,5 mL da solução de TPTZ 10 mM e 2,5 mL da solução aquosa de cloreto férrico 20 mM.

Para determinação da atividade antioxidante total (AAT) prepararam-se em triplicata, três diluições do extrato em metanol (0,5, 0,25 e 0,125 mg/mL) e sete diluições do padrão de sulfato ferroso em água milli-Q, variando a concentração de 500 μ M a 2000 μ M. A reação foi desenvolvida pela transferência de uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato ou padrão para tubos de ensaio, acrescido de 2,9 mL do reagente FRAP. Estes foram mantidos em banho-maria a 37° C e protegidos da luz. Após 30 minutos este com plexo reacional teve a sua absorbância lida a 593 nm, utilizando-se o reagente FRAP como branco, na calibração do espectrofotômetro.

A partir da leitura das absorbâncias obtidas nas reações com diferentes diluições dos extratos ou padrão sulfato ferroso, construíram-se curvas de calibração. Isto permitiu a determinação da equação da reta. Por regressão linear calculou-se a absorbância referente a 1000 mM de sulfato ferroso. O valor encontrado foi substituído na equação da reta determinada em cada extrato pelo termo referente à absorbância. A partir do resultado encontrado, determinou-se a AAT FRAP, expressa em μ M de sulfato ferroso por grama de extrato seco (mM Fe^{+2} /g).

4. 9.3. Atividade quelante do íon ferroso (FIC)

A atividade quelante (FIC – ferrous ion chelating) foi determinada medindo a capacidade da amostra em quelar os íons ferrosos do complexo Ferrozina/sulfato ferroso. Nesta reação, a ferrozina, um reagente cromogênico, torna a solução rósea, cuja intensidade da cor é proporcional à quantidade de ferro disponível em solução. Assim, quanto maior a quelação de íons pela amostra, menor o número de íons disponíveis, provocando um decaimento da cor rósea no complexo reacional, que pode ser monitorado pela análise da absorbância a 562 nm em espectrofotômetro (Lima, et al., 2010).

A atividade quelante foi determinada conforme descrito por Chew et al. (2009), com modificações, utilizando ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como controle positivo. Para esta reação, inicialmente preparou-se uma solução de Ferrozina (0,25 mM, p/v) e outra de FeSO₄ (0,1 mM, p/v) em metanol 75 % (v/v). Prepararam-se também, em triplicata, sete diluições do extrato em metanol 75 % (v/v), com concentrações variando de 50 a 500 µg/mL, e sete diluições do padrão de EDTA em água milli-Q, variando a concentração de 0,2 a 2 µg/mL.

A reação foi desenvolvida pela adição de 1 mL de cada diluição do extrato ou do padrão a 1 mL da solução de FeSO₄ e 1 ml da solução de Ferrozina, com intervalo de 10 minutos entre os reagentes. Preparou-se também um branco e um controle negativo. O primeiro foi constituído de todos os componentes da reação, substituído a ferrozina por metanol, enquanto que no controle negativo, o metanol substituiu os extratos ou padrão. Estas soluções foram agitadas cuidadosamente e deixadas em repouso por 10 minutos no escuro a temperatura ambiente, para depois ter a absorbância mensura a 562 nm, calibrando o espectrofotômetro com metanol. Calculou-se a porcentagem de atividade quelante de metais ferrosos (FIC) utilizando a seguinte equação:

$$\% \text{ FIC} = \text{ABS}_{\text{cn}} - (\text{ABS}_{\text{amostra}} - \text{ABS}_{\text{branco}}) / \text{ABS}_{\text{cn}} \times 100$$

onde % FIC é a atividade quelante; ABS_{amostra} é a absorbância da amostra; ABS_{branco} é a absorbância das concentrações da amostra diluída em metanol; ABS_{cn} é a absorbância do controle negativo.

Calculou-se também a concentração eficiente, quantidade de extrato ou controle positivo necessária para decrescer a absorbância da ferrozina em 50 % (CE₅₀). Esta foi determinada a partir de uma curva de calibração, obtida com as % FIC das diferentes concentrações, plotando-se na abscissa as concentrações da amostra (µg/mL), ou do controle positivo e na ordenada as % FIC. Por meio deste obteve-se a equação da reta (y= ax+b). Substituindo-se o y por 50, encontrou-se o resultado correspondente a concentração da amostra necessária para reduzir em 50 % a absorbancia da ferrozina (E₅₀), que foi expresso em µg/mL.

4.10. Cromatografia em camada delgada (CCD)

A avaliação qualitativa de flavonoides foi realizada em duas cultivares (Marcela e Beatriz) e empregando-se cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas cromatográficas de sílica gel 60 (ALUGRAM[®]) com dimensões de 10 x 10 centímetros, tendo como padrão de referência o flavonoide rutina. Momentos antes das análises as placas foram ativadas em estufa a 110°C por 30 minutos.

Os extratos previamente dissolvidos em metanol, na concentração de 5 mg/mL e o padrão de referência na concentração de 1mg/mL, foram introduzidos nas placas com auxílio de capilares de vidro seguido de secagem por secador de cabelo como mostrado na Figura 12.



Figura 12 – Introdução dos extratos de *I. batatas* e o padrão de referência em cromatoplasas de alumínio (fonte: arquivo pessoal).

A corrida cromatográfica foi desenvolvida em cuba de vidro (Figura 13) saturada por 1 hora com a solução eluente constituída de acetato de etila/ácido fórmico/ácido acético glacial/água (100:11:11:27, v/v). Após a eluição, as placas foram recolhidas e tiveram o excesso de solvente movido com auxílio de secador de cabelo. A secagem completa das placas ocorreu em estufa a 40°C. Esta etapa foi precedida da exposição a um *Spray* do revelador citrobórico (ácido cítrico/ácido bórico/metanol (12:12:76 p/V)), visualização em câmara ultravioleta a 255 nm e cálculo do fator de retenção (R_f) baseado nas fluorescências observadas (RODRIGUES et al 2004). O cálculo do R_f foi definido como a razão

entre a distância percorrida pelo composto e a distância percorrida pelo eluente (MATOS, 2009), calculado pela fórmula: $R_f = d_m/d_s$, onde d_m é a distância percorrida pela mancha de extrato e d_s a distância percorrida pelo solvente que compõe a fase móvel.



Figura 13 – Desenvolvimento da cromatografia em camada delgada com os extratos de *I. batatas* e o padrão de referencia rutina (fonte: arquivo pessoal).

4.11. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi desenvolvida em cromatógrafo Shimadzu modelo LC-10 Series Avp equipado com uma bomba LC-10AD, desgaseificador DGU-14A, detector UV-VIS (SPD - 10A), forno de coluna (CTO-10A), equipado com a injeção manual Rheodyne (*loop* de 20 μ L) e integrador CLASS LC-10A, conectado a um computador dotado de software Shimadzu Class-VP. As amostras foram separadas utilizando-se uma coluna de fase reversa Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm) e pré-coluna Phenomenex C18 (4 x 3,0 mm) preenchida com material semelhante a coluna principal.

A separação cromatográfica dos compostos foi desenvolvida por dois métodos de eluição isocráticos. No primeiro, a fase móvel consistiu de 0,1 % de ácido fórmico em água Milli-Q/metanol (45:55) com taxa de fluxo do eluente de

0,8 mL / min e temperatura a 40 ° C, detecção UV 280 nm e tempo máximo de 30 minutos. Neste método utilizou-se como compostos de referência a rutina (Sigma® 78095), quercetina (Sigma® Q0125), naringina (Sigma® 71162), (+/-)-naringenina (Sigma® N5893); miricetina (Sigma® M6760), morina (Sigma® M4008), luteolina (Sigma® L9283), e o ácido elágico (Sigma® E2250). No segundo método a fase móvel foi constituída de metanol/água Milli-Q/ácido acético (1:18:1), a taxa de fluxo do eluente foi mantida a 1 mL / min e temperatura a 40 ° C, detecção UV 280 nm e tempo máximo de 35 minutos. Os padrões utilizados foram o ácido gálico (vetec® 444), (-)-galocatequina (Sigma® G6657) e (+)-catequina (Sigma® C1251). Os compostos foram analisados de forma qualitativa e quando possível, realizou-se quantificação, a qual foi expressa em microgramas por miligrama de extrato seco ($\mu\text{g}/\text{mg}$), correlacionando a área do analito com a curva de calibração dos padrões construídos em concentrações de 125, 250 e 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$. As soluções dos extratos foram preparadas com o solvente de eluição. Os diferentes padrões de flavonoides foram dissolvidos em metanol. Todos foram filtrados em membrana Millipore® (0,45 μm de diâmetro de poro).

4.12. Análises estatísticas

Para análise estatística dos resultados obtidos, na comparação das médias obtidas nas diversas análises, foi utilizado o teste “t” de Student e a análise de variância (ANOVA), através do software ASSISTAT 7,6 Beta® seguido do teste *Tukey*, com níveis de significância $p < 0.05$ (VIEIRA, 1999). Foi ainda empregado análise de correlação de Pearson através do software BioEstat 5.3® com elaboração de gráficos no programa OrigimPro® 8.6. Para esta última análise seguiu-se a proposta de Campbell (1997), estabelecendo correlação ausente ou muito fraca para o coeficiente de Pearson (r) 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.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Prospecção fitoquímica

A triagem fitoquímica clássica, realizada para a detecção dos constituintes químicos dos extratos brutos hidroalcoólicos das folhas de *I. batatas* (EBI) revelou positividade para a presença de compostos fenólicos gerais, antraquinonas, alcaloides, saponinas, flavonas, flavonol, xantonas, catequinas, taninos geais, taninos gálicos, e flavonoides. Estes resultados corroboram dados gerados por estudos anteriores com folhas desta espécie. Pochapski et al. (2011) relataram a detecção destes metabolitos em diferentes meios extrativos com concentrações variadas. Outros trabalhos relatam também que tais compostos se constituem os principais componentes biologicamente ativos da planta (Li et al., 2009).

A Figura 14 mostra os resultados da prospecção com cloreto férrico, que revelou a presença de compostos fenólicos. Segundo Islam (2009) estes compostos são metabólitos secundários com representação diversificada e universalmente presente em plantas superiores.

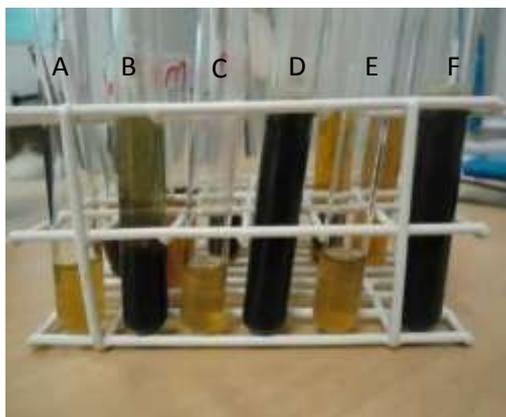


Figura 14 – Teste fitoquímico para detecção de compostos fenólicos no extrato bruto de *I. batatas*. Tubos escuros, reação com cloreto férrico; tubos claros, controle. (A e B) cultivar Beatriz; (C e D) cultivar Marcela; (E e F) cultivar Amanda.

O teste reacional com hidróxido de sódio para detecção da presença de antraquinonas é apresentado na Figura 15. Vários trabalhos evidenciam a presença deste metabólito em *I. batatas*, porém, dados capazes de atribuir o papel deste composto nas folhas desta planta são escassos. Atualmente, aceita-

se a teoria de que tais compostos tenham a função de defender a planta contra insetos e outros patógenos. Sabe-se também que compostos antracênicos são importantes farmacologicamente, sendo encontrados tanto em drogas vegetais, como em preparações fitoterápicas (LI et al., 2000; FALKENBERG et al., 2003; AYOOLA et al. 2008).

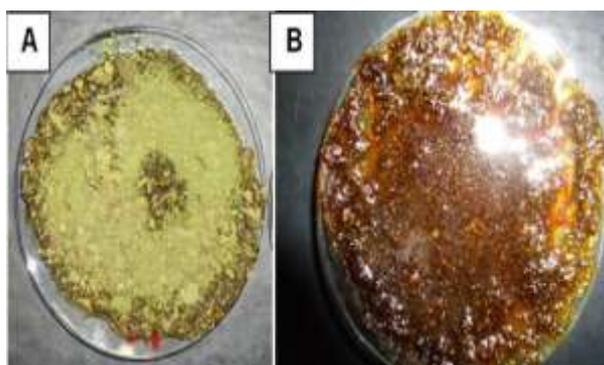


Figura 15 – Reação com hidróxido de sódio no pó das folhas da cultivar Beatriz. (a) início da reação; (b) aparecimento de coloração amarelada, indicando a presença de antraquinonas.

Entre os testes para alcaloides utilizados no experimento, o que apresentou reação positiva foi o teste com o reagente de Dragendorff, que apresentou uma ligeira formação de precipitado branco no extrato diluído sobre uma lâmina de vidro (Figura 16). Alcaloides têm se mostrado especialmente efetivos em seus efeitos medicinais e se encontram amplamente distribuídos em muitas espécies de plantas, exercendo papel importante como substâncias de defesa contra insetos e herbívoros (SIMÕES, 2003).



Figura 16 – Teste para detecção de alcaloides com o reagente Dragendorff sobre o extrato clorofórmico a partir do pó das folhas da cultivar Beatriz. Em destaque, a formação de um precipitado branco, indicativo da presença de alcaloides.

As classes de flavonoides detectadas nos extratos secos de folhas das três cultivares de *I. batatas* escolhidas para a triagem fitoquímica são mostrados na

Tabela 3. Como é possível observar, foram detectadas quatro classes de flavonoides: Catequinas, Flavonois, Flavonas e Xantonas.

Tabela 3 – Resultados da Caracterização fitoquímica preliminar de classes de flavonoides nos extratos das folhas de *I. batatas*.

Teste	Amanda	Beatriz	Marcela
Antocianinas e antocianidinas	–	–	–
Chauconas e Auronas	–	–	–
Catequinas	+	+	+
Flavonois	+	+	+
Flavonas	+	+	+
Flavononas	–	–	–
Leucoantocianinas	–	–	–
Xantonas	+	+	+

(+) presença; (–) ausência.

5.1.1. Análise de flavonoides por cromatografia em camada delgada (CCD).

Os resultados obtidos na análise por CCD (Figura 17) revelaram a presença do flavonoide rutina ($R_f = 0,45$) nos extratos analisados. A utilização de um revelador específico para este grupo de compostos permitiu observar que existem outros flavonoides além deste nas folhas das plantas estudadas. Isto foi evidenciado pelo aparecimento de duas manchas, uma de $R_f = 0,38$ e outra de $R_f = 0,64$ na placa cromatográfica.

Percebe-se que entre as variedades escolhidas aleatoriamente para a corrida cromatográfica, há diferença em sua constituição flavonoídica. Isto é explicado pelo fato de os compostos fenólicos poderem variar até mesmo dentro de espécies (LEITE, 2009) e as duas variedades utilizadas na corrida cromatográfica apresentarem algumas peculiaridades fisiológicas.

Trabalhos realizados por Silveira et al. (2008) com as variedades estudadas neste trabalho, demonstram que a variedade Marcela, que apresentou um flavonoide a mais (Figura 17), foi superada pela variedade Beatriz no teor de amido e no rendimento de etanol. Ou seja, nestas duas cultivares, a produção do metabólito secundário flavonoide, pode apresentar influência sobre produção de metabólitos primários como o amido, já que para a produção de ambos há uma demanda de energia e nutrientes (GRACE; LOGAN, 2000).

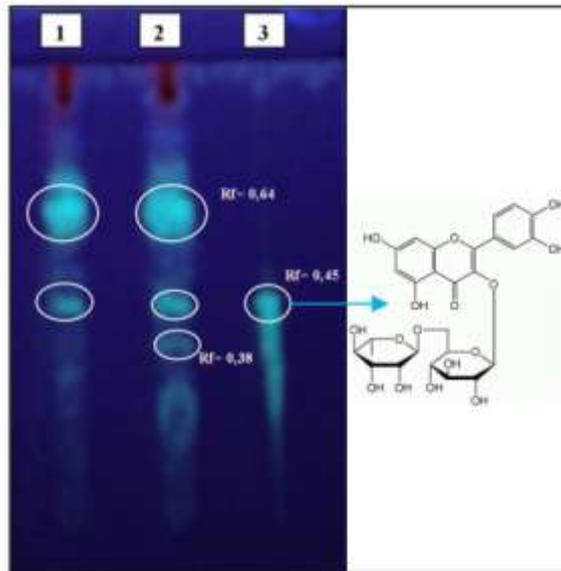


Figura 17 – Cromatograma (CCD) das soluções extrativas de *I. batatas* (1 – Beatriz, 2 – Marcela, 3 – padrão rutina). A figura da estrutura molecular da rutina foi extraída de Wikipédia (2012).

5.2. Quantificação de compostos fenólicos totais

A quantificação de fenóis totais revelou que os compostos fenólicos encontra-se em quantidades significativas na estrutura foliar das cultivares de *I. batatas* estudadas, confirmando dados da literatura para esta espécie vegetal (ISLAM, 2009; GHASEMZADEH et al., 2012). Os dados referentes à curva de calibração obtida por diferentes diluições do padrão ácido tânico encontram-se à Figura 18.

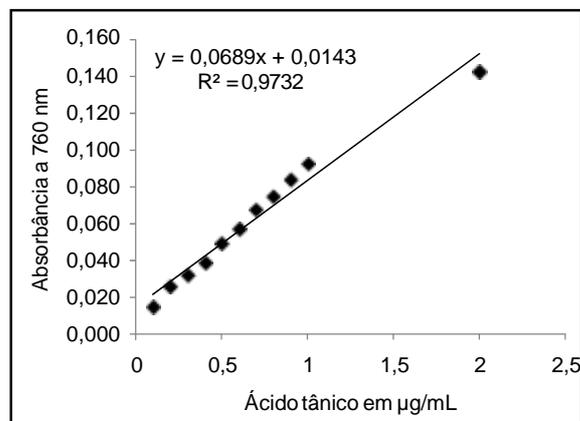


Figura 18 – Curva de calibração do padrão ácido tânico.

Na Tabela 4 encontram-se os dados da análise de variância referente à quantificação de compostos fenólicos totais, nas dez variedades de *I. batatas* melhoradas geneticamente pela equipe do LASPER/UFT. Foi observado, que houve diferença estatística entre os teores de fenóis totais nas diferentes cultivares. Estes resultados coincidem com fato de estas plantas serem provenientes de um programa de melhoramento genético, pois como pode ser observado nos dados disponibilizados por Silveira, et al., (2008) (Tabela 1), estas cultivares apresentam diferentes características referentes à precocidade e produção de carboidratos de interesse agroenergético. A discrepância no conteúdo fenólico pode está relacionada às características adquiridas por cada variedade durante o processo de melhoramento, pois segundo Leite (2009), a variação destes compostos ocorre mediante as peculiaridades genéticas de cada vegetal.

Tabela 4 – Resumo das análises de variância do teor de compostos fenólicos totais encontrados nas folhas de dez variedades de *I. batatas*.

FV	GL	QM
Cultivares	9	1209,95096 **
Resíduo	20	12,63855
Total	29	
CV %		3,87

** significativo ao nível de 1 % de probabilidade ($p < 0.01$).

Os teores médios de fenóis totais expressos como miligramas equivalentes de ácido tânico, por grama de extrato seco (mg EAT/g), nas dez variedades, são apresentados na Tabela 5. Os valores variaram de $54,7170 \pm 4,354$ a $112,288 \pm 3,653$ mg EAT/g. Constatou-se que 40 % das cultivares estudadas apresentaram valores estatisticamente iguais, como as variedades Lívia ($112,288 \pm 3,653$ mg EAT/g), Izabela ($110,837 \pm 3,653$ mg EAT/g), Julia ($109,869 \pm 1,451$ mg EAT/g) e Carolina Vitória ($109,386 \pm 4,434$ mg EAT/g), que apresentaram maior conteúdo fenólico. Isto corrobora outros estudos destes compostos nesta espécie, como os de Islam et al. (2006), Xu et al. (2010), Liao et al. (2011) e Ghasemzadeh et al. (2012), que observaram teores semelhantes destes compostos em *I. batatas* testando variedades de diferentes regiões do mundo.

Tabela 5 – valores médios e desvio padrão do teor de compostos fenólicos totais encontrados nas dez cultivares de batata doce expresso como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT/g).

Cultivares	Teores médios de compostos fenólicos totais (mg EAT/g)
Julia	109,869 ± 1,451 ab
Lívia	112,288 ± 3,653 a
Izabela	110,837 ± 3,653 a
Amanda	74,552 ± 4,434 d
Carolina Vitória	109,386 ± 4,434 ab
Duda	54,717 ± 4,354 e
Marcela	74,069 ± 1,676 d
Beatriz	79,390 ± 2,903 d
Ana Clara	92,453 ± 5,233 c
Bárbara	100,194 ± 0,838 bc

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

Moore (1998) coloca que a síntese de metabólitos secundários, muitas vezes, desvia energia da produção de metabólitos primários, o que até certo ponto, vem ao encontro dos resultados deste trabalho. Ao compararmos os teores de fenóis totais obtidos neste trabalho com os dados de produtividade destas cultivares, disponibilizados por SILVEIRA et al. (2008), observa-se uma correlação negativa de sua produtividade por hectare com a produção de compostos fenólicos (Figura 21). A cultivar Duda, a maior produtora em toneladas por hectare, apresentou o menor teor de compostos fenólicos neste trabalho (54,717 ± 4,354 mg EAT/g), ao passo que a variedade Carolina Vitória, uma cultivar de produtividade inferior às demais, enquadra-se neste trabalho entre as maiores produtoras de compostos fenólicos (109,386 ± 4,434 mg EAT/g). No entanto, algum equilíbrio entre a produtividade e o conteúdo fenólico mantém o desenvolvimento destas cultivares, pois como observado nas Figuras 19 e 20, a maior correlação negativa ($r = -0,7389$) ocorreu entre as variedades com menor EAT (Amanda, Duda, Marcela, Beatriz Ana Clara e Barbára) e correlação quase ausente ($r = 0,1727$), porém, positiva, entre as de maiores EAT (Julia, Lívia, Izabela e Carolina vitória).

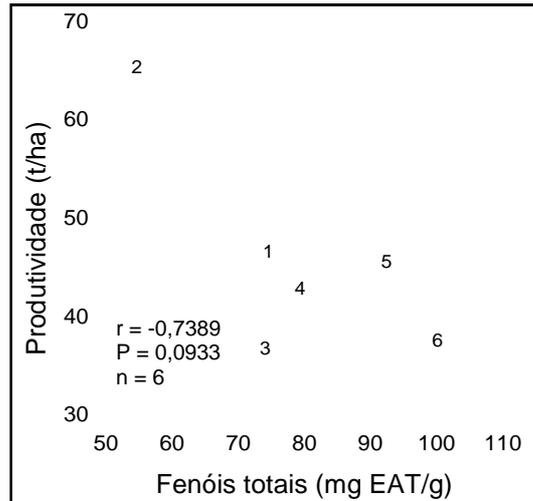


Figura 19 – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e a produtividade expressa em tonelada/hectare (t/ha), das seis cultivares de menor conteúdo fenólico (1 – Amanda, 2 – Duda, 3 – Marcela, 4 – Beatriz, 5 – Ana Clara, 6 – Barbará).

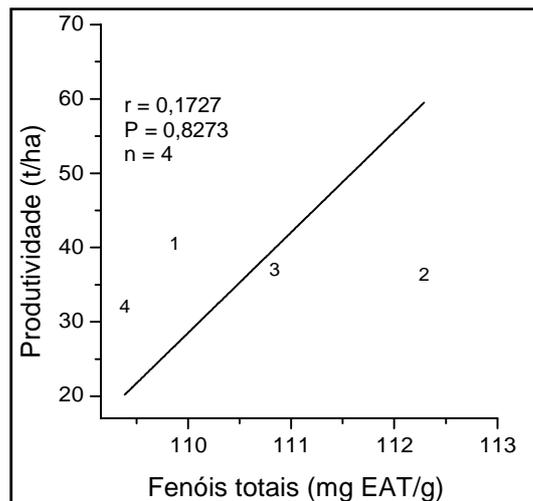


Figura 20 – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e a produtividade expressa em tonelada/hectare (t/ha) das cultivares de maior conteúdo fenólico (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Carolina Vitória).

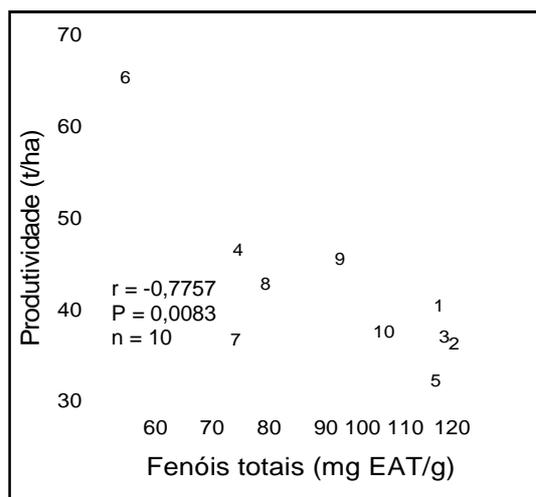


Figura 21 – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e a produtividade expressa em tonelada/hectare (t/ha) nas dez cultivares de *I. batatas* (1 – Julia; 2 – Lívia; 3 – Izabela; 4 – Amanda; 5 – Carolina Vitória; 6 – Duda; 7 – Marcela; 8 – Beatriz; 9 – Ana Clara; 10 – Bárbara).

5.3. Quantificação de flavonoides totais

Os resultados obtidos na quantificação espectrofotométrica dos flavonoides totais indicaram que estes compostos estão em quantidades variáveis nas cultivares de *I. batatas* estudadas. Os dados referentes à curva de calibração obtida por diferentes diluições do padrão Rutina são demonstrados graficamente na Figura 22. A forte relação entre as concentrações e as absorbâncias é verificada pelo coeficiente de linearidade, $R^2 = 0,9928$.

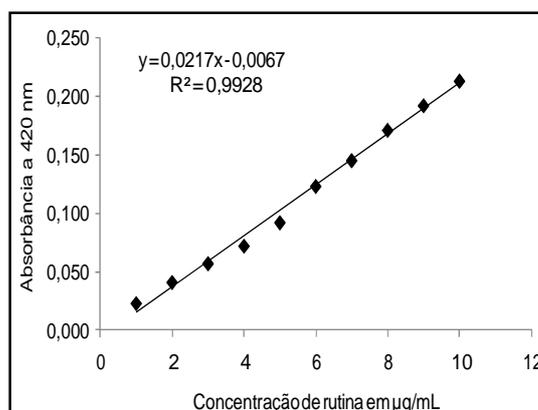


Figura 22 – Curva de calibração do padrão rutina.

A análise de variância dos dados obtidos pela interpolação das absorvâncias das amostras com a curva padrão construída com a rotina revelou que há diferença significativa no teor destes compostos entre as cultivares de *I. batatas* estudadas (Tabela 6).

Tabela 6 – Resumo das análises de variância do teor de flavonoides totais encontrados nas folhas de dez cultivares de *I. batatas*.

FV	GL	QM
Cultivares	9	1019,21705 **
Resíduo	20	10,19394
Total	29	
CV %		4,70

** significativo ao nível de 1 % de probabilidade ($p < 0.01$)

Como mostrado na Tabela 7, a cultivar Lívia destaca-se entre as demais com a maior concentração de flavonoides totais ($97,358 \pm 2,128$ mg ER/g). Ao mesmo tempo em que a variedade Duda destacou-se com a menor concentração ($29,155 \pm 3,725$ mg ER/g). Estes dados reforçam a ideia de que um equilíbrio entre a síntese de metabólitos primários e secundários pode ocorrer com esta espécie de planta, pois a variedade Lívia apresenta uma porcentagem de amido ligeiramente acima da variedade Duda, e um teor de flavonoides mais de três vezes maior. Esta mesma observação pode ser feita com as cultivares que apresentaram concentrações de flavonoides totais intermediárias, como as variedades Bárbara, Carolina Vitória e Júlia, que apresentaram teores bem próximos, tanto de amido como de flavonoides totais.

Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão do teor de flavonoides totais encontrados nas dez cultivares de *I. batatas* estudadas. Os valores são expressos como miligramas equivalente de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g).

Cultivares	Teores médios de flavonoides totais (mg ER/g)
Julia	$71,244 \pm 1,596$ cde
Lívia	$97,358 \pm 2,128$ a
Izabela	$66,329 \pm 2,963$ def
Amanda	$59,263 \pm 4,224$ fg
Carolina Vitória	$74,624 \pm 3,237$ cd
Duda	$29,155 \pm 3,725$ h
Marcela	$54,654 \pm 3,323$ g
Beatriz	$64,485 \pm 0,922$ ef
Ana Clara	$85,069 \pm 5,241$ b
Bárbara	$76,467 \pm 2,128$ bc

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

Os resultados obtidos nesta quantificação demonstraram uma forte contribuição dos flavonoides no conteúdo fenólico das dez cultivares de *I. batatas* estudadas. Como mostrado nas Figuras 23 e 24, o coeficiente linear de Pearson ($r = 0,8100$), indica que há forte correlação entre as concentrações EAT e ERT. Observou-se também que teor de flavonoides totais variou de 53 a 92 % do conteúdo fenólico destas plantas. Percentuais semelhantes aos apresentados neste trabalho foram observados também por Ghasemzadeh (2012) com outras variedades desta mesma espécie, na Malásia.

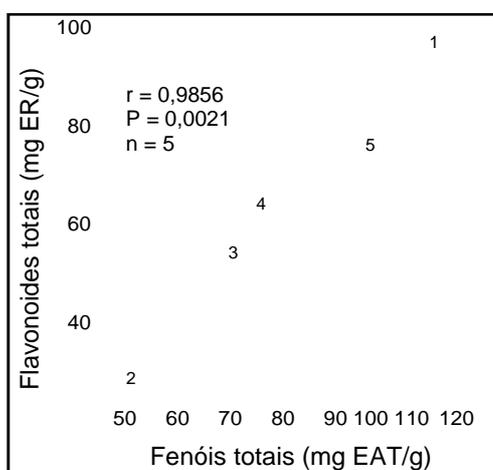


Figura 23 – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) nas cultivares de *I. batatas* (1 - Lívia, 2 - Duda, 3 - Marcela, 4 - Beatriz e 5 - Bárbara).

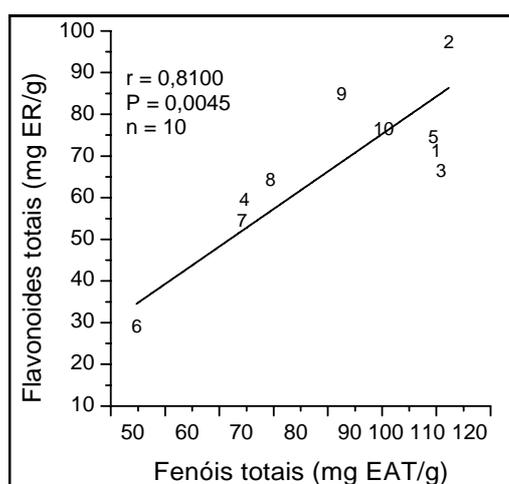


Figura 24 – Correlação entre fenóis totais expressos em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato seco (mg EAT/g) e flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) nas cultivares *I. batatas* (1 - Julia, 2 - Lívia, 3 - Izabela, 4 - Amanda, 5 - Carolina Vitória, 6 - Duda, 7 - Marcela, 8 - Beatriz, 9 - Ana Clara, 10 - Bárbara).

Os flavonoides têm importante contribuição na adaptação das plantas ao ambiente, protegendo-as de patógenos e da ação dos raios ultravioleta. Segundo Haborne; Williams (2000), este ultimo aspecto, em alguns momentos, pode interferir na eficiência do fotossistema da planta, sendo assim capaz de reduzir a produção de biomassa pela mesma. Esta situação parece ser muito bem atribuída às cultivares de *I. batatas* estudadas. Neste trabalho, observou-se alta correlação linear negativa entre o teor de ER e a produtividades das cultivares estudadas (Figuras 25 e 26).

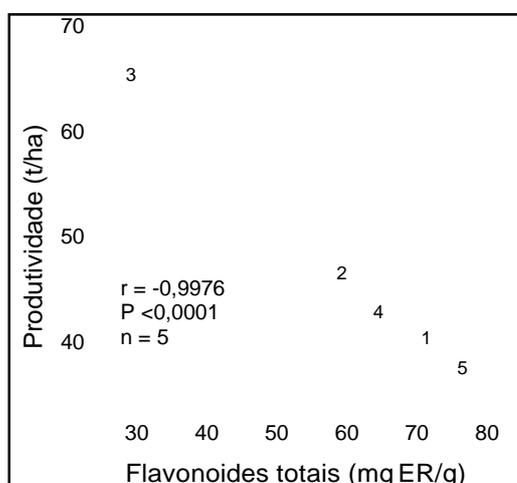


Figura 25 – Correlação entre flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) e a produtividades das cultivares expressa em t/ha. Análise realizada com as cultivaves Julia (1), Amanda (2), Duda (3), Beatriz (4) e Bárbara (5).

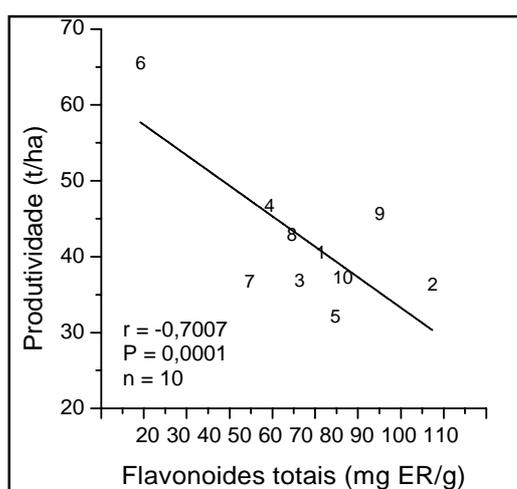


Figura 26 – Correlação entre flavonoides totais expressos em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato seco (mg ER/g) e a produtividades das cultivares expressa em t/ha. Análise realizada com as dez cultivares (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara).

5.4. Avaliação da atividade antioxidante

Uma grande variedade de compostos antioxidantes compõe a constituição dos vegetais. Na batata-doce, vários estudos têm reportado atividade antioxidante em sua estrutura foliar (SLAM, 2002; XU et al., 2010; I SONG et al., 2011; GHASEMZADEH et al., 2012).

5.4.1. Avaliação da Atividade Antioxidante total pelo de redução do ferro – FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Pelo método FRAP, as propriedades antioxidantes dos extratos de *I. batatas* do estudo foram avaliadas quanto a capacidade de eliminação de radicais livres. Os dados de linearidade da curva de calibração obtida por diferentes diluições do padrão sulfato ferroso são demonstrados graficamente na Figura 27. A forte relação entre as concentrações e as absorbâncias obtida é verificada pelo coeficiente de linearidade, $R^2 = 0,9952$.

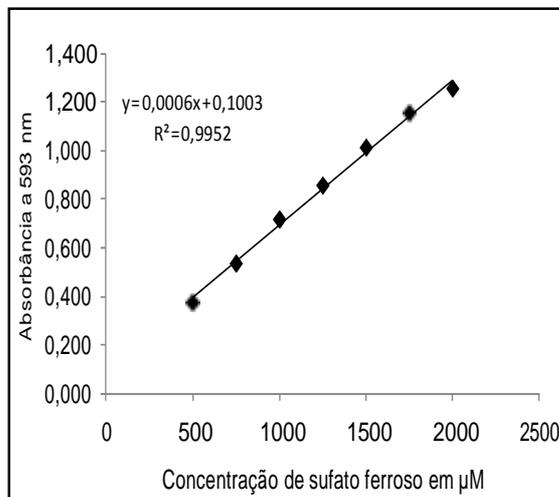


Figura 27 – Curva de calibração do padrão sulfato ferroso

Todas as amostras mostraram-se dependentes da concentração. O teste com diferentes diluições revelou coeficientes de linearidades (R^2) que variaram de 0,9329 a 0,9996. Ao mesmo tempo constataram-se diferentes capacidades de redução do ferro entre as cultivares de *I. batatas*. Na Tabela 8 encontram-se os dados da análise de variância referente ao ensaio FRAP.

Tabela 8 – Resumo das análises de variância da atividade antioxidante total pelo método FRAP nas dez variedades de *I. batatas*.

FV	GL	QM
Cultivares	9	1287425,82035 **
Resíduo	20	8546,68620
Total	29	
CV %		3,160

** significativo ao nível de 1 % de probabilidade ($p < 0.01$)

Os extratos que reduziram a maior quantidade de Fe^{3+} em Fe^{2+} foram os das cultivares Lívia ($3818,325 \pm 115,792 \mu\text{M}$ de Fe^{2+}/mg) e Bárbara ($3603,146 \pm 114,411 \mu\text{M}$ de Fe^{2+}/mg). Os menores resultados foram verificados nos extratos da cultivar Duda ($1841,833 \pm 45,457 \mu\text{M}$ de Fe^{2+}/mg) e os valores intermediários variaram de $2321,090 \pm 88,522$ a $3514,971 \pm 104,573 \mu\text{M}$ de Fe^{2+}/g .

Tabela 9 – Valores médios e desvio padrão das atividades antioxidantes totais testadas pelo método FRAP (AAT FRAP) encontrado nas dez variedades *I. batatas* estudadas. Valores expressos em micromoles de sulfato ferroso por miligrama de extrato (μM de Fe^{2+}/g).

Cultivares	AAT FRAP (μM de Fe^{2+}/g)
Julia	$2937,1130 \pm 105,404$ d
Lívia	$3818,325 \pm 115,792$ a
Izabela	$3132,793 \pm 121,010$ cd
Amanda	$2243,288 \pm 52,200$ f
Carolina Vitória	$3514,971 \pm 104,573$ b
Duda	$1841,833 \pm 45,457$ g
Marcela	$2321,090 \pm 88,522$ ef
Beatriz	$2577,331 \pm 52,030$ e
Ana Clara	$3224,236 \pm 83,342$ c
Bárbara	$3603,146 \pm 114,411$ ab

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

Resultados semelhantes foram obtidos por Xu et al. (2010) e Ghasemzadeh et al. (2012), que também observaram capacidade antioxidante dependente da concentração em extratos das folhas de outras variedades desta espécie em outras regiões do mundo.

5.4.2. Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

Pelo ensaio DPPH, as propriedades antioxidantes dos extratos de *I. batatas* do estudo foram avaliadas quanto a sua capacidade de agir como doadores de elétrons ou átomos de hidrogênio, para reduzir substâncias oxidantes.

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante (AA %) do extrato etanólico das dez cultivares de *I. batatas* estudadas e do controle positivo, nas concentrações de 20, 60 e 100 µg/mL, determinada pelo ensaio do DPPH, estão apresentados à Figura 28. Todas as cultivares apresentaram atividade sequestradora do radical DPPH, contudo o extrato da cultivar Duda foi o menos ativo nas três concentrações. As demais amostras de extratos, na concentração de 100 µg/mL, apresentaram atividade antioxidante superior a 65 %, atingindo um máximo de $91,993 \pm 0,45$ % para o extrato da cultivar Bárbara e $88,514 \pm 1,48$ % para o extrato da cultivar Lívia, contra $94,350 \pm 0,15$ % do padrão rutina.

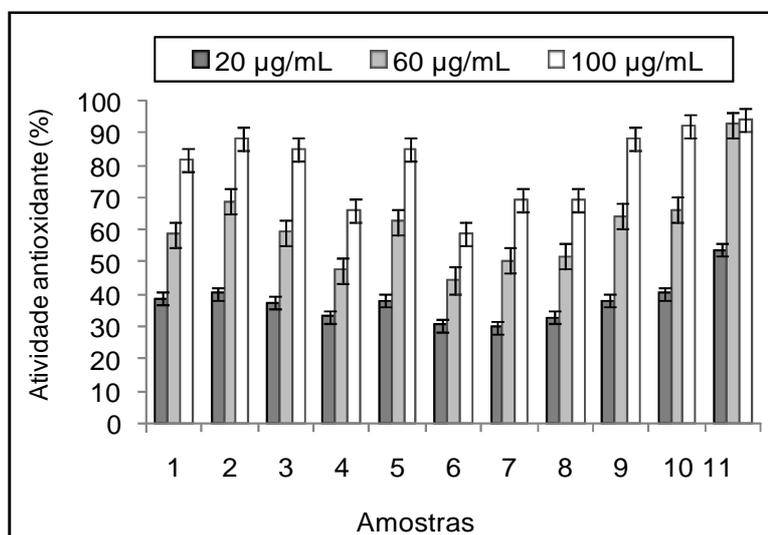


Figura 28 – Porcentagem de atividade antioxidante mensurada pelo ensaio DPPH no extrato etanólico das folhas de *I. batatas* e do controle positivo em três concentrações (20, 60 e 100 µg/mL). 1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara, 11 – controle positivo rutina. As barras finas (I) indicam erro padrão.

A análise de diferentes diluições dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas permitiu verificar que estes apresentaram uma capacidade de

sequestro do radical DPPH dependente da sua concentração, pois a absorbância do DPPH decresceu linearmente a medida que se aumentou a quantidade de extrato, com R^2 variando de 0,8883 a 9997. Esta é uma característica comum em extratos de *I. batatas*. outros autores como Huang et al. (2013), Xu et al. (2010) e HUE et al. (2012) também observaram este comportamento em estudos com folhas desta espécie.

A análise concernente à quantidade de extrato necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50 %, concentração eficiente (CE_{50}) expressa em $\mu\text{g/mL}$, demonstrou que as cultivares de *I. batatas* estudadas apresentaram diferenças significativas no potencial como fontes de substâncias sequestradoras de radicais livres. Na Tabela 10 encontram-se os dados da análise de variância referente a esta análise, nas dez cultivares.

Tabela 10 – Resumo das análises de variância da concentração eficiente necessária para reduzir a absorbância do DPPH em 50 % nas dez variedades de *I. batatas*.

FV	GL	QM
Cultivares	9	724,27732 **
Resíduo	20	
Total	29	2,45167
CV %		3,34

** significativo ao nível de 1 % de probabilidade ($p < .01$)

A Tabela 11 apresenta os valores de CE_{50} dos controles positivos ácido ascórbico e rutina e dos extratos. A melhor CE_{50} foi detectada na cultivar Lívia ($CE_{50} = 28,990 \pm 1,660 \mu\text{g/mL}$), e a mesma foi estatisticamente igual a cultivar Bárbara ($30,060 \pm 1,93 \mu\text{g/mL}$). A menor CE_{50} foi observada na cultivar Duda ($CE_{50} = 74,380 \pm 1,35 \mu\text{g/mL}$), os CE_{50} das demais cultivares variaram entre $35,670 \pm 1,89$ e $60,550 \pm 1,68 \mu\text{g/mL}$.

Por meio de estudos com plantas do semiárido nordestino brasileiro, Melo et al. (2010) estabeleceram uma forma de classificação para a atividade antioxidante. Baseado no desempenho do extrato bruto, esses autores determinaram três classes para este papel biológico *in vitro*: I - boa atividade ($EC_{50} < 69 \mu\text{g/mL}$, ou valores com até três vezes a concentração eficiente do controle positivo), II - atividade moderada ($EC_{50} > 65 \mu\text{g/mL}$ e $< 152 \mu\text{g/mL}$, variando entre três e sete vezes a concentração inibitória do controle positivo), III - baixa atividade ($EC_{50} > 161 \mu\text{g/mL}$ e sete vezes superior a concentração

inibitória do controle positivo). Baseado na classificação mencionada, verificou-se que 70% das cultivares de *I. batatas* estudadas apresentaram atividade antioxidante boa, as exceções ocorreram com as cultivares Amanda ($62,63 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$), Duda ($74,380 \pm 1,350 \mu\text{g/mL}$) e Marcela ($60,550 \pm 1,68 \mu\text{g/mL}$) que se mostraram na classificação II.

Tabela 11 – Valores médios e desvio padrão da concentração eficiente necessária para reduzir a absorvância do DPPH em 50 % encontrado nas dez cultivares de *I. batatas* estudadas. Resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$.

Cultivares	DPPH CE ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Acido ascórbico	$14,228 \pm 0,430$
Rutina	$18,488 \pm 0,100$
Julia	$40,460 \pm 2,210$ d
Lívia	$28,990 \pm 1,660$ f
Izabela	$41,170 \pm 0,960$ d
Amanda	$62,627 \pm 0,180$ b
Carolina Vitória	$37,993 \pm 1,450$ de
Duda	$74,380 \pm 1,350$ a
Marcela	$60,550 \pm 1,68$ bc
Beatriz	$35,670 \pm 1,89$ c
Ana Clara	$35,670 \pm 1,37$ e
Bárbara	$30,060 \pm 1,93$ f

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

5.4.3. Correlação do ensaio FRAP, DPPH com os teores de fenóis e flavonoides totais.

Comparando os dois métodos de mensuração de atividade antioxidante utilizados no estudo, verificou-se que ambos mostraram boa capacidade de determinar a atividade antioxidante das folhas de batata-doce. Conforme observado na Figura 29, houve forte correlação ($r = -0,9015$) entre os valores médios de FRAP expresso em $\mu\text{M Fe}^{+2}/\text{g}$ e o DPPH expresso em CE₅₀ (inversamente proporcional). Esta correlação demonstra um bom grau de equivalência entre os métodos. Xu et al. (2010) também relataram uma forte correlação entre estes dois métodos em estudos realizados com outras variedades desta espécie de planta.

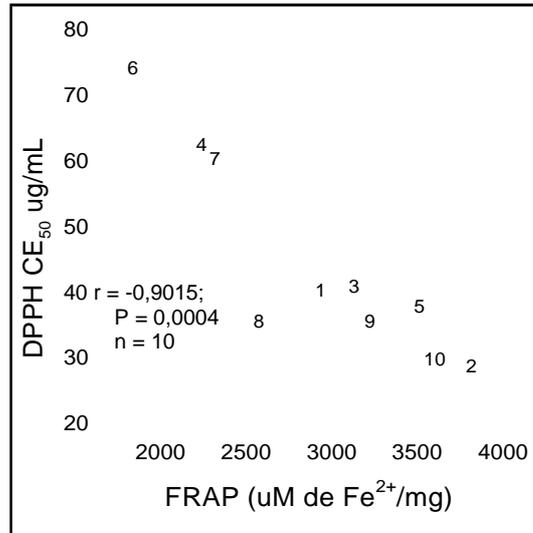


Figura 29 – Correlação entre as atividades antioxidantes realizadas pelos os métodos DPPH e FRAP, expressas como concentração eficiente (CE₅₀) em equivalentes de ácido tânico, EAT e atividade antioxidante total (AAT) em micromolis de ferro por grama de peso seco (µM Fe²⁺/g) respectivamente (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara).

Pela análise de correlação entre os resultados obtidos no estudo da atividade antioxidante e o teor de fenóis e flavonoides totais, constatou-se forte influência dos fenóis totais, sobre as atividades antioxidantes DPPH (CE₅₀) e FRAP (Figura 30 e 31). Alguns autores têm relatado resultados semelhantes para tais correlações entre compostos fenólicos e atividades antioxidantes em extratos de *I. batatas* (ISLAM et al., 2002; XU et al., 2010; GHASEMZADEH, 2012).

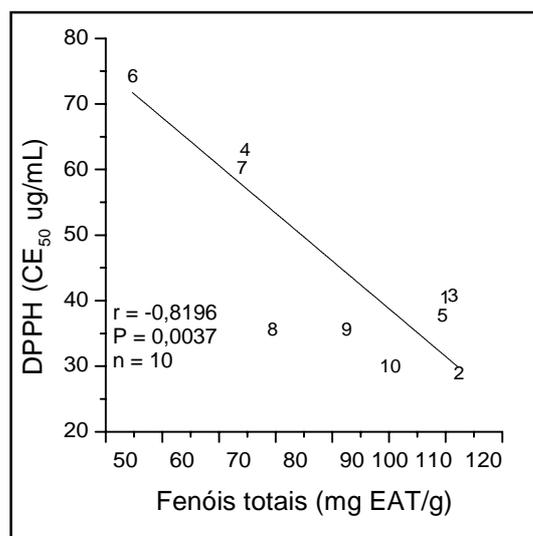


Figura 30 – Correlação entre fenóis totais expressos em equivalentes de ácido tânico, EAT e atividade antioxidante expressa como concentração eficiente, CE₅₀ dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara).

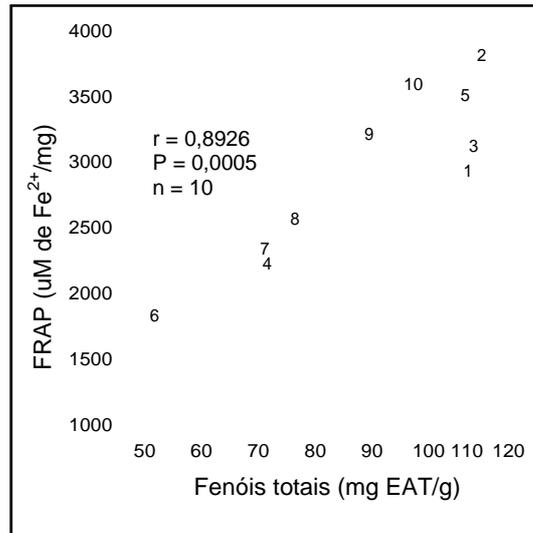


Figura 31 – Correlação entre fenóis totais expressos em equivalentes de ácido tânico, EAT e atividade antioxidante total (AAT FRAP) dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas (1 - Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 - Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara).

Como mostrado na Figura 32 e 33, os teores de flavonoides totais também se correlacionaram fortemente com a atividade antioxidante realizada pelos dois métodos (FRAP e DPPH), demonstrando grande contribuição no potencial como fontes de substâncias sequestradoras de radicais livres em folhas de *I. batatas*.

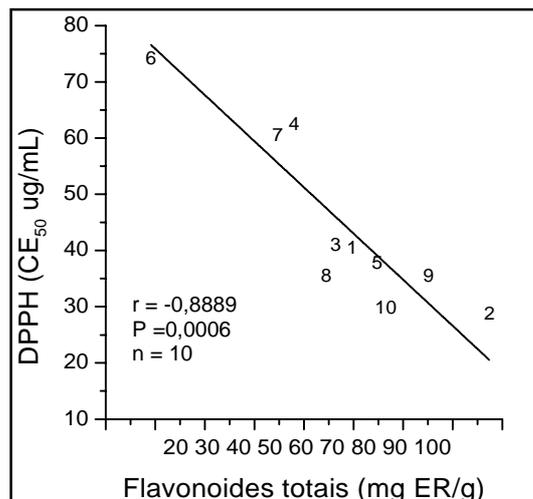


Figura 32 – Correlação entre flavonoides totais expressos em equivalentes de rutina, ER e atividade antioxidante expressa como concentração eficiente, CE₅₀ dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas (1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara).

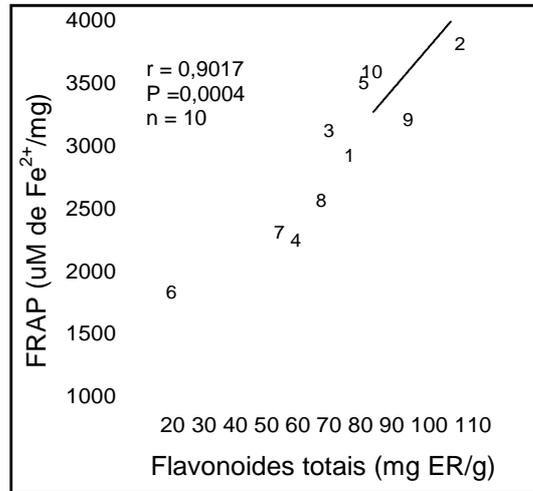


Figura 33 – Correlação entre flavonoides totais expressos em equivalentes de rutina, ER e atividade antioxidante total, AAT FRAP dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas (1 - Julia, 2 - Livia, 3 - Izabela, 4 - Amanda, 5 - Carolina Vitória, 6 - Duda, 7 - Marcela, 8 - Beatriz, 9 - Ana Clara, 10 - Bàrbara).

5.4.4. Atividade quelante do íon ferroso (FIC)

A presença de metais de transição em sistemas biológicos pode catalisar reações que resultam na geração de radicais hidroxilas. No entanto, estes metais de transição podem ser quelados por antioxidantes, o que resulta na supressão da produção de OH^\cdot e uma inibição da peroxidação de moléculas biológicas (CHEW et al., 2009). Vários relatos têm atribuído parte desta atividade aos compostos fenólicos de plantas. Nos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas neste trabalho, este aspecto foi observado pelo teste *in vitro* da capacidade de competição com a ferrozina, o que, segundo Khokhar; Apenten (2003) se constitui um indício de eficiência na prevenção da geração de radicais hidroxilas.

Na Figura 35 é apresentada a capacidade de quelação do ferro em função da concentração de extrato, nas dez cultivares de *I. batatas* estudadas. Verificou-se que, em todas as cultivares a capacidade de quelação ascendeu proporcionalmente com o aumento da concentração dos extratos. Por esta análise, percebeu-se que a cultivar Beatriz e Duda tiveram maior atividade quelante ($90,058 \pm 0,390 \%$ e $77,778 \pm 0,390 \%$ respectivamente).

É interessante notar que, embora as cultivares Livia e Bárbara estivessem entre as cultivares que apresentaram os maiores valores de fenóis e flavonoides totais, os mesmos exibiram as mais baixas atividades quelantes ($38,545 \pm 1,196$ % e $41,455 \pm 0,113$ % respectivamente). Este fato já foi observado em estudos desenvolvidos com outras espécies botânicas realizado por Chew et al. (2009). Esta atividade está extremamente relacionada à estrutura dos compostos, pois a eficiência de ligação do composto com os íons metálicos depende da posição em que o grupo doador de elétrons se encontra na molécula do composto fenólico (KHOKHAR; APENTEN, 2003).

Ainda relacionado à atividade quelante destas cultivares, observou-se que a maior eficiência foi exibida no extrato das cultivares mais produtoras de raízes por área plantada, ao mesmo tempo em que estas demonstraram menor atividade antioxidante pelo método DPPH e FRAP. Isto permite inferir que estas cultivares utilizam vários mecanismos de defesa aos danos oxidativos, já que a presença de metais de transição pode promover a oxidação, atuando como catalisadores de reações para formação de radicais livres (KONČIĆ et al., 2011).

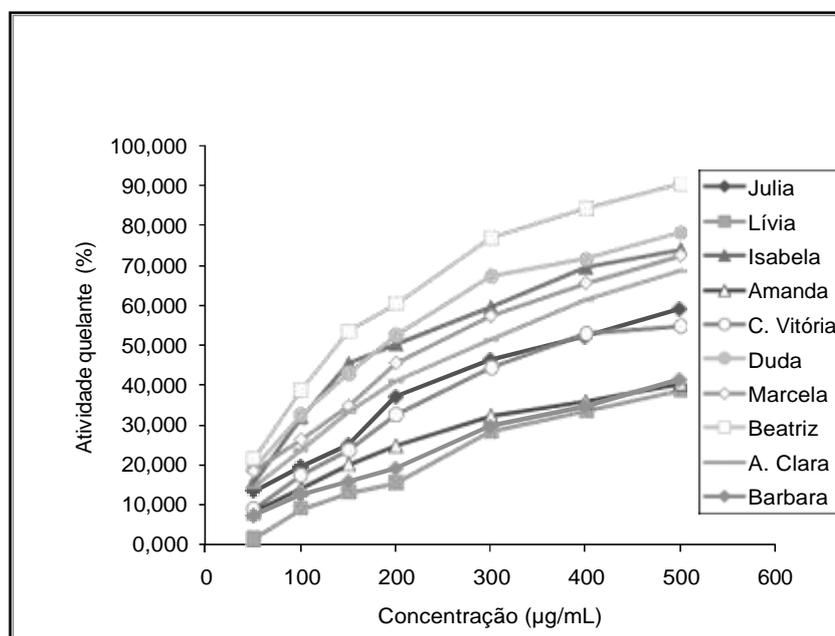


Figura 34 – Diferentes concentrações dos extratos das folhas de *I. batatas* testados quanto a capacidade em quelar íons metálicos.

Pela determinação do E₅₀, observou-se que a quantidade necessária para reduzir a absorvência do complexo ferrozina/sulfato ferroso foi diferente entre estas cultivares. Na Tabela 12 é apresentada a análise de variância referente aos cálculos estatísticos com estas cultivares para esta variável.

Tabela 12 – Resumo das análises de variância da atividade quelante nas dez variedades de *I. batatas*.

FV	GL	QM
Cultivares	9	83095,63350 **
Resíduo	20	124,18648
Total	29	
CV %		2,91

** significativo ao nível de 1 % de probabilidade (p < 0.01)

O melhor resultado foi encontrado para o extrato da cultivar Beatriz (170,149 ± 1,606 µg/mL) seguida pela cultivar Duda (228,770 ± 7,252 µg/mL) e Izabela (249,828 ± 4,802 µg/mL). A menor atividade quelante foi observada nos extratos das cultivares Bárbara (599,375 ± 7,530 µg/mL), Carolina vitória (401,907 ± 10,198 µg/mL) e Lívia (609,174 ± 26,580 µg/mL). Já o controle positivo EDTA teve E₅₀= 9,094 ± 0,057 µg/mL.

Tabela 13 – Valores médios e desvio padrão da concentração eficiente necessária para reduzir a absorvência da ferrozina em 50 %, encontrado nas dez cultivares de *I. batatas* estudadas. Resultados expressos em µg/mL.

Cultivares	FIC EC ₅₀ (µg/mL)
EDTA	9,094 ± 0,057 g
Julia	377,012 ± 4,657 b
Lívia	609,174 ± 26,580 a
Izabela	249,828 ± 4,802 de
Amanda	603,525 ± 16,282 a
Carolina Vitória	401,907 ± 10,198 b
Duda	228,770 ± 7,252 e
Marcela	279,944 ± 2,279 d
Beatriz	170,149 ± 1,606 f
Ana Clara	313,408 ± 2,105 c
Bárbara	599,375 ± 7,530 a

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

Pela análise de correlação de Pearson, observou-se correlação positiva entre os flavonoides totais, fenóis totais e a FIC CE₅₀ dos extratos das cultivares Julia, Carolina Vitória, Duda, Marcela, e Ana Clara, conforme mostrado na Figura 35. No entanto, os extratos das demais cultivares não seguem este

comportamento. Esta análise sugere que algum constituinte contribui particularmente, e mais efetivamente, para a ação quelante nos extratos destas cinco variedades. Observou-se também, que, entre estas cultivares, a correlação entre FIC CE₅₀ e o teor de flavonoides foi 22% menor ($r = 0,7625$) quando comparado com o conteúdo fenólico ($r = 0,9786$), indicando que outros compostos fenólicos, além dos flavonoides, podem estar contribuindo com a atividade quelante destes extratos.

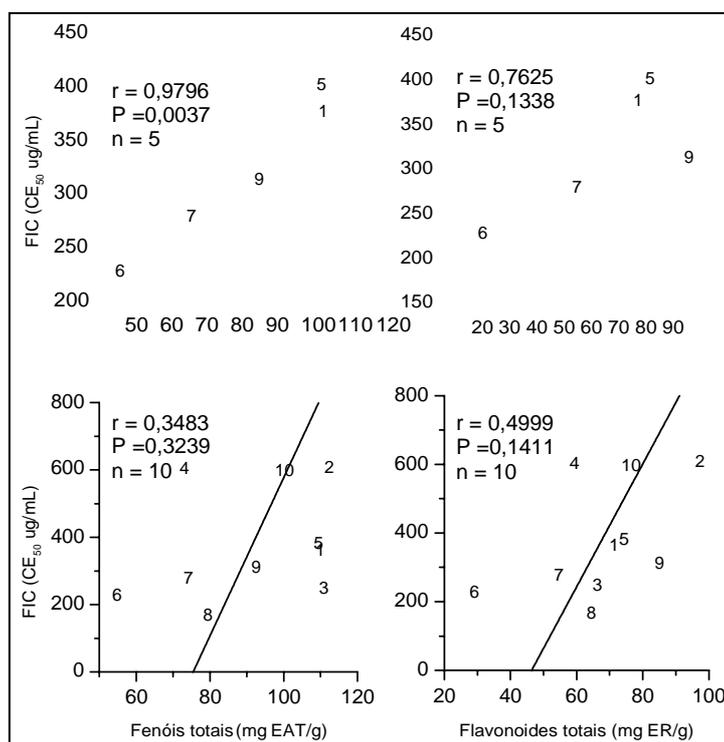


Figura 35 – Correlação entre atividade quelante expressos como concentração eficiente (CE₅₀ µg/mL) e compostos fenólicos totais expressos em equivalentes de ácido tânico, EAT e flavonoides totais expressos em equivalentes de rutina, ER dos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas (1 – Julia, 2 – Livia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bàrbara).

5.5. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os *fingerprints* obtidos neste trabalho demonstraram que os extratos etanólicos das dez cultivares de *I. batatas* possuem uma matriz de compostos fenólicos bastante complexa pois apresentaram variados picos numa ampla faixa de tempo de retenção. Pela comparação entre os *fingerprints*, desenvolvidos em sistema isocrático com fase móvel 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água

(55:45 v/v/v), observou-se boa reprodutibilidade dos tempos de retenção das substâncias em análise (Figuras 36 a 45). Entre todas, as cultivares Amanda e Beatriz foram as que apresentaram maior diversidade de compostos, um total de 21 picos foram obtidos num intervalo de 25 minutos. Por outro lado, a cultivar Ana Clara apresentou a menor diversidade de compostos, um total de 16 picos, num intervalo de 12 minutos. O tempo total da eluição de cada amostra foi de 30 minutos, o que permitiu identificar, qualitativamente, o ácido elágico e sete flavonoides, todos por comparação do tempo de retenção da amostra com os de padrões autênticos.

Vários trabalhos realizados com folhas de *I. batatas* têm evidenciado a presença de ácidos fenólicos (ISLAM, 2002; XU et al., 2010; GHASEMZADEH et al., 2012), no entanto, nenhum trabalho foi encontrado destacando a presença do ácido elágico para esta espécie. Em algumas cultivares estudadas neste trabalho este composto se encontrou entre os picos majoritários (tempo igual a 7,0 minutos). Como mostrado na Tabela 14 sua concentração variou de 1,205 mg/g de extrato na cultivar Carolina vitória a 29,821 mg/g de extrato na cultivar Lívia. Esta constatação torna as folhas das cultivares de *I. batatas* desenvolvidas para produção industrial de etanol como uma fonte potencial deste composto. Estudos *in vitro* desenvolvidos com o ácido elágico obtido de outras espécies botânicas têm demonstrado diversas funções biológicas para este composto, como a capacidade de prevenir estresses oxidativos, supressão da leucemia, inibição do crescimento de bactérias patogênicas humanas, atividade antiúlcera, potencial antiaterogênico entre outras (ANDERSON et al., 2001, MEYER et al., 1998; SILVA-JR et al., 2010; ABE et al., 2010; TAMASHIRO-FILHO et al., 2012; ISMAIL et al., 2012)

Os flavonoides identificados cromatograficamente nas folhas das dez cultivares estudadas foram naringina (tempo: 5,2), rutina (tempo: 5,5), miricetina (tempo: 7,2), morina (tempo: 8,9), quercetina (tempo: 11,2), (+/-)-naringenina (tempo: 12,1) e luteolina (tempo: 13,4). Em todos os extratos, exceto o da cultivar Amanda, a rutina apresentou-se como o pico majoritário, e variou de 40,841 µg/mg na cultivar Beatriz a 86,250 µg/mg cultivar Izabela. O flavonoide luteolina foi detectado somente nas cultivares Lívia, Julia, Izabela, Carolina Vitória, Beatriz e Amanda.

A detecção de todos estes flavonoides nas cultivares de *Ipomoea batatas* reforçam a idéia de outros autores, que têm investigado a utilização das folhas destas plantas como uma 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, estes dados também reforçam a idéia de uma possível utilização farmacológica dos extratos dessas folhas, pois varias pesquisas reportam o efeito dos flavonoides para cura de doenças como pneumonia, câncer, disenteria amebiana, infestações por vermes entre outras (SHOHAIB et al., 2011). É provável que pesquisas futuras possam viabilizar a incorporação de compostos isolados ou até mesmo o extrato das folhas de *I. batatas* em produtos alimentícios ou rações visando evitar a oxidação e conferir propriedades nutraceuticas, o que poderá se constituir uma excelente alternativa em relação a antioxidantes sintéticos, além de poder agregar valor ao cultivo da batata-doce.

A detecção dessa diversidade de flavonoides nas cultivares de *I. batatas* reforçam a idéia de outros autores, que têm investigado a utilização das folhas destas plantas como uma 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). Varias pesquisas reportam também o efeito dos flavonoides para cura de doenças como pneumonia, câncer, disenteria amebiana, infestações por vermes entre outras (SHOHAIB et al., 2011; ISLAM, 2006). É provável que pesquisas futuras possam viabilizar a incorporação de compostos isolados ou até mesmo o extrato das folhas de *I. batatas* em produtos alimentícios ou rações visando evitar a oxidação e conferir propriedades nutraceuticas, o que poderá se constituir uma excelente alternativa em relação a antioxidantes sintéticos, além de poder agregar valor ao cultivo da batata-doce.

Tabela 14 – Principais compostos fenólicos identificados por CLAE nos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas, utilizando um método isocrático com fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45 v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Tempo de detecção em minutos e quantificação em micrograma de composto por miligrama de extrato seco (µg/mg).

Compostos	Tempo de detecção	Cultivares									
		Julia	Lívia	Izabela	Amanda	C. Vitória	Duda	Marcela	Beatriz	Ana Clara	Bárbara
Naringina	5,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rutina	5,4	78.069	77.577	86.250	46.205	55.245	44.946	80.362	40.841	71.199	56.723
Ácid. elágico	7,0	18.011	29.821	13.890	13.981	1.205	10.727	21.759	9.697	6.822	4.010
Miricetina	7,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morina	8,9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Quercetina	11,3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(+/-)-naringenina	12,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luteolina	13,4	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-

(+) presente, mas não quantificado; (-): não detectado.

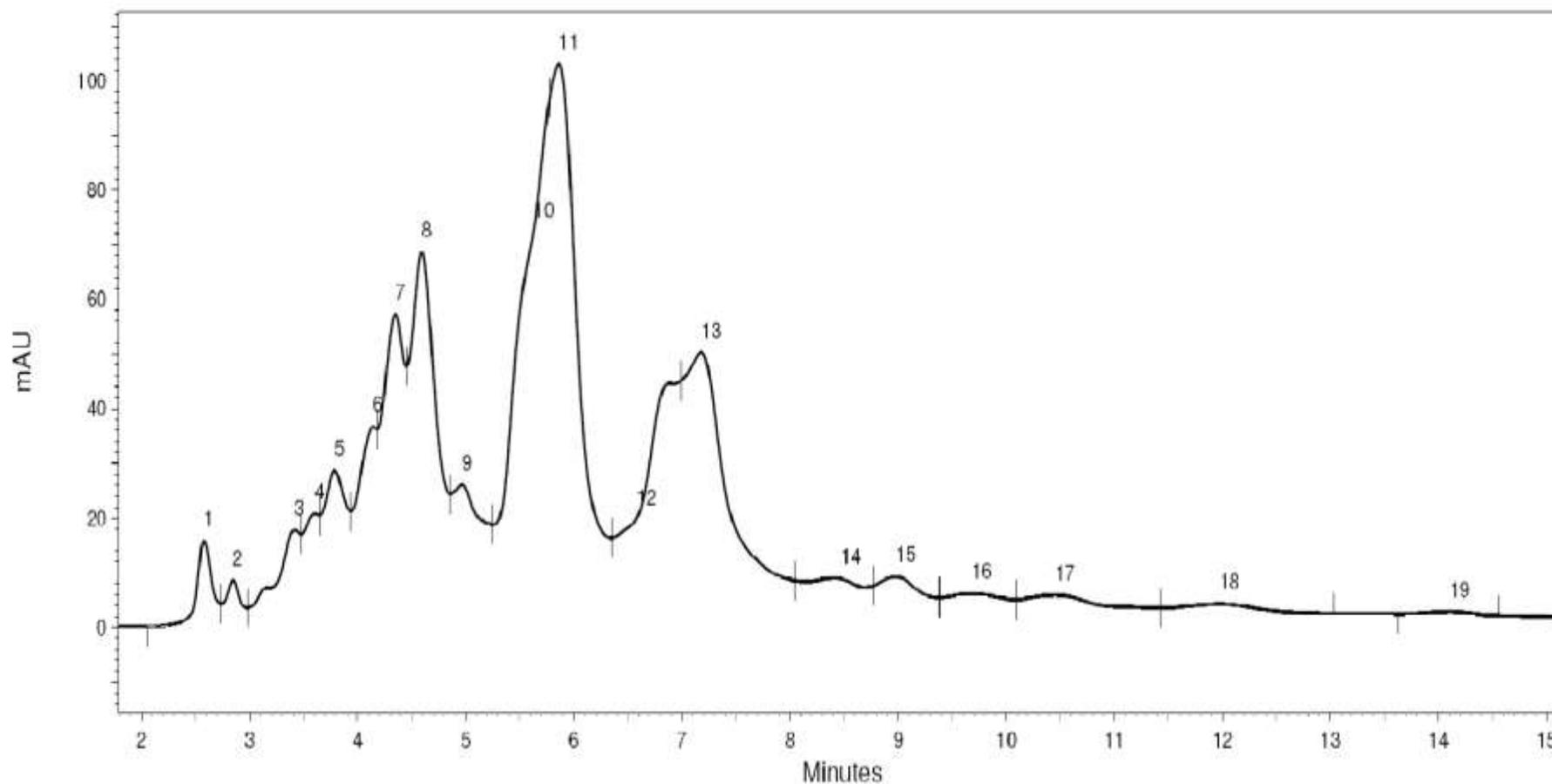


Figura 36 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Júlia, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12: ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina; 19: luteolina.

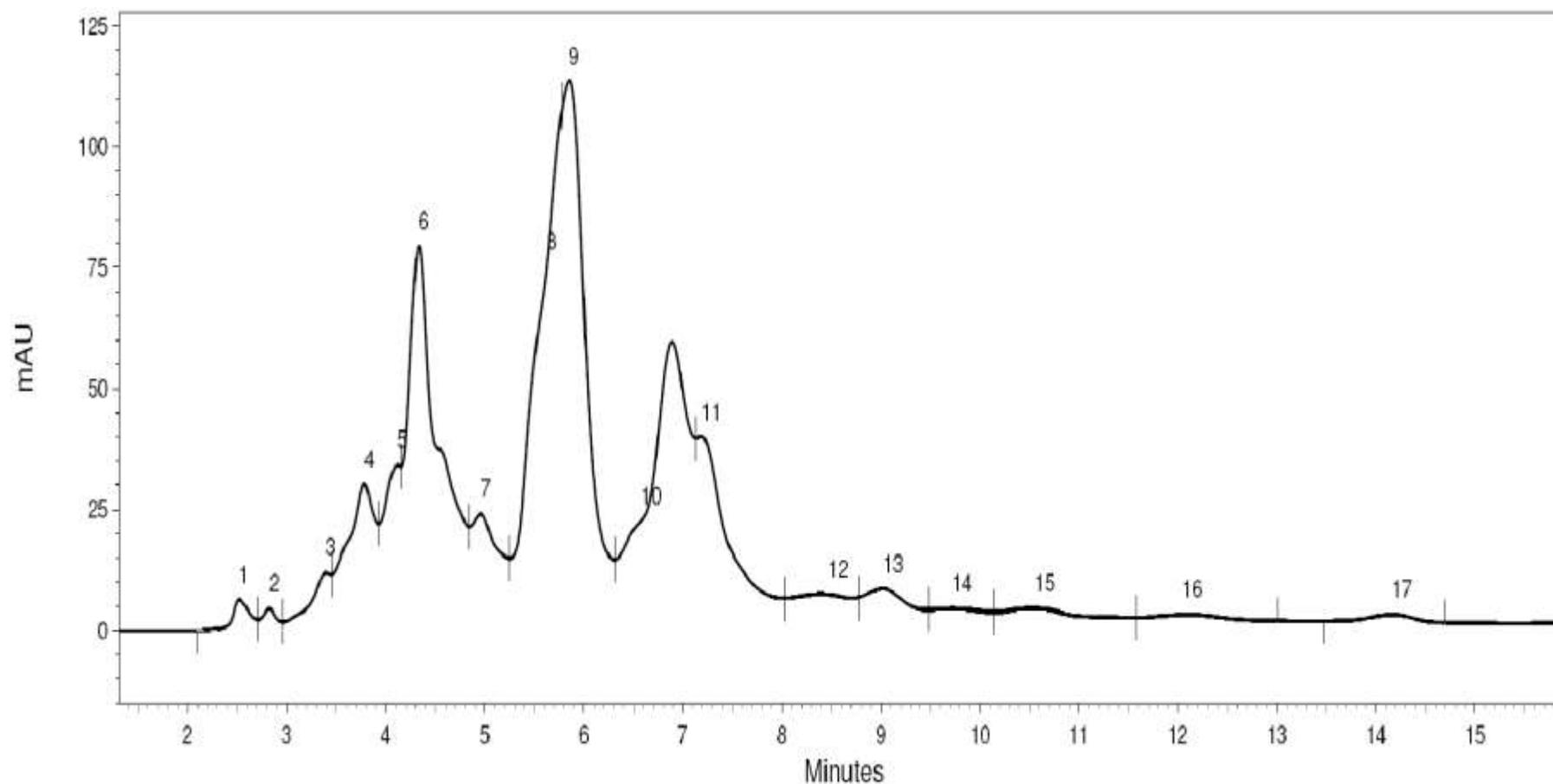


Figura 37 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Lívia, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina; 17: luteolina.

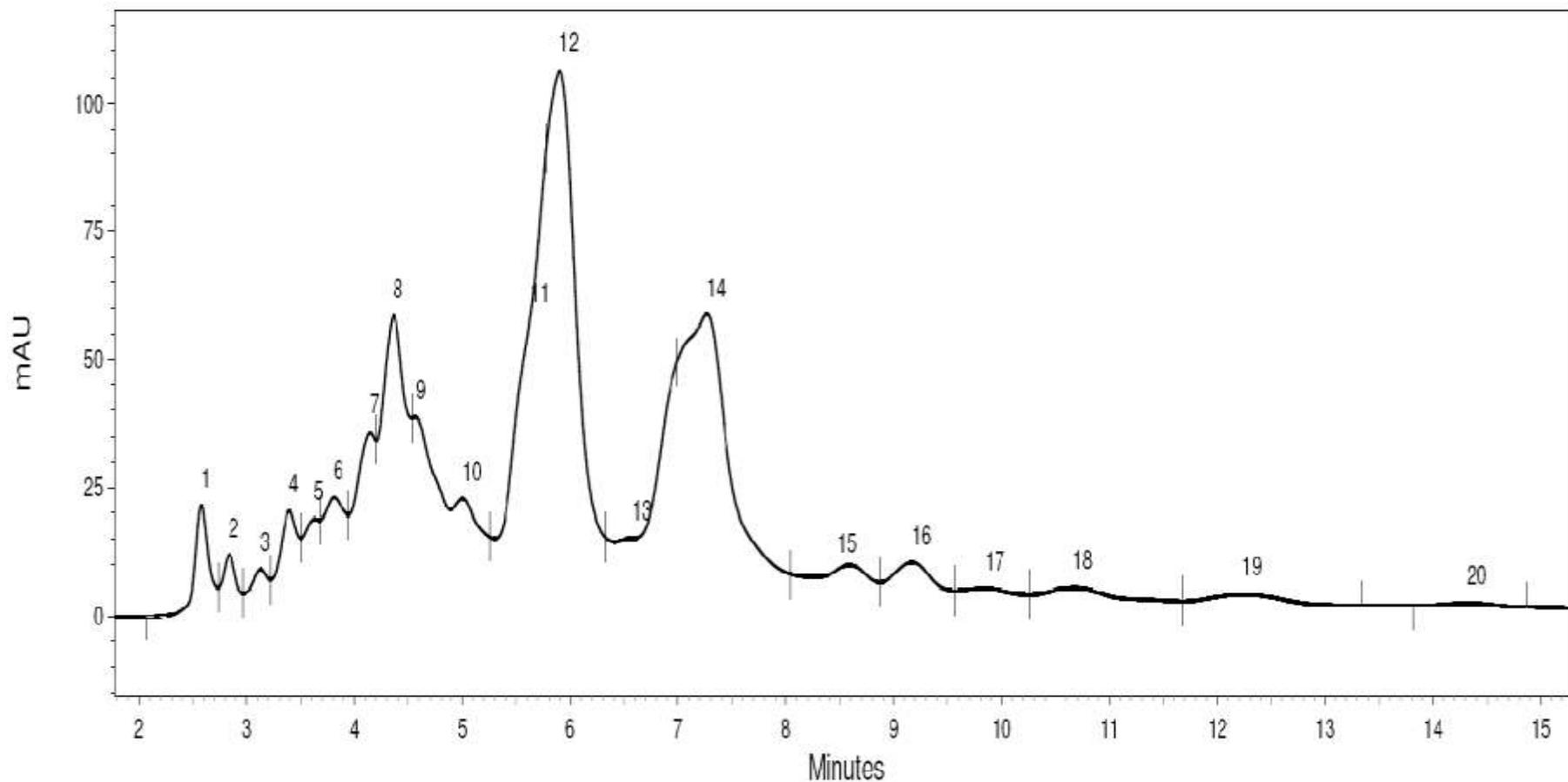


Figura 38 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Izabela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água 55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 11: naringina; 12: rutina; 13: ácido elágico; 14: miricetina; 15: morina; 18: quercetina; 19: (+/-)-naringenina; 20: luteolina.

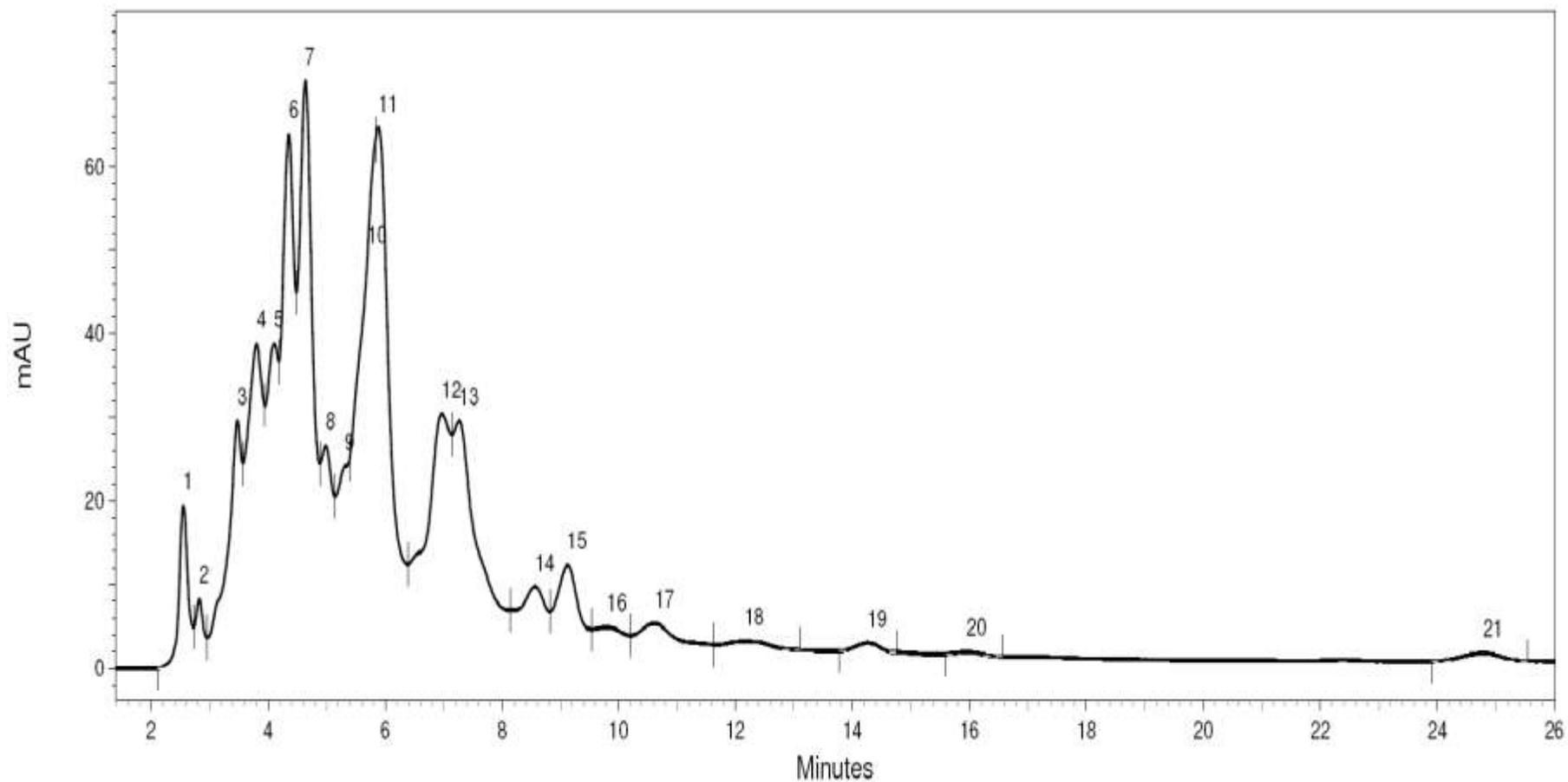


Figura 39 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12: ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina; 19: luteolina.

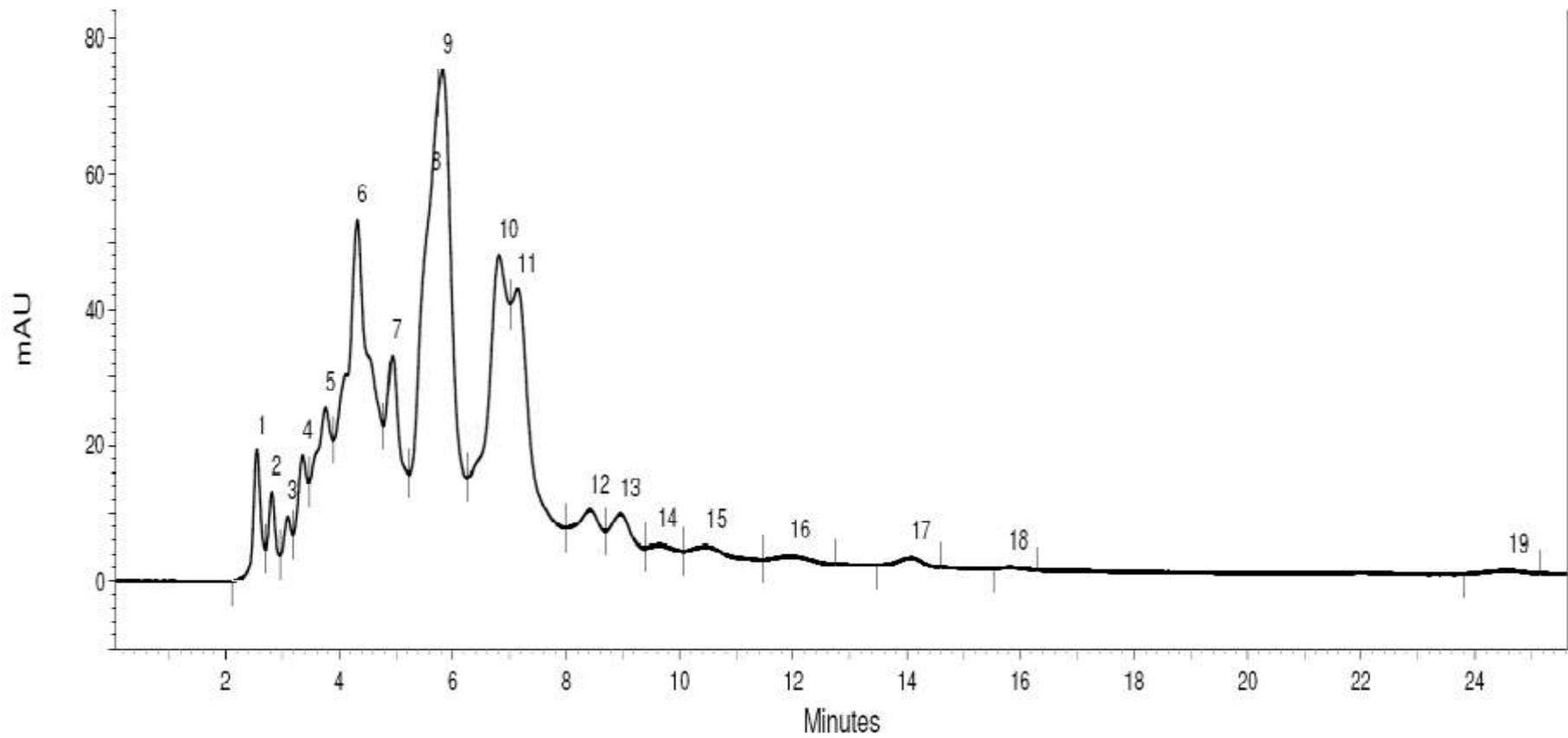


Figura 40 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Carolina Vitória, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina; 17: luteolina.

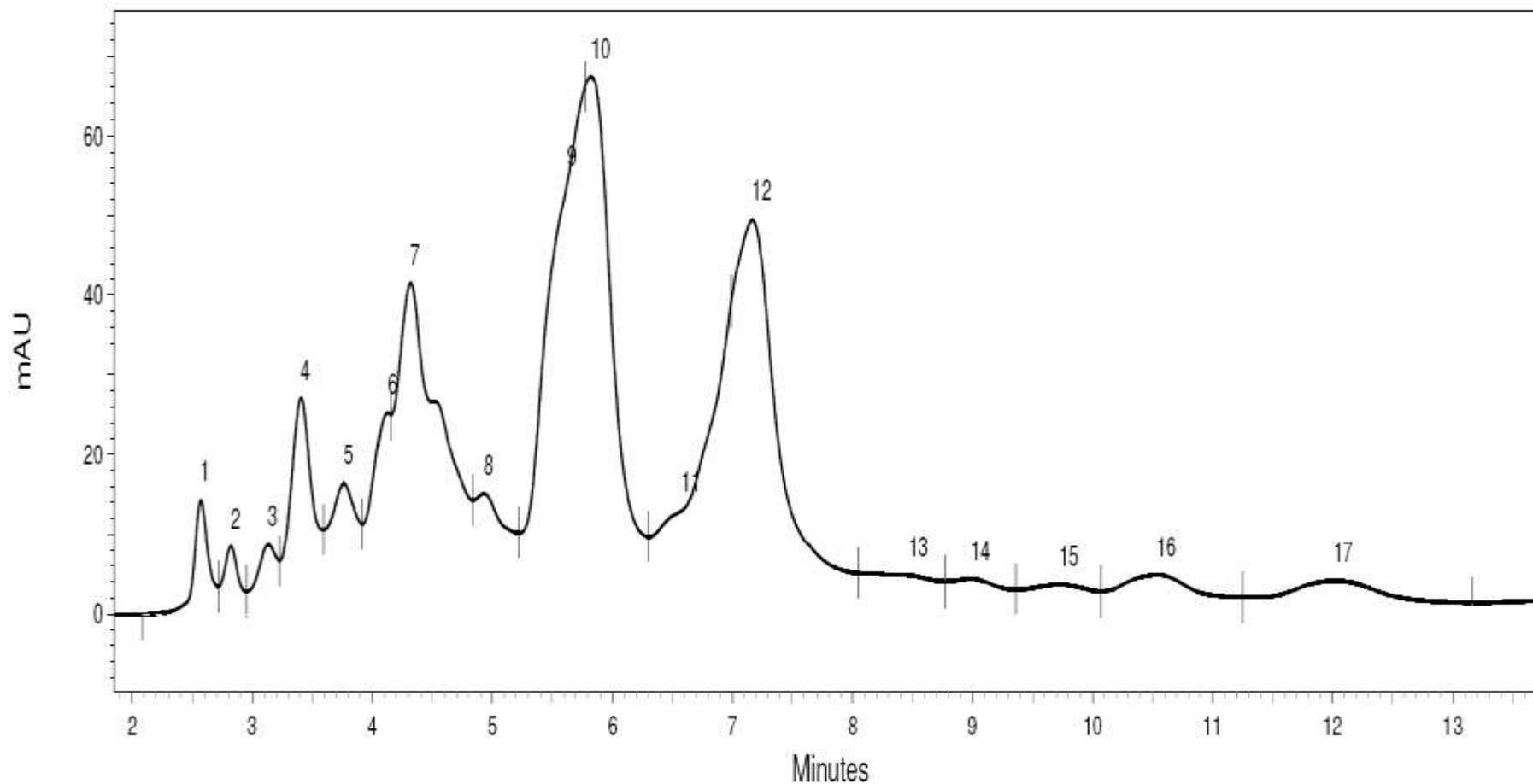


Figura 41 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 9: naringina; 10: rutina; 11: ácido elágico; 12: miricetina; 13: morina; 16: quercetina; 17: (+/-)-naringenina.

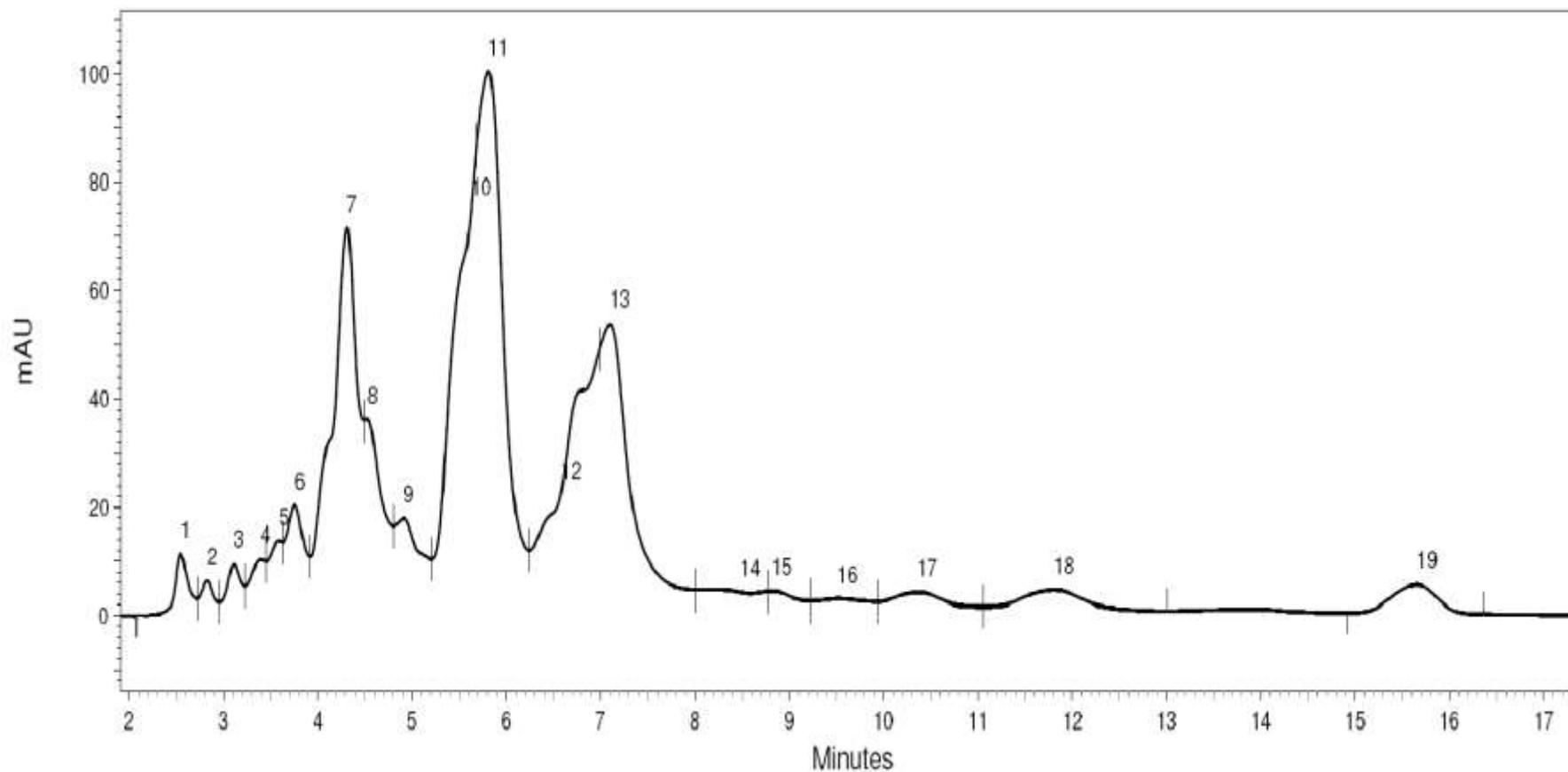


Figura 42 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12: ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina.

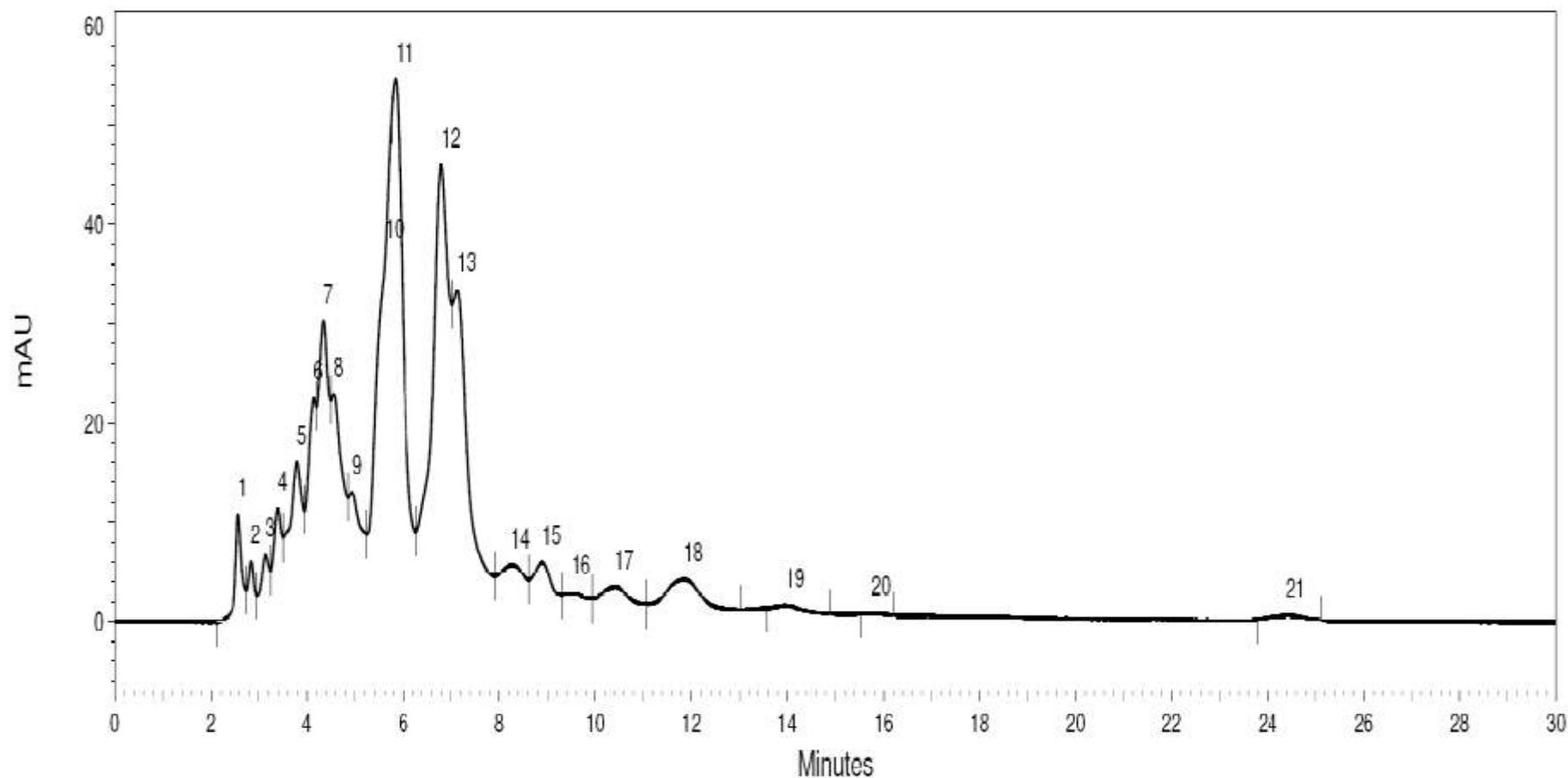


Figura 43 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Beatriz, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 10: naringina; 11: rutina; 12: ácido elágico; 13: miricetina; 14: morina; 17: quercetina; 18: (+/-)-naringenina; 19: luteolina.

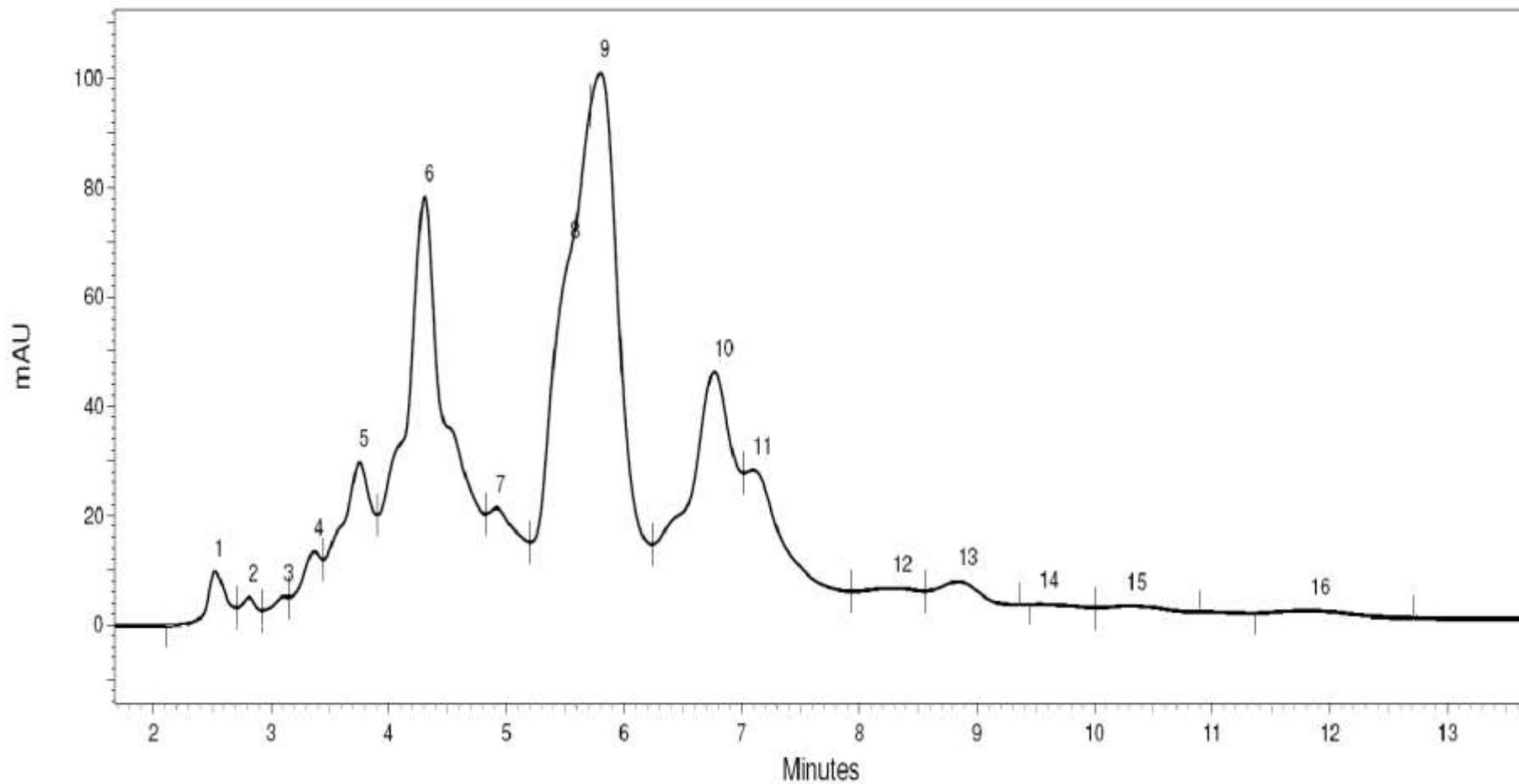


Figura 44 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Ana Clara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina.

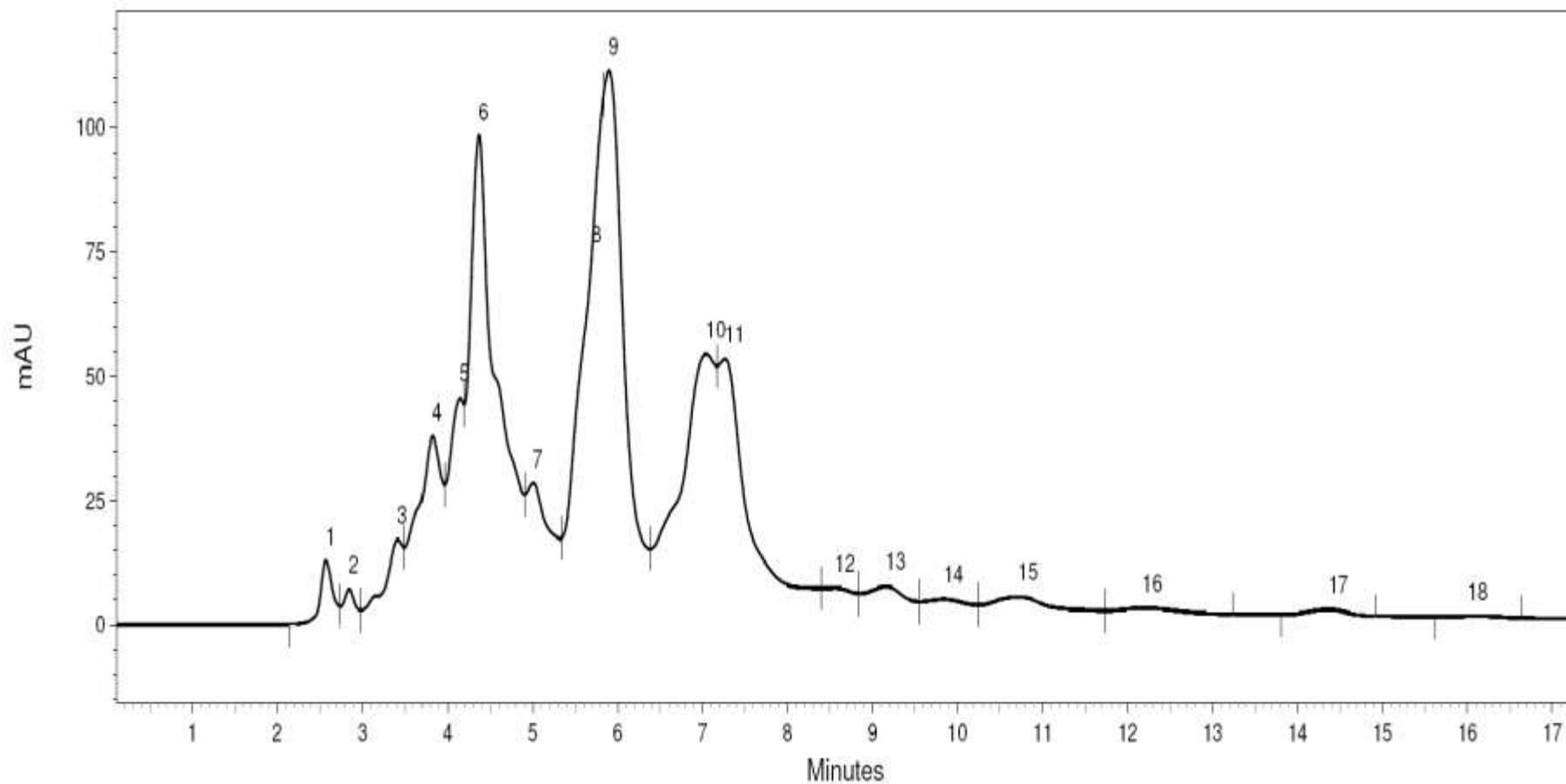


Figura 45 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Bárbara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída]

a de 0,1 % de ácido fórmico em metanol/água (55:45, v/v), fluxo 0,8 mL/min., temperatura 40° C, detecção a 280 nm. Pico 8: naringina; 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina.

A exploração de matérias primas de baixo custo é um fator determinante para o sucesso de qualquer sistema industrial. Atualmente a estratégia mais promissora neste sentido é o aproveitamento de resíduos. A utilização das folhas de *I. batatas* como fonte de antioxidantes naturais ou outros produtos bioativos se encaixa perfeitamente nestes princípios, pois pode agregar valores a produção de bicompostíveis e tornar a produção de etanol amiláceo competitivo e sustentável em relação as outras fontes atualmente mais viáveis economicamente. A observação da matriz de compostos presentes nas folhas das cultivares de *I. batatas* desenvolvidas pelo LASPER/UFT para a indústria de etanol, corrobora com a idéia de aproveitamento integral e sustentável deste recurso vegetal.

Pelas análises dos *fingerprints*, obtidos no sistema isocrático constituído da fase móvel metanol/água/ácido acético glacial (1:10:1 v/v/v) foi possível detectar a presença de constituintes fenólicos bem relatados pela literatura (BOUDET, 2007). A comparação entre os tempos de retenção dos picos das amostras com os picos dos padrões autênticos permitiu identificar o ácido gálico (tempo 5,0), a (-)-galocatequina (tempo 6,0) e a (+)-catequina (tempo 13,9) (Figura 42 a 51). Pela determinação de concentração da catequina, foi possível verificar que estes compostos apresentam-se em concentrações variáveis nas cultivares de *I. batatas* estudadas, variando de 0,58 µg/mg na cultivar Izabela a 11,66 na cultivar Julia (Tabela 15). As atividades biológicas destes compostos têm sido intensamente investigadas e significativos resultados positivos obtidos em diversos trabalhos demonstram seu potencial para ser utilizado na indústria alimentar e na agricultura (SUGITA-KONISHI et al., 1999; BOUDET, 2007; LEWIS et al., 2008; PRASADA et al., 2009).

Tabela 15 – Principais compostos fenólicos identificados por CLAE nos extratos das cultivares de *I. batatas* estudadas, utilizando um método isocrático constituído da fase móvel metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1 v/v). Tempo de detecção em minutos e quantificação em micrograma de composto por miligrama de extrato seco (µg/mg).

Compostos	Tempo	Cultivares									
		Jul.	Lív.	Izab.	Am.	C. Vit.	Dud.	Mar.	Beat.	A.Cl.	Barb.
Ácido gálico		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(-)-galocatequina		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(+)-catequina		11,661	4,909	0,582	1,209	1,561	+	4,779	+	5,111	5,589

(+) presente, mas não quantificado.

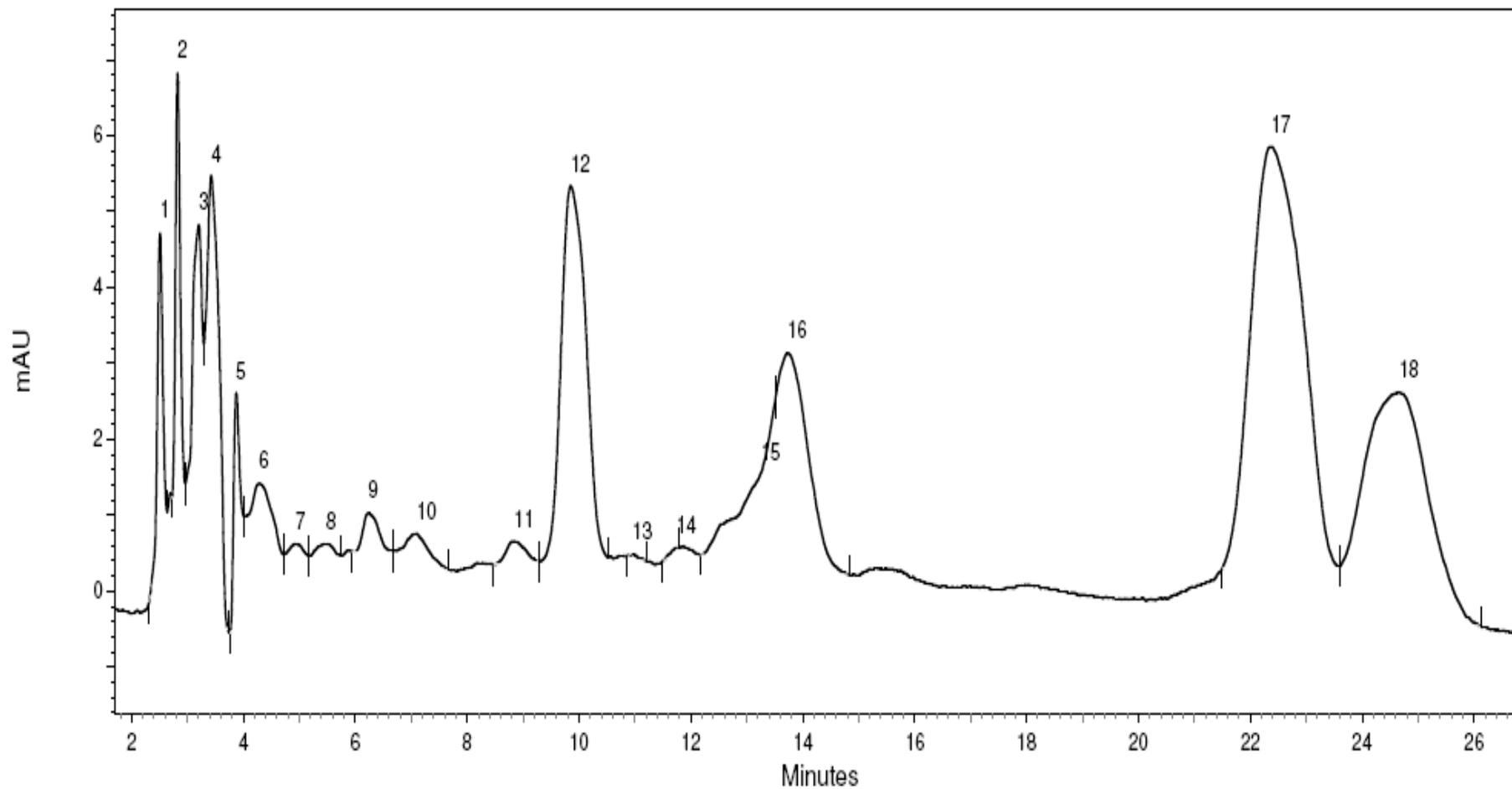


Figura 46 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Júlia, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 16: (+)-catequina.

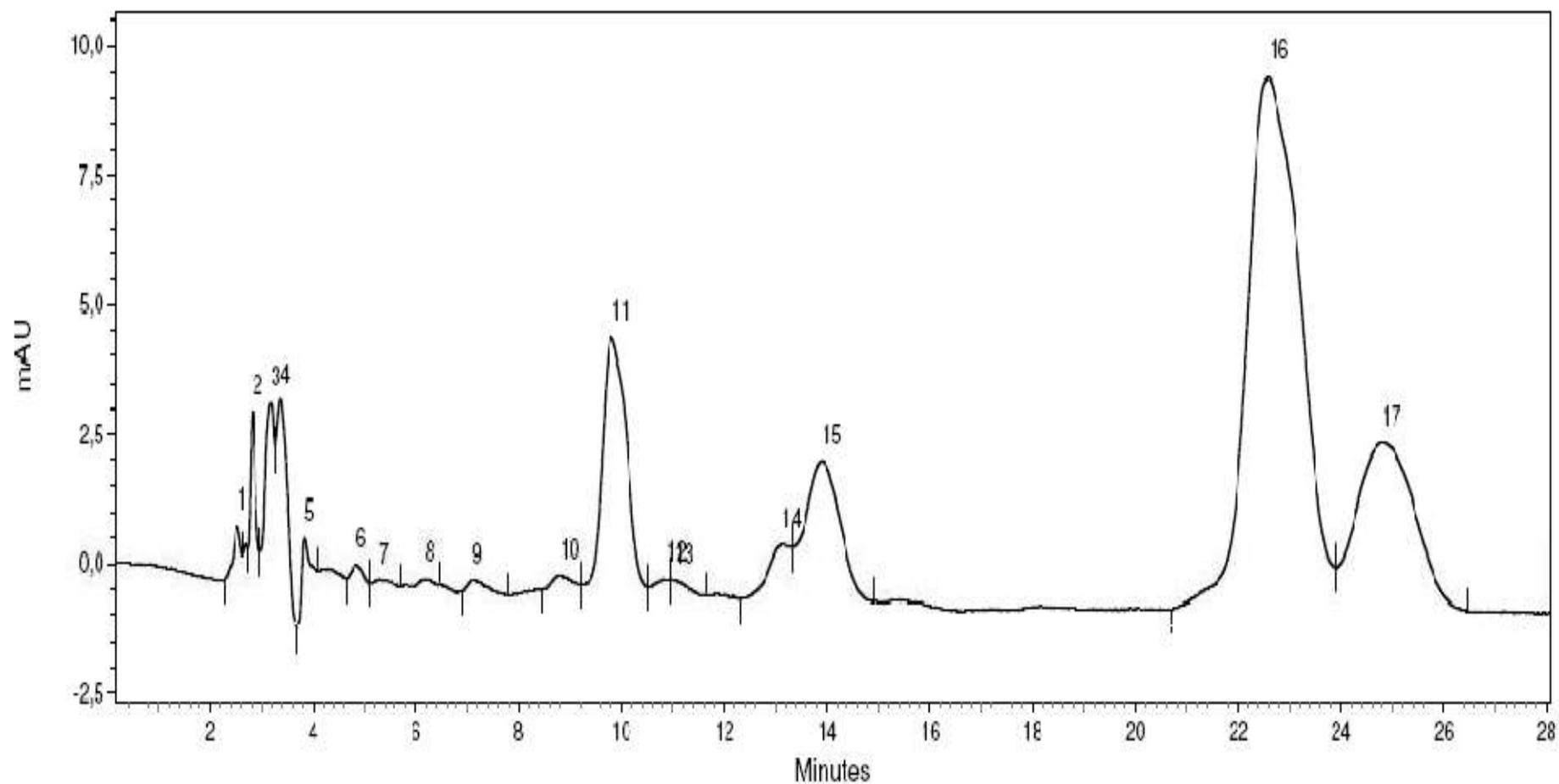


Figura 47 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Lívia, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 6: ácido gálico; 8: (-)-galocatequina; 15: (+)-catequina.

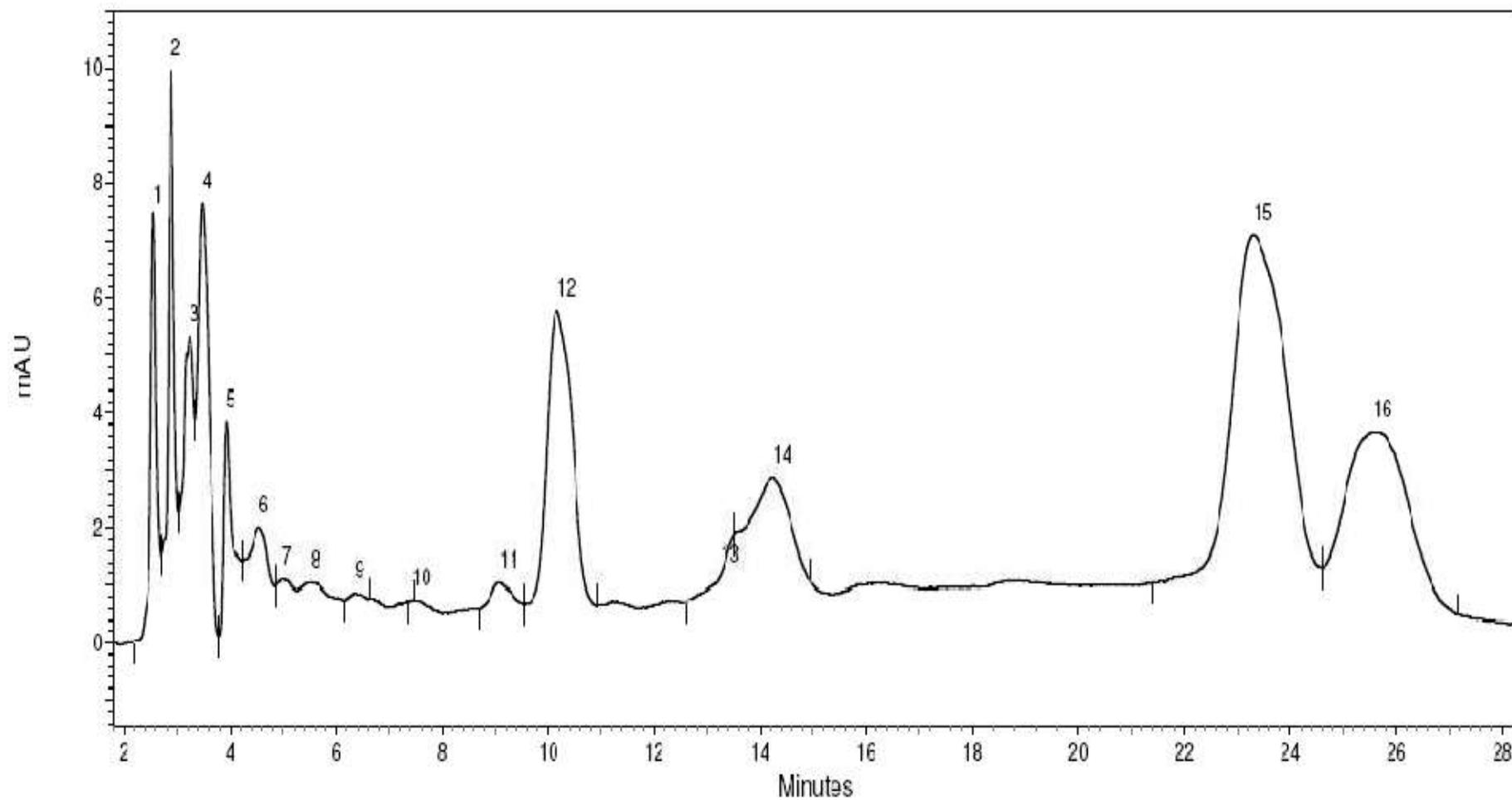


Figura 48 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Izabela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metano/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina.

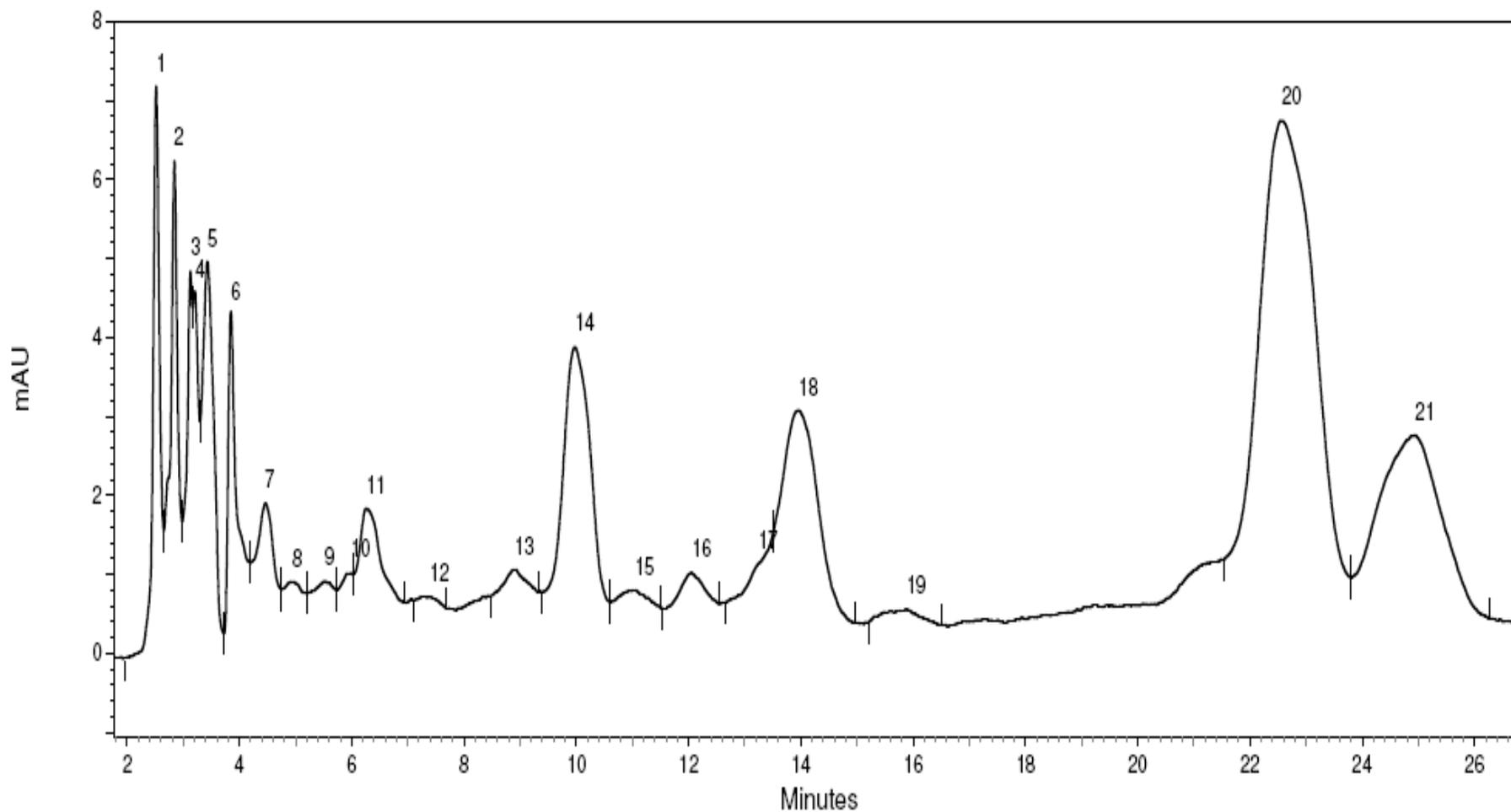


Figura 49 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Amanda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metano/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 8: ácido gálico; 10: (-)-galocatequina; 18: (+)-catequina.

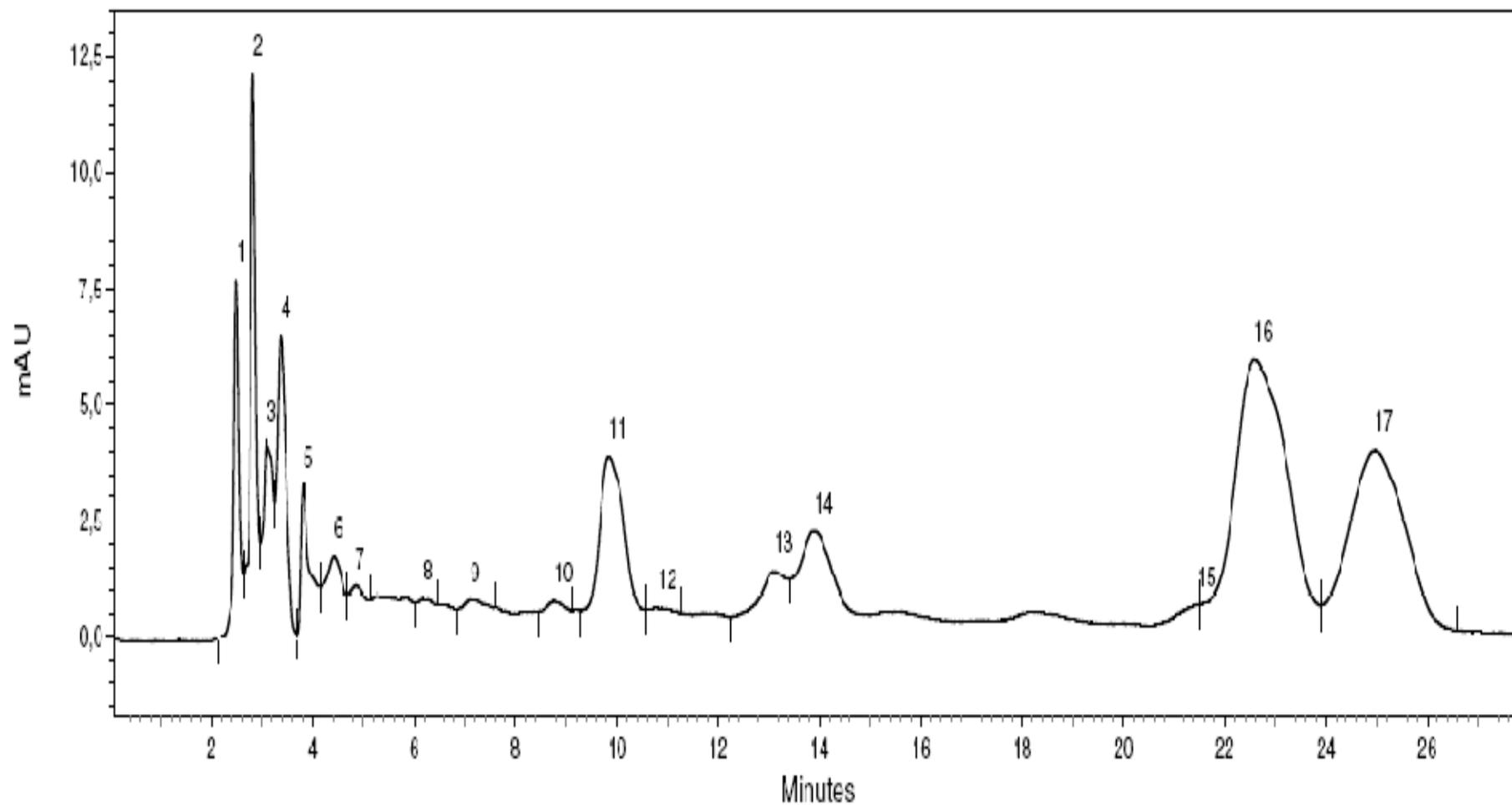


Figura 50 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Carolina Vitória, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 8: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina.

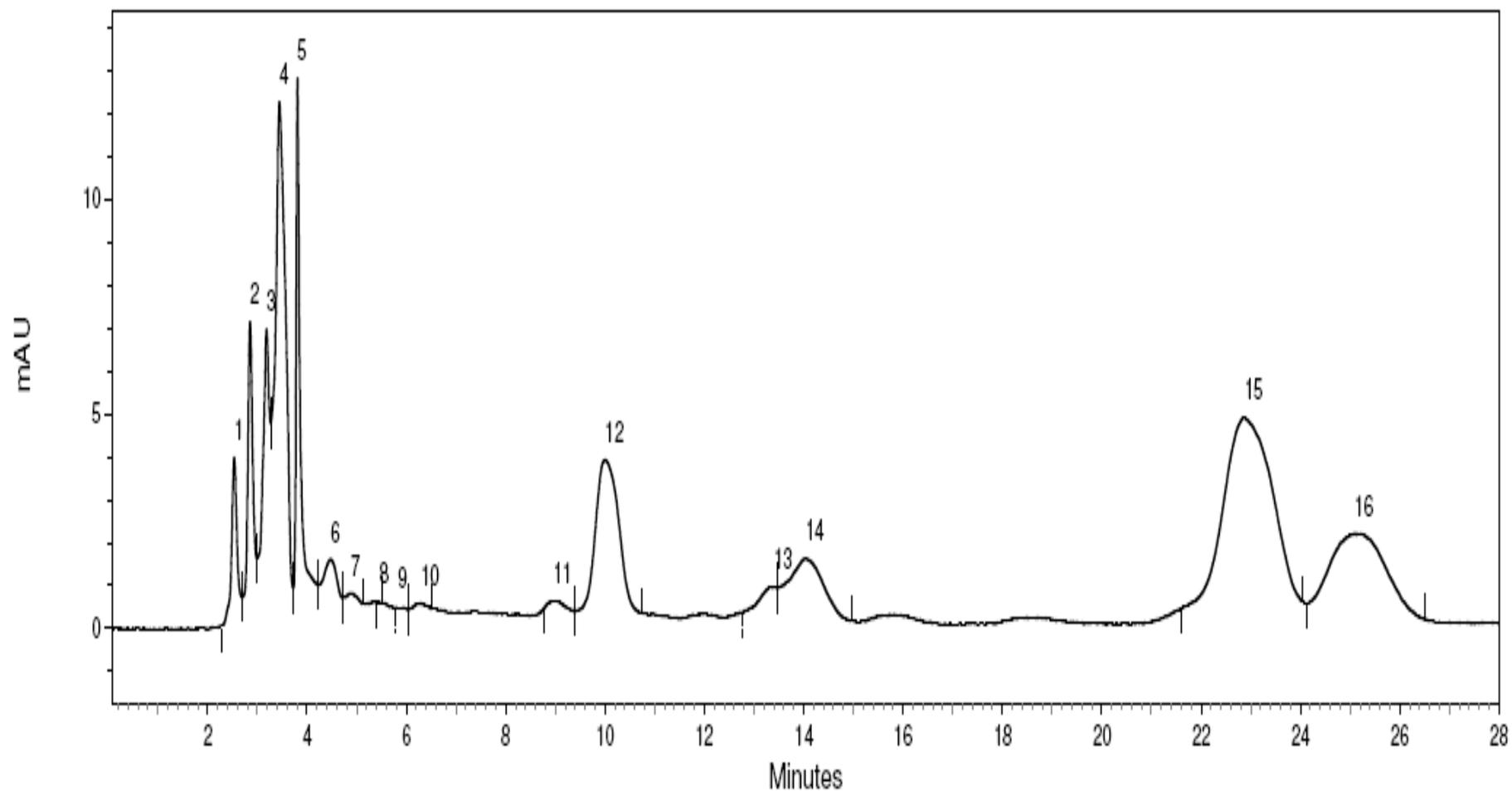


Figura 51 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Duda, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina.

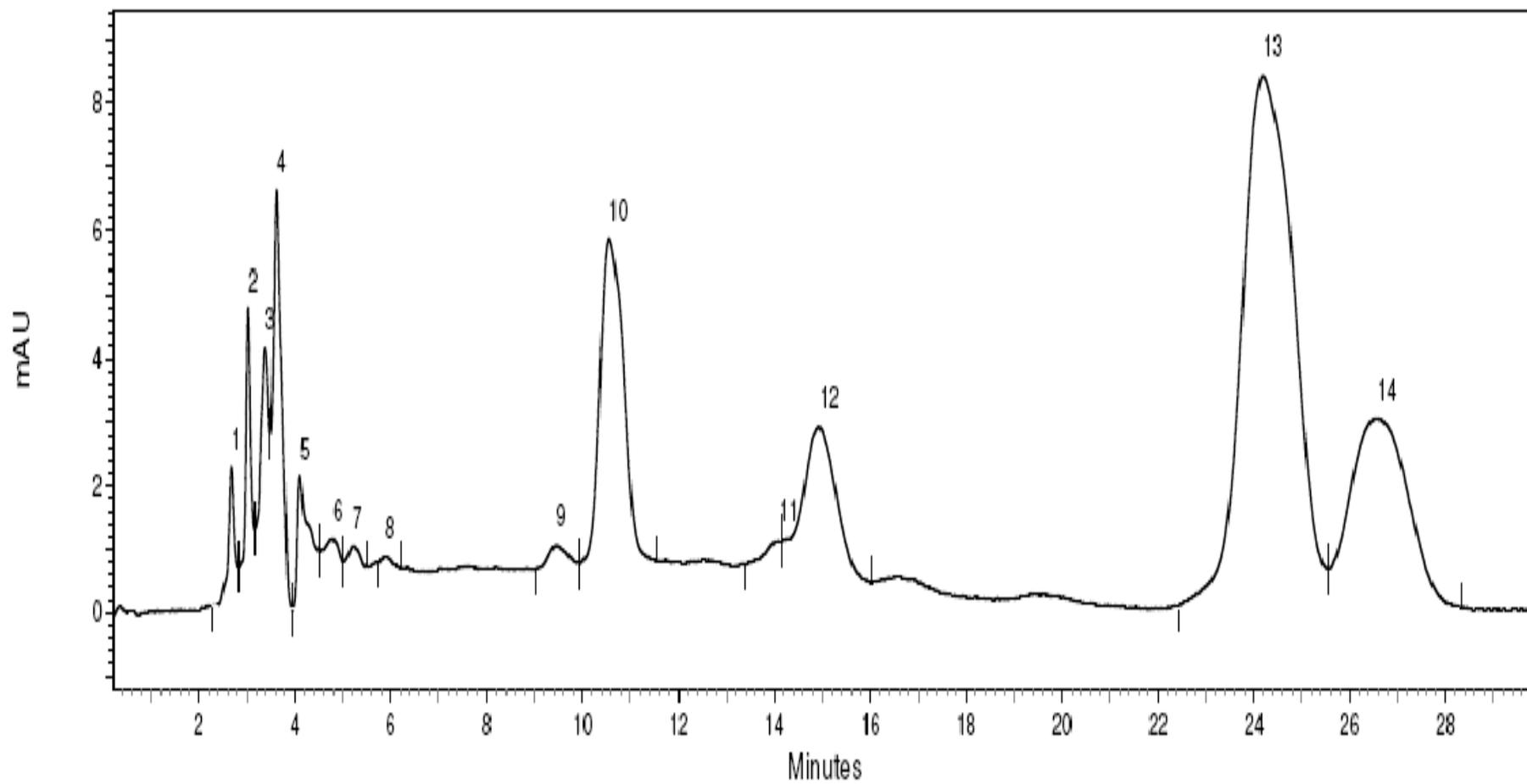


Figura 52 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Marcela, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 6: ácido gálico; 8: (-)-galocatequina; 12: (+)-catequina.

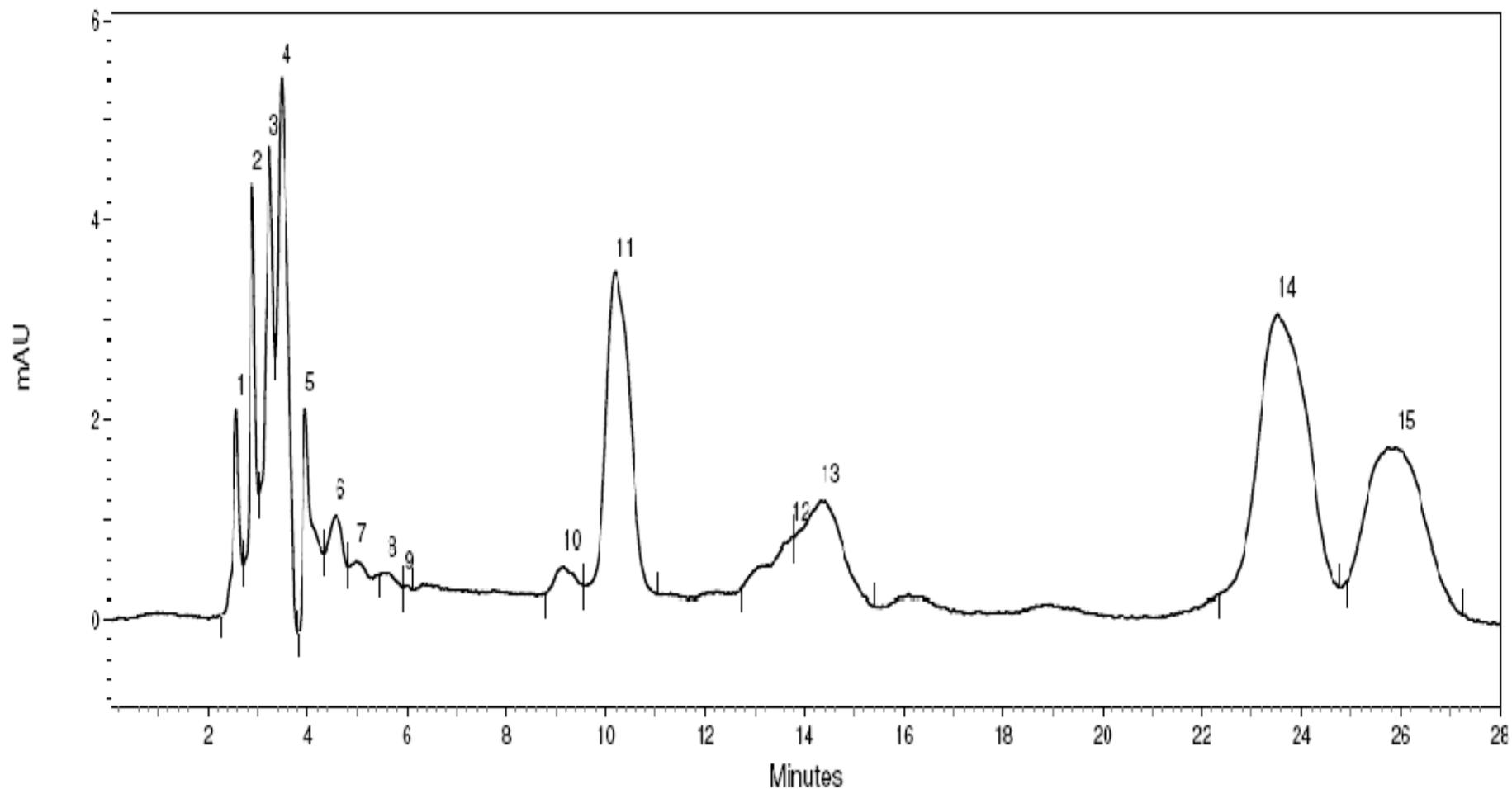


Figura 53 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Beatriz, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 7: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 13: (+)-catequina.

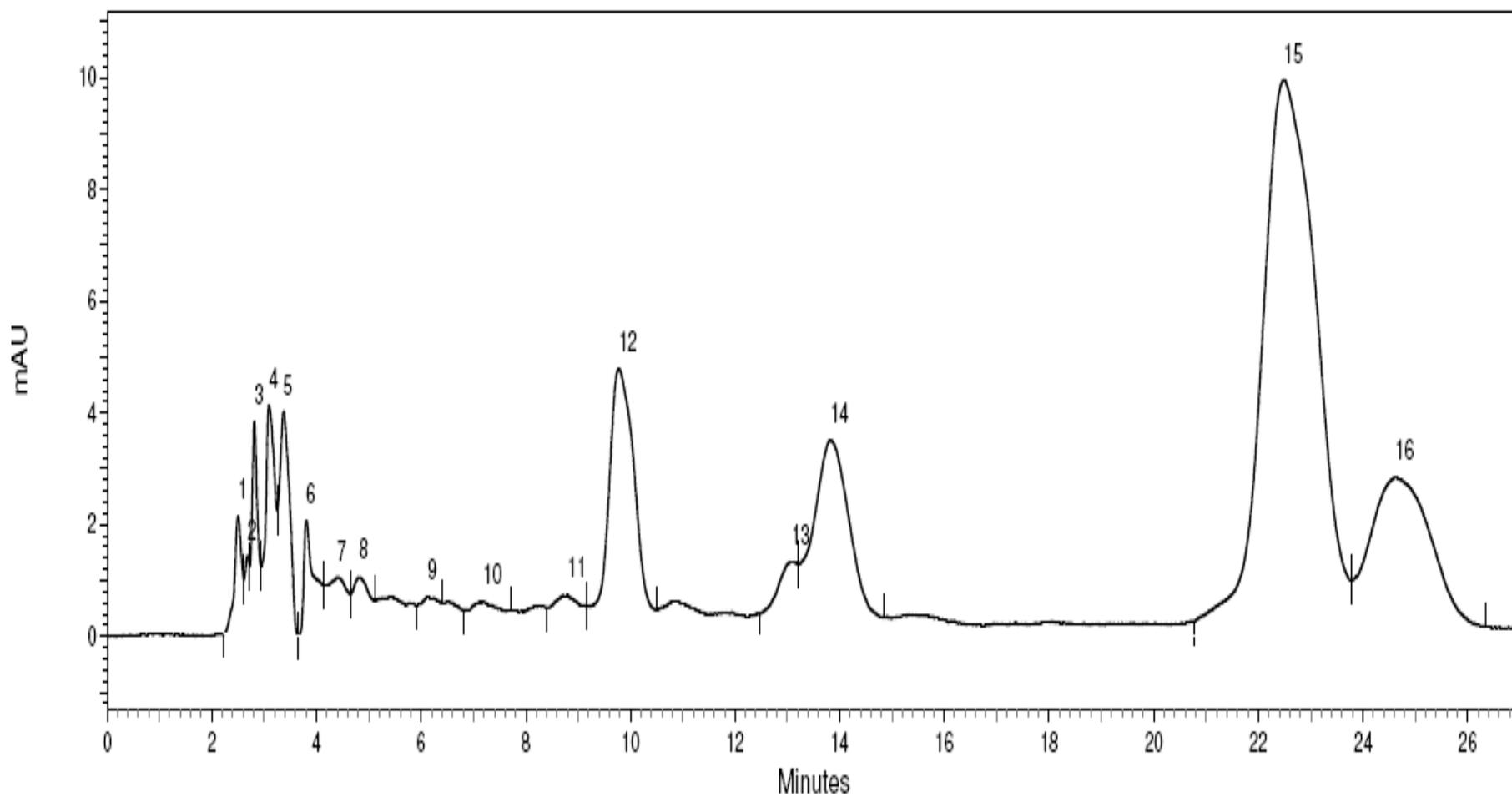


Figura 54 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Ana Clara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 8: ácido gálico; 9: (-)-galocatequina; 14: (+)-catequina.

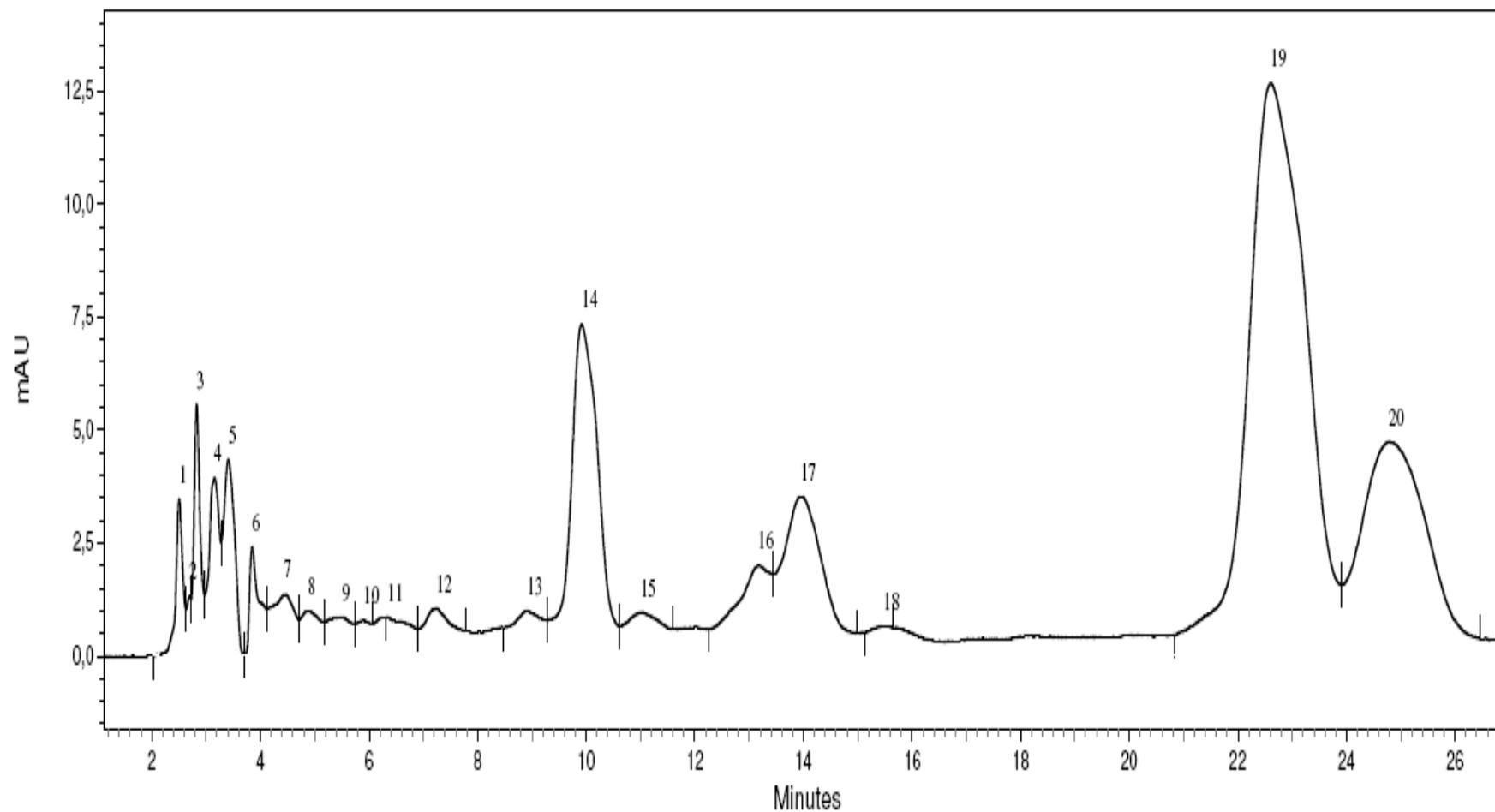


Figura 55 – Cromatograma do extrato hidroetanólico das folhas da cultivar Bárbara, obtido na separação por CLAE/ UV-VIS em método isocrático utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm), fase móvel constituída de metanol/água/ácido acético glacial (1:18:1, v/v), fluxo 1 mL/min., temperatura 40°C, detecção a 280 nm. Pico 8: ácido gálico; 10: (-)-galocatequina; 17: (+)-catequina.

6. CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos pela quantificação de compostos fenólicos totais determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, flavonoides totais pela reação com cloreto de alumínio e atividade antioxidante pelos métodos FRAP e DPPH demonstram que as folhas da maioria das cultivares de *I. batatas* desenvolvidas pelo LASPER/UFT para produção industrial de etanol apresentam boa atividade antioxidante, e que as principais substâncias bioativas para tal papel biológico nos extratos são os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, fato que demonstra o grande potencial destas partes da planta como fonte de antioxidantes naturais.
- A avaliação das correlações existentes entre a presença de compostos fenólicos, flavonoides, atividade antioxidante, atividade quelante e produtividade poderá subsidiar maiores estudos visando melhoramento da cultura da batata-doce, pois tais aspectos encontram-se fortemente correlacionados nas cultivares estudadas.
- A alta atividade quelante apresentada pelas cultivares mais produtoras de raízes por área plantada em relação às demais plantas estudadas sugere que as cultivares de *I. batatas* desenvolvidas pelo LASPER/UFT para produção industrial de etanol utiliza diferentes mecanismos de defesa aos danos oxidativos.
- Considerando que as folhas das cultivares de *I. batatas* desenvolvidas para produção industrial de etanol pela equipe do LASPER/UFT se constituem um resíduo agroenergético abundante, pode se concluir pelos estudos fitoquímicos realizados, que existe potencial de utilização dos compostos fenólicos destas partes da planta, como opção de diversificação de produtos derivados desta cultura, o que contribuirá para o seu fortalecimento na competitividade em relação a cultura de outras plantas mais comuns na produção de etanol.

- A constatação do ácido elágico nas folhas das cultivares estudadas contribui significativamente com a ideia de aproveitamento das partes aéreas desta planta para fins farmacológicos.
- A caracterização e quantificação individual realizada por CLAE permitiu a identificação do ácido gálico, ácido elágico, (-)-galocatequina, (+)-catequina, rutina, quercetina, naringina, (+/-)-naringenina, miricetina, morina e luteolina, e revelou que os constituintes fenólicos nos extratos das folhas das variedades de *I. batatas* desenvolvidas pelo LASPER/UFT para produção industrial de etanol constituem uma matriz complexa de compostos. Desta forma, estas partes da planta se tornam atraente para contínuas pesquisas e talvez futura aplicação na medicina.
- O aproveitamento integral da batata-doce, por conciliação da produção de bioetanol com a futura obtenção de antioxidantes naturais e produtos farmacológicos, poderá não só aumentar sua competitividade em relação a outras culturas, mas também, fortalecer a produção de biocombustíveis à medida que promoverá uma transformação cada vez mais eficiente da biomassa pela obtenção de compostos químicos em proporções semelhantes ao petróleo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M. J.; BERMEJO, P. BIOACTIVE NATURAL PRODUCTS FROM MARINE SOURCES. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 25, p. 683- 755, 2001.

ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. **Ciênc. Tecnol. Aliment. [online]**., v. 30, p. 254- 259. 2010.

AGATI, G.; AZZARELLO, E.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196 p. 67- 76, 2012.

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.

ANDERSON, K. J.; TEUBER, S. S.; GOBEILLE, A.; CREMIN, P.; Waterhouse, A. L.; Steinberg, F. M. Walnut Polyphenolics Inhibit In Vitro Human Plasma and LDL Oxidation. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 2837- 2842, 2001.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 01- 09, 2007.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G. Panagiotis KefalasTea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27- 36, 2005.

AYOOLA, G. A.; COKER, H. A. B.; ADESEGUN, S. A.; ADEPOJU-BELLO, A. A.; OBAWEYA, K.; EZENNIA, E. C.; ATANGBAYILA, T. O. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. **Tropical Journal of Pharmaceutical**, 2008, v. 7, n. 3, p. 1019- 1024, 2008.

BARBOSA, W. L. R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, p. 1- 19, 2004.

BENNET, R. N.; WALLSGROVE, R.M. Secondary metabolites in plant defense mechanisms. **New Phytologist**, v.127, n. 4, p. 617- 633, 1994.

BENNICK, A. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.** V.13, n. 2, p. 184- 196, 2002.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 0292, p. 70- 76, 1996.

BEVILAQUA, D. B. **Produção ácido Levulínico, Por Meio de Hidrólise Ácida da Casca de Arroz**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2010.

BOUDET, A. M. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2722- 2735, 2007.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, v. 28, p. 25- 30. 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n.11, p. 317-333, 1998.

BROWN, R. C. **Biorenewable Resources: Engineering New Products From Agriculture**. Iowa State Press, 2003, 286 p.

CANGEMI, J. M.; SANTOS, A. M.; CLARO-NETO, S. A Revolução Verde da Mamona. **QUÍMICA NOVA NA ESCOLA**. v. 32, n. 1, 2010.

CARNEIRO, A. C.; VITAL, B. R.; FREDERICO P. G. U.; CARVALHO, A. M. M. L.; VIDAURRE, G. B. Propriedades de chapas de aglomerado fabricadas com adesivo tânico de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) e uréia-formadeído. **Rev. Árvore**, v. 33, n. 3, p. 521-531, 2009.

CARTEA, M. E.; FRANCISCO, M.; SOENGAS, P.; VELASCO, P. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. **Molecules**, v. 16, p. 25- 280, 2011.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. In: **SIMÕES, C. M. O et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora da UFSC, 2003. p. 520- 535.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco, 2004, 113 p.

CAMPBELL, M. J. **Statistics at Square One** (1997). Disponível em: <<http://www.bmj.com/about-bmj/resources-readers/publications/statistics-square-one>>. Acesso em 25 de maio de 2012.

CHAUDIEÁRE, J.; FERRARI-ILIOU, R. Intracellular Antioxidants: from Chemical to Biochemical Mechanisms, **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, p. 949- 962, 1999.

CHEMLER, J. A.; KOFFAS, M. A. G. Metabolic engineering for plant natural product biosynthesis in microbes, **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, p. 597- 605, 2008.

CHEW, Y.L.; GOH, J.K.; LIM, Y.Y. Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. **Food Chemistry**, v. 116, p.13- 18, 2009.

CHING, W. C.; RODRIGUES, C. W. **Biodiesel**. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas- SEBRAE. Brasília – DF, 2007.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids- Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Nutritional Biochemistry**, v. 7, p. 66- 76, 1996.

CROTEAU, R.; KUTCHA, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan, B. et al. (eds.). **Biochemistry & Molecular biology of Plants**. Rockville, American Society of Plant Physiologists, 2000, p. 1250- 1317.

DIXON, R. A. Engineering of plant natural product pathways. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 8, p. 329-336, 2005.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, London, v. 411, p. 843- 847, 2001.

DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T. T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G.; SANTOS, A. F.; NAGEM, T. J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n. 3, p. 241- 249, 2007.

EDSON, S.; HEGDE, V.; MAKESHKUMAR, T.; SRINIVAS, T.; SUJA, G.; PADMAJA, G. sweetpotato in the Indian sub-continent. In: LOEBENSTEIN, G.; THOTTAPPILLY, G. ed. **The sweetpotato**. Springer, Heidelberg, Germany, 2009. p. 391- 414.

ESENPINAR, A. A.; DURMAZ, E.; KARACA, F.; BULUT, M. Synthesis and characterization of metallo phthalocyanines bearing 7-oxy-3-(4-pyridyl)coumarin substituents and their supramolecular structures with vanadyl bis(acetylacetonate). **Polyhedron**, v. 38, p. 267- 274, 2012.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução a análise fitoquímica. In: **SIMÕES, C. M. O et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / editora da UFSC, 2003, p. 229- 245.

FERRO, D. **Fitoterapia: Conceitos Clínicos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2006, 502 p.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P.U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca**, v. 2, n.3, p. 119- 145, 2009.

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.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374- 381, 2007.

GRACE, S. C.; LOGAN, B. A. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. **Phil.Trans. R. Soc. Lond.** v. 355, p. 1499- 1510, 2000.

HAGERMAN, A. E.; RICE, M. E.; RITCHARD, N. T. Mechanisms of Protein Precipitation for Two Tannins, Pentagalloyl Glucose and Epicatechin¹⁶ (4→8) Catechin (Procyanidin). **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, p. 2590- 2595, 1998.

HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. **New Physiologist, Oxford**, v. 169, p. 453- 468, 2006.

HAND, T. E.; COCKERHAM, K. L. **The Sweet Potato: A Handbook for the Practical Grower**. THE MACMILLAN COMPANY. New York, EUA, 1921.

HANSON, J. R. **Natural Products: the secondary metabolites**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2003.

HARBORNE J. B. Biochemical plant ecology. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry**, Academic Press, San Diego, CA, 1997, p. 501- 516.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p.481- 504, 2000.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical methods: A Guide to modern techniques of plant analysis**. 3. ed. Chapman & Hall, London, 1988, 302 p.

HASLAN, E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. **J. Nat. Prod.** v. 59, p. 205- 215, 1996.

HODEK, P.; TREFIL, P.; STIBOROVÁ, M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. **Chemico-Biological Interactions**. v. 139, p. 1- 21, 2002.

HUAMAM, Z. **systematic botany na morphology of the sweetpotato plant. Technical Informatin bulletin 25**. International Potato Center. Lima, Peru, 1992, 22 p.

HUANG, X.; TU, Z.; XIAO, H.; LI, Z.; ZHANG, Q.; WANG, H.; HU, Y.; ZHANG, L. Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves flavonoid. **Food and bioproducts processing**, v. 9 1, p. 1- 6, 2013.

HUBER, L. S.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Flavonois e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alim. Nutr.** Araraquara, v.19, n.1, p. 97- 108, 2008.

HUE, S.; BOYCE, A. N.; SOMASUNDRAM, C. 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.

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

ISLAM, S. Medicinal and Nutritional Qualities of Sweetpotato Tops and Leaves. **Plant Science**, v. 4, p. 3- 7, 2009.

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.

ISMAIL, T.; SESTILI, P.; AKHTAR, S. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 397- 405, 2012.

JENSEN, W. B. The Origin of the Soxhlet Extractor. **J. Chem. Educ.** v. 84, p. 1913-1914, 2007.

JOHANSSON, T. B.; KELLY, H.; REDDY, A .K. N.; WILLIAMS, R. H. **Renewable energy, sources for fuels and electricity**. Earthscan, Island Press, Londres, Washington DC, 1993.

KAMM, B.; GRUBER, P. R.; KAMM, M. **Biorefineries- Industrial Processes and Products**. Wiley-VCH, Weinheim, Alemanha, 2006.

KAMM, B; KAMM, M. Principles of biorefineries. **Appl Microbiol Biotechnol.** v. 64, p.137- 145, 2004.

KHOKHAR, S.; APENTEN, R. K. O. Iron binding characteristics of phenolic compounds: some tentative structure–activity relations. *Food Chemistry*, v. 8, p. 133 - 140, 2003.

KIM, H. K; VERPOORTE, R. Sample Preparation for Plant Metabolomics. **Phytochemical. Analysis**, v. 21, p. 4- 13, 2010.

KONČIĆ, M. Z.; BARBARIĆ, M.; PERKOVIĆ, I.; ZORC, B. Antiradical, Chelating and Antioxidant Activities of Hydroxamic Acids and Hydroxyureas. **Molecules**, v. 16, p. 6232- 6242, 2011.

KUKIĆ, J.; POPOVIĆ, V.; POTROVIĆ, S.; MUCAJI, P.; ĆIRIĆ, A.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. **Food Chemistry**, v. 107, p. 861- 868, 2008.

LANA, M. M.; SANTOS, F. F. ; LUENGO, R. F. A. ; TAVARES, S. A.; MELO, M. F.; MATOS, M. J. L. F. **Batata Doce**. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br>

/laborato/pos colheita/dicas/pagina batata doce.html>.acesso em 23 de maio de 2011.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: Bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, 550 p.

LERNER, B. R. The Sweet Potato. **Vegetables**, v. 136, p. 1- 4, 2001.

LEWIS, K.; SELZER, T.; SHAHAR, C.; UDI, Y.; TWOROWSKI, D.; SAGI, I. Inhibition of pectin methyl esterase activity by green tea catechins. **Phytochemistry**, v. 69, p. 2586- 2592, 2008.

LI, Y.; LIU, H.; JI, X.; LI, J. Optimized separation of pharmacologically active anthraquinones in Rhubarb by capillary electrochromatography. **Electrophoresis**, v. 21, n.15, p. 310- 315, 2000.

LIAO, W. C.; LAI, YUAN, Y.; M.; HSU, Y.; CHAN, C. Antioxidative activity of water extract of sweet potato leaves in Taiwan. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1224- 1228, 2011.

LIMA, A. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; ABRAHÃO, S. A. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.

LOEBENSTEIN, G.; THOTTAPPILLY, G. **The sweetpotato**. Springer, Heidelberg, Germany, 2009.

LUO, H. R.; BENAVIDES, S. M. M.; ZHANG, J.; ZHANG Y. Z.; ZHANG, D. P.; GHISLAIN, M. Rapid genetic transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) via organogenesis. **Afr. J. Biotechnol.**, v. 5, p. 1851- 1857, 2006.

MARASCHIN, M.; VERPORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário. **Biotecnologia ciência & desenvolvimento**, Brasília, v. 23, p. 24- 28, 1999.

MARCANO, D.; HASEGAWA, M. **Fitoquímica orgânica**. 2. ed. U.C.V. Conselho de desarrollo Cientifico y Humanístico. Caracas, Venezuela, 2002, 593 p.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3ª ed. Fortaleza: edições UFC, 2009, 148 p.

MAZID, M. KHAN, T. A., MOHAMMAD, F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. **Biology and Medicine**, v.3 n. 2, p. 232- 249, 2011.

MCSWEENEY, C. S. PALMER, B.; MCNEILL, D. M.; KRAUSE, D. O. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 83- 93, 2001.

MELLADO, M.; MADRID, A.; JARA, C.; ESPINOZA, L. Antioxidant effects of *muehlenbeckia hastulata* j. (polygonaceae) extracts. **J. Chil. Chem. Soc.** v. 57, n. 3, p. 1301- 1304, 2012.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Braz. J. Plant Physiol**, v. 14, n. 2, pp. 71- 81, 2002.

MELO, J. G.; ARAÚJO, T. A. S.; CASTRO, V. T. N. A.; CABRAL, D. L. V.; RODRIGUES, M. D.; NASCIMENTO, S. C.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. **Molecules**, v. 15, p. 8534- 8542, 2010.

MEYER, A. S.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E. N. Antioxidant interactions of catechin, cyaniding, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. **Food Chemistry**, v. 61, p. 71- 75, 1998.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **TRENDS in Plant Science**, v. 7 n. 9, p. 405- 410, 2002.

MIYAZAKI, Y.; KUSANO, S.; DOI, H.; AKI, O. Effects on immune response of antidiabetic ingredients from whiteskinned sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Nutrition**. v. 21. p. 358- 362, 2005.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: Uma abordagem da química à ecologia . **Quím. Nova**, v. 28, n. 5, p. 892- 896, 2005.

MOORE, P.D. Green policies for defence spending. **Nature**, v. 391, p. 838-839, 1998.

MOUCO, G.; BERNADINO, M. J.; CORNELIO, M. L. Controle de qualidade de ervas medicinais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 31, p. 18- 22, 2003.

NDHLALA, A. R.; MOYO, STADEN, M.; J. V. Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules?. **Molecules**, v. 15, p. 6905- 6930, 2010.

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, Hawaii, 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*. **Quím. Nova**, v. 34, n. 1, p. 82- 86, 2011.

PEIXOTO-SOBRINHO, T. J. S.; SILVA, C.H.T.P.; NASCIMENTO, J.E.; MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de *Bauhinia*

cheilantha (Bongard) Steudel. **Rev Bras Cienc Farmaceut.**, v. 44 n. 4, 683-689, 2008.

PEIXOTO-SOBRINHO, T. J. S., CASTRO, V.T.N.A., SARAIVA, A. M., ALMEIDA, D. M., TAVARES, E. A., AMORIM, E. L. C. Phenolic content and antioxidant capacity of four *Cnidocolus* species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga, Brazil. **Afr J. Pharm Pharmacol**, v. 5, p. 2310- 2316, 2011.

PIETTA, P. G. Flavonoids as Antioxidants. **J. Nat. Prod.** v. 63, p.1035- 1042, 2000.

POPP, A.; LOTZE-CAMPEN, H.; LEIMBACH, M.; KNOPF, B.; BERINGER, T.; BAUER, N.; BODIRSKY, B. On sustainability of bioenergy production: Integrating co-emissions from agricultural intensification. **Biomass and bioenergy**. v. 35, p. 4770- 4780, 2010.

POCHAPSKI, M. T.; FOSQUEIRA, E. C.; ESMERINO, L. A.; DOS-SANTOS, E. B.; FARAGO, P. V.; SANTOS, F. A.; GROppo, F. C. Phytochemical screening antioxidant and antimicrobial activities of the crude leaves extract from *Ipomoea batatas* L Lam. **Pharmacognosy magazine**, v. 7, n. 26, p. 70- 165, 2011.

PRASADA, K. N.; YANGA, B.; YANGA, S.; CHENA, Y.; ZHAO, M.; ASHRAF, M.; JIANG, Y. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. **Food Chemistry**, v. 116, p.1- 7, 2009.

PRICE, R.H. **Sweet Potato Culture for Profit**. Texas Farm and Ranch Publishing Co. DALLAS, TEXAS, 1903.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Rev. Árvore**, v. 26, n. 4, p. 493- 497, 2002.

QUIDEAU, S.; DEFFIEUX, D.; DOUAT-CASASSUS, C.; POUYSEGU, L. Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. **Angew. Chem. Int.** v. 50, p. 586- 621, 2011.

RANGARI, V. D. Tannin Containing Drugs. **J. Pharmacognosy**, v. 846, p. 1- 16, 2007.

ROBARDS, K.; FRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, p. 401- 436, 1999.

ROCHA, T. L.; EVARISTO, R. G. S.; SILVA, L. P.; SOUZA, D. S. L.; MARRA, B. M. COSTA, P. H. A.; MAGALHÃES, J. C. C.; SILVA, M. C. M.; GROSSI-DE-SA, M. F. **Metabolômica: aplicações e perspectivas**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF, 2006.

RODRIGUES, P. O.; GONÇALVES, T. C. E SILVA, W. B. Influência de Diferentes Sistemas de Solventes no Processo de Extração de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Acta Farm. Bonaerense*. v. 23, n. 1, p. 27- 31, 2004.

ROYHAN, A.; SUSILOWATI, R.; SUNARTI. Effects of White-Skinned Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) on Pancreatic Beta Cells and Insulin Expression in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. **Pharma Medika**, V.1, n. 2, p. 45- 49, 2009.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado técnico online**, Embrapa, fortaleza- CE, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo método de redução do ferro. **Comunicado técnico online**, Embrapa, fortaleza- CE, 2006.

SANDES, A. R. R. DI-BLASI, G. Biodiversidade e Diversidade Química e Genética. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 13, p 28- 32, 2000.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / editora da UFSC, 2003, p. 403- 434.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: **SIMÕES, C. M. O et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / editora da UFSC, 2003, p. 615- 656.

SCALBER, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n.12. p. 3875- 3883, 1991.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. analysis of condensed tannins: A review. **Animal feed science and technology**, v. 91, p. 21- 40, 2001.

SCHWACHTJE, J. BALDWIN, I. T. Why does herbivore attack reconfigure Primary metabolism?. **Plant Physiology**, v. 146, p. 845- 851, 2008.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**. v. 2012, p. 1- 26, 2012.

SHOHAIB, T.; SHAFIQUE, M.; DHANYA,N.; DIVAKAR, M. C. IMPORTANCE OF FLAVONOIDES IN THERAPEUTICS. **HYGEIA: JOURNAL FOR DRUGS AND MEDICINES**. v. 3, n. 1, p.1- 18, 2011.

SILANIKOVE, N.; PEREVOLOTSKY, A.; PROVENZA, F. D. use tannin-binding chemicals to assay and their negative postingestive effects in ruminants. **Feed science and technology**, v. 91, p. 69- 81, 2001.

SILVA-JR., I. F.; RAIMONDI, M.; ZACCHINO, S.; CECHINEL-FILHO, V.; NOLDIN, V. F.; RAO, V. S.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O. Evaluation of the antifungal activity and mode of action of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., Lythraceae, stem-bark extracts, fractions and ellagic acid. **Rev. bras. farmacogn.**, v. 20, n. 3, p. 422-428, 2010.

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 Lindoia- SP, 2007.

SILVA, J. B. C; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. Cultura da batata doce. In: **Embrapa Hortaliças: sistema de produção**. Embrapa, Brasília- DF, 2006.

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.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora da UFSC, 2003, 1102 p.

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**, v. 12, p. 1- 6, 2011.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351- 355, 2007.

STRUBE, M., DRAGSTEDT, L. O.; LARSEN, J. C. **Naturally occurring antitumorogens. I. Plant phenols**. The Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 1993, 220 p.

SUGITA-KONISHI, Y.; HARA-KUDO, Y.; AMANO, F.; OKUBO, T.; AOI, N.; IWAKI, M.; KUMAGAI, S. Epigallocatechin gallate and gallic acid gallate in green tea catechins inhibit extracellular release of Vero toxin from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1472, p. 42- 50, 1999.

SUN, L.; ZHANG, J.; LU, X.; ZHANG, L.; ZHANG, Y. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 10, p. 2689- 2696, 2011.

TAMASHIRO-FILHO, P.; OLAITANA, B. S.; ALMEIDA, D. A. T.; LIMA, J. C. S.; MARSON-ASCENCIO, P. G.; ASCENCIO, S.D.; RIOS-SANTOS, F.; MARTINS, D. T. O. Evaluation of antiulcer activity and mechanism of action of methanol stem bark extract of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae) in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, p. 497- 505, 2012.

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

THOMPSON, H. J. Vegetable and Fruit Intake and the Development of Cancer: A Brief Review and Analysis. In: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R. **Bioactive in foods health: fruits and vegetables**. San Diego: Academic Press, 2010.

UDEM, S. C.; ASOGWA, O. Effects on hematological and biochemical parameters in albino mice fed *Ipomoea batatas* leaf aqueous extract. **Comp. Clin. Pathol.** London Limited, 2010.

VERPOORTE, R.; ALFERMANN, A. W. **Metabolic engineering of plant secondary metabolism**, 1. ed. Netherlands: Kluwer, Academic Publishers, 2000. VIEIRA, S.H. **Estatística Experimental**. 2. ed. Editora Atlas. São Paulo, 1999, 179 p.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Analysis of phenolic plant etabolites**. Blackwell Scientific Publications, London, 1994, 238 p.

WICKPÉDIA. **Rutina**. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Rutina>>. Acesso em: 05 de setembro de 2012.

WOOLFE, J. A. **Sweet Potato: An Untapped Food Resource**. Cambridge University Press, Cambridge, UK., 1992, 643 p.

WU, S.; CHAPPELL, J. Metabolic engineering of natural products in plants; tools of the trade and challenges for the future. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, p. 145- 152, 2008.

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.

YEUM, K. J.; BERETTA, G.; KRINSKY, N. I.; RUSSELL, R. M.; ALDINI, G. Synergistic interactions of antioxidant nutrients in a biological model system, **Nutrition**, v. 25, p. 839- 846, 2009.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / editora da UFSC, 2003, p. 577- 614.