



**UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA  
UNIVERSIDADE REGIONAL DO NOROESTE DO ESTADO DO RIO  
GRANDE DO SUL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ATENÇÃO  
INTEGRAL À SAÚDE**

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DO EXTRATO  
HIDROETANÓLICO DA FOLHA DA BATATA-DOCE [*Ipomoea  
batatas* (L). Lam]**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**THAÍS CRISTINA COELHO DE ORNELAS SALASAR**

**CRUZ ALTA-RS, BRASIL**

**2018**

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DO EXTRATO  
HIDROETANÓLICO DA FOLHA DA BATATA-DOCE [*Ipomoea  
batatas* (L). Lam]**

**Por**

**THAÍS CRISTINA COELHO DE ORNELAS SALAZAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde, da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ, RS), em associação ampla à Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Atenção Integral à Saúde**.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fernando dos Santos Salazar

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Cattaneo Horn

**CRUZ ALTA-RS, BRASIL**

Dezembro, 2018

**UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA E UNIVERSIDADE REGIONAL DO NOROESTE  
DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ATENÇÃO INTEGRAL À  
SAÚDE**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova o projeto de Mestrado

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO  
HIDROETANÓLICO DA FOLHA DA BATATA-DOCE [*Ipomoea  
batatas* (L ). Lam]**

elaborado por

**THAÍS CRISTINA COELHO DE ORNELAS SALASAR**

Como requisito parcial para qualificação do projeto de pesquisa do  
**Mestrado em Atenção Integral à Saúde**

---

**Profº. Drº. Rodrigo Fernando dos Santos Salazar**  
Orientador

---

**Profª. Drª. Roberta Cattaneo Horn**  
Coorientadora

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Profª. Drª. Gabriela Bonfanti Azzolin**

---

**Profª. Drª. Jana Koefender**

---

**Profº. Dr. Marcelo Braga Bueno Guerra**

CRUZ ALTA,  
2018

*Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida: meu esposo Douglas e meus filhos: Arthur e Bernardo... Meus tesouros preciosos! Eles que, abdicaram de minha presença, sempre acreditaram em mim e não mediram esforços para que eu chegasse até aqui. Eu os Amo!!!*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por mais uma etapa de minha vida concluída. Por mais um sonho realizado, por todas as graças concedidas durante toda esta caminhada...

Aos homens de minha vida: meu esposo, Douglas, por todo amor, suporte, apoio, confiança... aos meus filhos Arthur e Bernardo, que mesmo tão jovens, entendiam minha ausência como mãe. Vocês nunca deixaram de acreditar em mim...sei que não estou sozinha nesta jornada. Amo muito vocês!

A meus pais! minha mãe Lourdes e meu paizinho (*in memorian*), meu irmão e cunhada... que mesmo distantes, sempre me apoiaram e me encorajaram... amo vocês!!!

A meu orientador, Rodrigo Salazar, por seus ensinamentos. Muito obrigada!

À minha coorientadora, Roberta Cattaneo Horn, por seus conhecimentos, paciência, ensinamentos, confiança e amizade. Hoje, a tenho como uma amiga! Muito obrigada por tudo!

À minha querida amiga Anna Fernandes Krauser, pela amizade e suporte, nos momentos que mais precisei. Grata!

Aos colegas do LaMOx, pelo auxílio nas análises laboratoriais. Obrigada!

À UNICRIZ e UNIJUÍ, pelo espaço concedido e aos professores do PPGAIS, que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Aos professores componentes da banca examinadora, pela disponibilidade em contribuir com este trabalho. Muito obrigada!

À Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia/ SDECT-RS, Banco Mundial e Simbiose-Agro, pelo financiamento da pesquisa.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

*“A História tem demonstrado que os mais notáveis vencedores normalmente encontraram obstáculos dolorosos antes de triunfarem. Eles venceram porque se recusaram a se tornar desencorajados por suas derrotas”.*

**Brian Forbes**

## RESUMO

### AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DA FOLHA DE BATATA-DOCE [*Ipomoea batatas* (L.) Lam]

Cada vez mais têm se observado a procura por alimentos de origem vegetal, com propriedades funcionais e que também previnam o envelhecimento precoce. Neste contexto, a raiz batata-doce tornou-se uma alternativa como fontes de energia e fibra, que auxiliam no emagrecimento. Contudo, ainda não há na literatura informações científicas quanto à recomendação da ingestão da folha de batata-doce. Assim, caracterizou-se os principais fitoquímicos presentes em 22 acessos de batatas-doces (*Ipomoea batatas* L. Lam.), cultivadas na região do Alto Jacuí e provenientes da CNPH- EMBRAPA-Brasília, e o efeito antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas a partir de testes *in vitro*, utilizando eritrócitos humanos, expostos ao herbicida 2,4-D e tratados, posteriormente, com o extrato das folhas em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 2,0 e 10,0 g/L<sup>-1</sup>). Os acessos que apresentaram maiores quantidades de fitoquímicos (compostos fenólicos totais, flavonoides e taninos), poder redutor, capacidade antioxidante (níveis de DPPH) e capacidade quelante foram: Estrela 102 (Estrela-RS), SE 104 (Selbach-RS), BR Cuia e Coquinho (oriundas da EMBRAPA-CNPH-Brasília). Assim, com esses acessos foram realizados testes com células *in vitro*. A lipoperoxidação foi elevando, proporcionalmente, à medida que aumentou a concentração do extrato da BR Cuia, e na concentração de 10,0 g/L da cultivar Coquinho. Por outro lado, a GSH aumentou em todos os acessos e cultivares, testados *in vitro*, proporcionalmente, ao aumento da concentração dos extratos. Além disso, também foi observada, a ocorrência de hemólise, que também foi se elevando com o aumento da concentração dos extratos adicionados. Estes resultados demonstram que, mesmo aumentando a GSH, os extratos mostraram ser extremamente tóxicos aos eritrócitos e, dependendo da concentração e da origem do acesso ou da cultivar, essas folhas também são tóxicas quando em contato com lipídeos de material genético.

**Palavras-chave:** Batata-doce, fitoquímicos, estresse oxidativo, hemólise.

## ABSTRACT

### **PHYTOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT EVALUATION OF THE HYDROETHANOLIC EXTRACT OF THE SWEET POTATO LEAF [Ipomoea batatas (L.) Lam]**

Increasingly with the vision of foods of vegetal origin, with variable properties and that prevent the premature aging. In this context, a sweet root has become an alternative as the sources of energy and fiber, which aid in weight loss. However, there is as yet no literature in the literature on ingestion of sweet potato leaf. Thus, the main phytochemicals present in 22 species of sweet potatoes cultivated in the Alto Jacuí and CNPH-EMBRAPA-Brasília regions, and the antioxidant effect of the hydroethanolic extract of the leaves of the testes in vitro, with the use of (B, C, D, and D), respectively. The highest leaflets of phytochemicals (total phenolic compounds, flavonoids and tannins), power reducers, antioxidant capacity (DPPH levels) and chelating capacity were: Star 102 (Estrela-RS), SE 104 (Selbach-RS), BR Cuia and Coquinho (from EMBRAPA-CNPH-Brasília). Thus, the accessions were performed in the light of the testes with cells in vitro. Lipoperoxidation was promoted, proportionally, as the concentration of BR Cuia extract increased, and the concentration of 10.0 g / L of Coquinho cultivar increased. On the other hand, GSH increased in all accesses and cultures, in vitro, proportionally, tested the rate of the extracts. In addition, an occurrence of hemolysis was also observed, which also increased with increasing concentration of the extracts. Demonstration of results that, even increasing the GSH, the extracts are toxic to the erythrocytes and, depending on the concentration and origin of the access or cultivar, these leaves are toxic only when in contact with lipids of genetic material .

**Key-words:** Sweet potato, phytochemicals, oxidative stress, hemolysis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação fotográfica do caule com talo (a), folhagem (b) Ipomoea Batatas (L). Lam.....	18
Figura 2- Batata-doce: BRS- Amélia.....	25
Figura 3- Batata-doce: Brazlândia rosada.....	26
Figura 4- Batata-doce: BRS Rubissol.....	26
Figura 5- Batata-doce: BRS Cuia.....	27
Figura 6- Batata-doce: BRS Coquinho.....	27
Figura 7 - Estresse Oxidativo.....	29
Figura 8- Principais reações que ocorrem durante o processo de lipoperoxidação.....	30
Figura 9- Classificação hierárquica de diferentes componentes orgânicos e inorgânicos em enzimáticos e não enzimáticos que apresentam atividade antioxidante.....	36
Figura 10- Estrutura química de alguns carotenoides encontrados em alimentos .....	40
Figura 11- Representação esquemática da atividade antioxidante da vitamina E em uma rota metabólica nas membranas celulares e lipoproteínas.....	41
Figura 12- Fluxograma do preparo dos extratos das folhas de batata-doce.....	49
Figura 13- Níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em eritrócitos expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações do extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce.....	57
Figura 14- Níveis de Glutathione Reduzida (GSH) em eritrócitos expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações do extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce.....	58
Figura 15- Foto do sobrenadante, pós exposição e tratamento, em que os marcadores foram avaliados. Níveis de Hemoglobina (g Hb) em eritrócitos expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações do extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce.....	59
Figura 16- Hemoglobina, após exposição e tratamento dos eritrócitos diluídos em NaCl a 0,9%, expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações de extrato hidroetanólico das folhas de 4 acessos de batata-doce.....	60
Figura 17- Catabolismo da hemoglobina após a hemólise.....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Comparação dos teores minerais, proteico, lipídico e calórico fornecidos pelo consumo de 100 g da folha de batata-doce em relação ao consumo de 100 g de folhas secas de mandioca, feijão preto cozido e feijão preto cru.....	21
Tabela 2- Teor e variação de compostos nutricionais presentes nas folha de Batata-doce.....	23
Tabela 3- Principais classes de compostos fenólicos em função do peso molecular.....	34
Tabela 4- Sistema enzimático antioxidante, conforme sua reação biológica e seus sítios de ação.....	37
Tabela 5- Descrição dos grupos e características das amostras para os posteriores ensaios de avaliação dos níveis de marcadores antioxidantes em eritrócitos .....	52
Tabela 6A- Níveis de compostos fenólicos totais, flavonóides, taninos e DPPH ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ), o poder redutor e a capacidade quelante dos acessos de folha de batata-doce.....	54
Tabela 6B- Acessos de folha de batata-doce com mais princípios ativos com Atividade Antioxidante.....	55

## LISTA DE SIGLAS

ABH- Anuário Brasileiro de Hortaliças  
ANOVA- Análise de Variância  
ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
APSP- Batata roxa do cultivar Ayamurasaki  
CAT – Catalase  
CNPH- Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças  
CG- Cromatografia gasosa  
CL- Cromatografia líquida  
CEP - Comitê de Ética em Pesquisa  
CFTs- Compostos Fenólicos Totais  
DNPH - 2,4-dinitrofenilhidrazina  
DPPH - 2,2'- difenil-1-picrilhidrazil  
DTNB- 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)- Reagente de Ellman  
EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético  
EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
ERs - Espécies Reativas  
EREs - Espécies Reativas de Enxofre  
ERNs - Espécies Reativas de Nitrogênio  
EROs - Espécies Reativas de Oxigênio  
EO- Estresse Oxidativo  
FBDR- Folhas da batata-doce roxa  
FIB- Food Ingredients Brasil  
FDA- Food and Drug Administration  
GPx - Glutathione Peroxidase  
GR - Glutathione Redutase  
GSH - Glutathione Reduzida  
GSSG - Glutathione Oxidada  
GST - Glutathione Transferase  
HDL-c Lipoproteínas de baixa densidade- Colesterol  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Peróxido de Hidrogênio  
HOCl - Ácido Hipocloroso

HOH<sup>•</sup> - Íon Peroxil

IBGE- Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia

LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade

LH - Hormônio Luteinizante

LPO – Lipoperoxidação

MDA- Malondialdeído

NADPH - Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato

O<sub>2</sub><sup>•-</sup> - Ânion Superóxido

OMS- Organização Mundial de Saúde

ONU- Organização das Nações Unidas

OH<sup>•</sup> - Íon Hidroxila

ONOO<sup>-</sup> - Peroxinitrito

ORAC- Oxygen Radical Absorbance Capacity (*Capacidade de Absorção dos Radicais Oxigenados*)

PC - Proteína Carbonilada

PEF- Campo Elétrico Pulsado (*Pulsed electric field*)

PLE- Extração por líquido pressurizado (*ELP*)

SDS - Dodecil Sulfato de Sódio

SFE- Fluido Supercrítico (*FS*)

SOD - Superóxido Dismutase

SOD-Cu- Superóxido Dismutase com cobre como cofator

SOD-Zn- Superóxido Dismutase com zinco como cofator

SOD-Mn- Superóxido Dismutase com manganês como cofator

TBA - Ácido Tiobarbitúrico

TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TCA - Ácido Tricloroacético

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

USEPA- Agência de Proteção Ambiente dos Estados Unidos (*APAEU*)

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	14
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	17
2.1	Objetivo Geral.....	17
2.1.1	Objetivos Específicos.....	17
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	18
3.1	Batata-doce [ <i>Ipomoea batatas</i> (L ). Lam].....	18
3.1.1	Gênero <i>Ipomoea</i> - Características botânicas.....	18
3.1.2	Importância do cultivo da batata-doce [ <i>Ipomoea batatas</i> (L ). Lam]....	19
3.1.3	Benefício do consumo da batata-doce.....	20
<b>3.2</b>	<b>COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE.....</b>	22
3.2.1	Características fitoquímicas das batatas-doce: BRS Amélia, BRS Cuia, BRS Rubissol, BRS Coquinho e Brazlândia rosada	25
<b>3.3</b>	<b>ESTRESSE OXIDATIVO E ESPÉCIES REATIVAS.....</b>	27
3.3.1	Peroxidação Lipídica.....	29
3.3.2	Oxidação Protéica.....	31
<b>3.4</b>	<b>SISTEMA ANTIOXIDANTE.....</b>	32
3.4.1	Compostos Fenólicos como antioxidantes.....	34
3.4.2	Flavonoides.....	35
3.4.3	Sistema Enzimático.....	37
3.4.4	Superóxido Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase, Glutathione Redutase .....	38
<b>3.5</b>	<b>SISTEMA NÃO ENZIMÁTICO.....</b>	40
3.5.1	Antioxidantes dietéticos, Vitaminas, Minerais e Polifenóis.....	40
3.5.1.1	Vitamina C e Carotenoides.....	40
3.5.1.2	Vitamina E.....	41
3.5.1.3	Minerais.....	43
3.5.1.4	Polifenóis.....	44
3.6	Potencial antioxidante da batata-doce.....	46
3.6.1	Capacidade Antioxidante.....	46
<b>4.</b>	<b>ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTE.....</b>	47
<b>4.1</b>	<b>Estratégias analíticas para determinação da capacidade total oxidante de compostos bioativos.....</b>	48
<b>5.</b>	<b>Uso do herbicida 2,4D em células humanas.....</b>	49
<b>6.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	51
6.1	Delineamento do Estudo e Aspectos Éticos.....	51
6.2	Procedimento do Estudo.....	51
6.2.1	Preparo do extrato das folhas de batata-doce.....	51
<b>7.</b>	<b>COLETA DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE PARA O PREPARO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE.....</b>	52
7.1	Caracterização fitoquímica do extrato hidroetanólico das folhas da batata-doce [ <i>Ipomoea batatas</i> (L ). Lam] .....	52
7.1.1	Doseamento de polifenóis totais no extrato das folhas da batata-doce [ <i>Ipomoea batatas</i> (L ). Lam] .....	52
7.1.2	Doseamento de flavonoides totais no extrato das folhas da batata-	

	doce [ <i>Ipomoea batatas</i> (L ). Lam] .....	52
7.1.3	Doseamento de taninos condensados no extrato das folhas da batata- doce [ <i>Ipomoea batatas</i> (L ). Lam] .....	53
<b>8.</b>	<b>PROCEDIMENTO DE COLETA E AMOSTRAGEM DE ERITRÓCITOS</b> .....	53
8.1	Aspectos éticos.....	53
<b>9.</b>	<b>MARCADORES OXIDANTES E ANTIOXIDANTES</b> .....	54
9.1	Determinação dos níveis de TBARS.....	54
9.2	Determinação da Hemoglobina total.....	52
9.3	Determinação dos níveis de GSH.....	55
9.4	Determinação dos níveis de DPPH.....	55
9.5	Análises Estatísticas.....	55
<b>10.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	56
<b>11.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	64
<b>12.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	66
	<b>ANEXOS</b>	75

## 1. INTRODUÇÃO

É considerável a crescente valorização e consumo de alimentos naturais com propriedades funcionais na atualidade, uma vez que, pesquisas apontam que o uso de alguns desses alimentos pode diminuir os danos causados pelo estresse oxidativo e, desempenhar um papel positivo sobre a saúde humana.

Neste sentido, observa-se que a batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam ), um alimento produzido em todo Brasil, constitui um recurso natural renovável, com indicativo etnográfico medicinal, que pode diminuir a pressão sobre as substâncias de síntese química com interesse na alimentação e saúde (JOSÉ, 2015).

Considerada ótima fonte de energia, sais minerais e vitaminas A, B e C, muitas partes desta planta são comestíveis, incluindo folhas, existindo variedades com uma ampla gama de cor da casca e da polpa da raiz, variando do branco até o amarelo-alaranjado e o roxo intenso, destacando-se, entre elas, as de polpa alaranjada, que podem desempenhar um papel fundamental no alívio da deficiência de vitamina A, comum entre crianças na Ásia e na África subsaariana (DOMBROSKI et al., 2010). No entanto, as folhas não vêm sendo usadas com muita frequência, exceto em alguns países da Ásia (CHEN et al., 2011). Seu uso pode ser estimulado no momento em que houver uma forma de administração melhor ou mais palatável, uma vez que, por serem ricas em e polifenóis, as folhas apresentam um grande efeito benéfico sobre a saúde (CESARE et al., 2012).

Pode-se afirmar, também, que as batatas-doces são uma boa fonte de minerais para a dieta, especialmente por serem ricas em potássio, e que o genótipo de batata-doce exerce influência sobre a concentração de minerais em seu conteúdo (VIZZOTTO et al., 2018).

Além disso, a batata-doce é uma cultura de alto rendimento, industrialmente importante, amplamente utilizada no alívio da fome e consumida na Ásia, com variedades de cor e diversos conteúdos nutricionais, com quantidades diferentes de carotenoides, antocianinas e ácidos fenólicos, que atrai a atenção devido a estes antioxidantes e corantes naturais que previnem doenças degenerativas relacionadas ao estresse oxidativo (KIM et al., 2015).

Assim sendo, observa-se que o estresse oxidativo é definido como uma perturbação do equilíbrio entre componentes pró-oxidantes e antioxidantes em que a elevação da concentração de espécies moleculares oxidantes provocam efeitos deletérios em nível celular que podem ir desde o desregulamento de rotas metabólicas até na morte celular (LIU et al.,

2017). A ocorrência do estresse oxidativo se deve ao resultado combinado ou isolado de um de três fatores citados a seguir (BARBOSA et al., 2010):

- 1) Aumento na geração de Espécies Reativas de Oxigênio de (EROs) e/ou de nitrogênio (ERNs), através da acumulação de intermediários reativos;
- 2) Prejuízo do sistema de defesa antioxidante (inibição de enzimas antioxidantes, depleção de antioxidantes não-enzimáticos);
- 3) Incapacidade para reparar o dano oxidativo.

Porém, de acordo com Santi et al. (2014), existe um sistema de defesa antioxidante que possui a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria das espécies reativas (ERs), podendo ser classificados em sistema de defesa enzimático e não enzimático. O sistema enzimático é constituído pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (Gpx) e glutathione reductase (GR). Outros componentes moleculares que formam o sistema antioxidante não enzimático são: a glutathione reduzida (GSH), o ácido úrico, o ácido ascórbico (vitamina C), o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) e o  $\beta$ -caroteno (BARBOSA et al., 2010). Os marcadores oxidativos incluem as Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) e os níveis de carbonilação de proteínas (SANTI et al., 2014).

Deste modo, diferentes estudos propõem alternativas para reduzir os efeitos prejudiciais do excesso de EROs e melhorar a capacidade antioxidante do organismo, como forma de tratamento e prevenção das enfermidades e suas complicações. Assim, é possível elencar alguns dos principais nutrientes com papel antioxidante capazes de evitar ou minimizar os efeitos deletérios em nível celular e/ou molecular, tais como: ácido ascórbico (vitamina C);  $\beta$ -caroteno;  $\alpha$ -tocoferol; zinco; flavonoides e selênio (ZIMMERMANN; KIRSTEN, 2008; LIU et al., 2017).

Observa-se, pois, que alguns alimentos, como a batata-doce podem contribuir para eventuais estudos relacionados à melhora da atividade antioxidante, frente à certas patologias. No entanto, a utilização desse tubérculo na alimentação humana não se limita apenas ao consumo das raízes tuberosas. As folhas, consumidas em grande escala em países africanos, são excelentes fontes de proteína, glicídios, cálcio, fósforo e ferro, além de vitamina A e vitamina C (JOSÉ, 2015).

Assim, dentre os diversos compostos fitoquímicos presentes nas folhas de batata-doce, os que possuem maior número de atividades biológicas reconhecidas são os compostos

fenólicos (ISLAM, 2014), uma vez que, de acordo com Souza et al., (2018), nos últimos anos houve um interesse crescente na determinação de fontes dietéticas adequadas de compostos fenólicos antioxidantes.

Pesquisadores como Dumitriu et al. (2015), afirmam que os compostos fenólicos desempenham importante papel na proteção celular, pois são capazes de sequestrar ou inibir as diversas espécies de oxigênio reativo, transferir elétrons para radicais livres, ativar enzimas antioxidantes e inibir enzimas oxidases desempenhando forte ação na prevenção do estresse oxidativo, apontado como causa de algumas doenças, como arteriosclerose, diabetes e doenças neurodegenerativas (ASADI et al., 2010).

Deste modo, devido à preferência pelo consumo das raízes da batata-doce, a parte aérea costuma ser descartada ou fornecida como ração para animais. Entretanto, em algumas partes do mundo, há populações que utilizam suas folhas da mesma forma que se consome outras hortaliças (SONG et al., 2011).

Esse fato tem motivado a investigação dos constituintes químicos das folhas da batata-doce, haja vista a necessidade de uma alimentação sadia, rica em nutrientes, a qual pode ser alcançada com partes de alimentos que, normalmente são desprezadas, tais como cascas, talos e folhas, levando ao aproveitamento integral dos alimentos, que, além de diminuir os gastos com alimentação e melhorar a qualidade nutricional do cardápio, reduz o desperdício e torna possível a criação de novas receitas (BARBOSA et al., 2014). Porém, no Brasil, esse consumo integral de alguns alimentos e nutrientes, tal como a folha da batata-doce ainda caminha a passos lentos.

Neste sentido, diante de um cenário com carência de dados sobre a caracterização fitoquímica das folhas de batata-doce, com finalidade farmacológica e nutricional no Brasil, procura-se, com esse estudo, caracterizar os principais fitoquímicos presentes nas folhas desse alimento, bem como, avaliar a capacidade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Quantificar os principais fitoquímicos e avaliar a atividade antioxidante do extrato hidroetanólico de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas L. Lam.*), cultivadas na região do Corede Alto Jacuí e da CNPH- Embrapa- Brasília.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os níveis dos compostos fenólicos totais, flavonoides e taninos dos extratos de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas L. Lam.*) cultivadas na região do Corede Alto Jacuí e da CNPH- Embrapa - Brasília.
- Investigar mecanismos de ação antioxidante (capacidade de remoção de radicais DPPH - 2,2-difenil-1 picrilhidrazilo), o poder redutor e a capacidade quelante dos extratos de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas L. Lam.*), cultivadas na região do Corede Alto Jacuí e da Embrapa-CNPH-Brasília.
- Avaliar a capacidade antioxidante em um modelo de células humanas expostas ao herbicida 2,4-D, *in vitro*, através da medida dos níveis de lipoperoxidação e glutathiona reduzida.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 BATATA-DOCE [*Ipomoea Batatas* (L ). Lam]

##### 3.1.1 Gênero *Ipomoea*- Características botânicas

A batata-doce é uma dicotiledônea pertencente à família *Convolvulaceae*, gênero *Ipomoea* e espécie *batatas* (L) Lam. É um vegetal de cultivo mundial, tanto como alimento quanto para forragem para o gado, dentre outros usos. É distinta pela forma, sabor, textura e cor da raiz tuberosa (as mais comuns são as de cor branca, creme, amarela, laranja e roxa) (JOSÉ, 2015).

A planta da batata-doce pode ser dividida em três partes básicas e cada uma das quais tem suas próprias funções. O caule (Figura 1A), ou rama, pode apresentar crescimento rasteiro, trepador ou ereto, de constituição herbácea, verde ou arroxeadado, podendo alcançar até 5 metros de comprimento (LEBOT, 2009). As folhas são simples, alternas, dispostas em espiral em torno do caule, pubescentes ou glabras (Figura 1B). O pecíolo é longo, de cor e pubescência semelhante ao caule, podendo apresentar ou não pigmentação na inserção do caule. Além disso, as variedades de batata-doce diferem em sua capacidade de produzir flores (CAMARGO, 2013).

**Figura 1-** Representação fotográfica do caule com o talo (A), folhagem (B) da *Ipomoea Batatas* (L ). Lam.



Figura 1A\*



Figura 1B\*

**Fonte:** \* O Autor (2017);

Silva et al. (2012), afirmam que tanto a pele, quanto a casca e a polpa, podem apresentar coloração variável de púrpura, roxo, salmão, alaranjada, amarelada, creme ou branco. A coloração arroxeadada é formada pela deposição do pigmento antocianina, que pode se concentrar na pele, na casca ou ainda constituir manchas na polpa. O tecido colorido se

torna cinza escuro durante o cozimento, e parte do corante se dissolve na água, causando o escurecimento de outros tecidos expostos.

### **3.1.2 Importância do cultivo da batata-doce**

No Brasil, a batata-doce é uma hortaliça que, decorrente de sua importância econômica, representa um recurso natural renovável com indicativo etnográfico medicinal, que a ser validado, poderá diminuir o consumo de substâncias medicinais de síntese química (JOSÉ, 2015).

Para Pestana (2011), comparado com outras culturas, a batata-doce é capaz de crescer em ritmo acelerado em diversas condições ambientais, sendo de alta adaptabilidade em condições marginais de cultivo. Possui curto ciclo de produção, alto valor nutricional e versatilidade sensorial em termos de cor, sabor e textura.

Segundo Islam (2014), a cultura de batata-doce é mais tolerante a doenças, pragas e a elevados valores de umidade que muitas outras hortaliças de folhas cultivadas na região tropical. Além disso, sua produtividade se deve também ao número de colheitas ao longo de um ano agrícola, fazendo dessa cultura interessante para pequenas propriedades rurais quando comparado com outros vegetais verdes e hortaliças.

Observa-se que a batata-doce está entre os cultivos de maior importância no mundo. Com uma produção anual superior a 133 milhões de toneladas, ocupando o quinto lugar em termos de quantidade produzida. É cultivada em 111 países sendo que, aproximadamente 90% da produção é oriunda da Ásia, 5% da África e 5% no restante do mundo. E apenas 2% da produção concentram-se em países industrializados como os Estados Unidos e Japão (FAOSTAT, 2016).

No Brasil é a quarta hortaliça mais cultivada, ocupando uma área de cultivo estimada em 40.383 hectares e uma produção anual de 525.814 toneladas. É um cultivo de grande valor socioeconômico para a região Sul, responsável por 44,41% da safra nacional, seguida pelo Nordeste (28,57%), e pelo Sudeste (22,87%). Em 2014, o estado de São Paulo, foi o segundo maior produtor brasileiro de batata-doce, com quase 75 mil toneladas (14,26%), perdendo apenas para o estado do Rio Grande do Sul, que produziu 30,64% da produção nacional (PAM, 2014).

Assim, considerando dados de produção mundial de batata-doce levantados pela Organização para Alimentação e Agricultura da ONU- (Organização das Nações Unidas), o país com maior produção atualmente é a China, sendo responsável, nos últimos quatro anos,

por uma produção média de 82,30%. Em segundo lugar é ocupado pela Nigéria com 1,92%. A produção brasileira representa 0,30% do total produzido (FAOSTAT, 2016).

Observa-se, pois, que os benefícios e características contidos na batata-doce são inúmeros, destacando-se a resistência à seca, cultivo e manejo simplificado em comparação a outros cultivos, possui baixo custo na produção, perene, resistente às pragas, contribui contra a erosão do solo e se trata de uma cultura versátil, pois necessita de mão de obra (auxiliando assim a fixação do homem do campo (WILLIAMS, 2013).

### **3.1.3 Benefícios do consumo das folhas da batata-doce [*Ipomoea batatas* (L ). Lam]**

A grande importância da batata-doce no contexto humano se torna evidente quando consideramos nossa exigência nutricional (a qual deve ser atendida diariamente a fim de se evitar doenças relacionadas à falta de nutrientes essenciais) e a conveniência na utilização da batata-doce como suplemento nutricional na dieta de povos carentes (LEITE, 2017).

Observa-se que os brasileiros estão cada vez mais cientes dos inúmeros benefícios que a batata-doce proporciona à saúde humana, consumindo-as com maior frequência (LIU et al., 2017).

Neste contexto, pesquisadores como Chang et al. (2007), avaliaram os efeitos do consumo de folhas de batata-doce roxa sobre marcadores de estresse oxidativo em uma população masculina jovem e saudável, após completar um protocolo de exercício físico. Comparado com o grupo controle, o consumo da folha de batata-doce roxa aumentou a concentração plasmática total de polifenóis e o poder antioxidante total e os marcadores de dano oxidativo (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e proteína carbonilada) diminuíram. Neste estudo, estes resultados indicam que, ao consumir uma dieta com elevado teor de polifenóis durante 7 dias, se pode modular o estado antioxidante e diminuir os danos oxidativos induzidos pelo exercício.

Em outro estudo com jogadores de basquete no Taiwan, Chang et al. (2007), afirmam que as folhas da batata-doce roxa (FBDR), tubérculo facilmente encontrado naquela região, apresentam o maior conteúdo polifenólico ( $33,4 \pm 0,5$  mg de ácido gálico/g de peso seco) de todos os vegetais comumente cultivados no país, tendo eles, alta capacidade de eliminação de radicais livres. Chang et al. (2007), também afirmam, que, com base em uma dieta baixa de carotenoides, verificou-se que duas semanas de suplementação com FBDR produziu um aumento significativo na proliferação de linfócitos e interleucina (IL) -2 e secreção de IL-4 de células mononucleares de sangue periférico em adultos saudáveis, no entanto, os autores não

encontraram efeitos do consumo das FBDR e em respostas imunes induzidas pelo exercício nos atletas estudados.

Outros pesquisadores, avaliaram a composição nutricional das folhas de 40 cultivares chinesas de batatas-doce, das quais relatam uma série de nutrientes e compostos bioativos presentes, sugerindo que as folhas de batata-doce deveriam ser consumidas como vegetais de folhas, especialmente por povos que apresentam problemas de desnutrição (SUN et al., (2014).

As folhas de batata-doce, por unidade calórica, superam em teor de proteína até mesmo do feijão, uma das principais fontes proteicas da população brasileira de baixa renda. Têm um valor alimentício semelhante ao das folhas de mandioca (porém, sem cianogênicos) não exigindo portanto, detoxificação prévia antes do uso e, tal como esta, pode ser empregada em multimisturas para combate à desnutrição (MALUF, 2003), por Pastorais da Criança e outras organizações não governamentais.

Deste modo, segundo Huber e Rodriguez-Amaya, (2008), os compostos fenólicos presentes nas folhas da batata-doce se configuram como bons antioxidantes, capazes de sequestrar radicais livres e, dependendo das variedades e condições de crescimento, comparando as folhas desse tubérculo às do espinafre, em nutrientes, tais como vitaminas e minerais.

Na tabela 1 estão elencados a composição centesimal e valor energético das folhas de batata-doce e mandioca, comparadas com grãos crus ou cozidos de feijão comum.

**Tabela 1-** Comparação dos teores minerais, proteico, lipídico e calórico fornecidos pelo consumo de 100 g da folha de batata-doce em relação ao consumo de 100 g de folhas secas de mandioca, feijão preto cozido e feijão preto cru.

Composição	Batata doce (Folhas secas)	Mandioca (Folhas secas)	Feijão preto (Cozido)	Feijão preto (Cru)
Calorias (em 100g) <sup>(1)</sup>	49,00	91,00	84,80	343,60
Glicídios (g/100g) <sup>(1)</sup>	10.20	18.30	14.28	62.37
Proteínas (g/100g) <sup>(1)</sup>	4.60	7.00	6.00	20.74
Lipídios (g/100g) <sup>(1)</sup>	0.20	1.00	0.42	1.27
Cálcio (mg/100g) <sup>(1)</sup>	158.00	303.00	46.00	145.00
Fósforo (mg/100g) <sup>(1)</sup>	84.00	119.00	98.00	471.00
Ferro (mg/100g) <sup>(1)</sup>	6.20	7.60	2.40	4.30

Glicídios (g/100 cal) <sup>(2)</sup>	20.82	20.11	16.84	18.15
Proteínas (g/100g) <sup>(2)</sup>	9.39	7.69	7.08	6.04
Lipídios (g/100 cal) <sup>(2)</sup>	0.41	1.10	0.50	0.37
Cálcio (mg/100 cal) <sup>(2)</sup>	322.45	332.97	54.25	42.20
Fósforo (mg/100 cal) <sup>(2)</sup>	171.43	130.77	115.57	137.08
Ferro (mg/100 cal) <sup>(2)</sup>	12.65	8.35	2.83	1.25

<sup>(1)</sup> Nutrição-Composição química e valor energéticos dos alimentos, (MALUF, 2003).

<sup>(2)</sup> Dados calculados com base em unidades calóricas.

Deste modo, Islam (2014), ao investigar sobre a qualidade nutricional e medicinal da batata-doce, afirmou que, em comparação com o espinafre, suas folhas apresentam menos de um quinto de ácido oxálico ao serem consumidas como alimento, o que torna seu uso viável. As folhas da batata-doce são uma excelente fonte de polifenóis, dentre eles as antocianinas e ácidos fenólicos, tais como ácido caféico, monocateoilquínico (clorogênico), dicafeoilquínico e dicafeoilquínico. A concentração desses nutrientes são superiores em relação a outros vegetais disponíveis comercialmente.

Assim, Wuehler; Ouedraogo (2011), afirmam que, para o auxílio de populações que apresentam problemas relacionados à desnutrição, principalmente entre as mulheres, gestantes e crianças, há países e instituições internacionais que desenvolvem políticas sociais e projetos locais para intervir e promover uma melhora na alimentação por meio do incentivo ao consumo de alimentos que possam garantir um efeito positivo na saúde humana.

### 3.2 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE

A redução dos índices de perda e desperdício de alimentos ainda é uma questão, mundialmente, necessária. Embora as folhas de batata-doce possam ser consumidas, também como alimento, devido a seu alto valor nutricional, na grande maioria das vezes e dos continentes elas ainda são descartadas, particularmente na América do Norte (AKOETEY, 2017).

Em estudo sobre os principais compostos presentes nas folhas da batata-doce, SUN et al.(2014), examinaram folhas de batata-doce de 40 acessos, analisando, entre outros compostos, Proteína bruta, Fibra, Gordura, Carboidratos, Energia bruta, Cinzas, Macro e

Micronutrientes, Polifenóis Totais e Atividade antioxidante. Na tabela 3, os autores relataram as variações de compostos presentes nas Folhas de Batata-doce analisadas:

**Tabela 2-** Teor e variação de compostos nutricionais presentes nas folha de Batata-doce

Teor de compostos nutricionais presentes nas folhas de Batata-doce (FBD)	Varição de Compostos nutricionais presentes nas FBD
Proteína Foliar	16,69 a 31,08g 100g (peso seco:p.s)
Fibra bruta	9,15 a 14,26g 100g-1 p.s
Gordura	2,24 a 5,23 g 100g-1 p.s
Micronutrientes: Ca, P, Mg, Na, Fe, Mn, Zn e Cu	Varição de quantidade significativa, de cultivar a cultivar
Potássio (K)	1625.1mg 100g-1 p.s.)
Compostos Fenólicos	Antioxidantes de maior importância
Polifenóis	12,46g 100g-1 d.b*

\*Baseado no método de Folin-Ciocalteu usando ácido clorogênico como padrão, que se correlaciona com atividades antioxidantes de  $1,28 \pm 0,07 \mu\text{g}$  de Trolox equiv / mg, d.b. com base no método ORAC.

**Fonte:** Adaptado de Akoetey et al. (2017).

Sendo assim, Sun et al. (2014), observaram que as folhas de batata-doce continham quantidades consideráveis de compostos fenólicos 5-O-cafeoilquínico ácido 3-O-cafeoilquínico, 4-O-cafeoilquínico ácido, ácido cafeico; ácido 4,5-di-O- cafeoilquínico, 3,5-diO-cafeoilquínico ácido, ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico, e ido 3,4,5-tri-O-cafeoilquico. Em comparação com os vegetais tradicionais, as folhas de batata-doce contêm concentrações de polifenóis comparáveis ao espinafre e ao brócolis.

Ademais, Huang et al. (2010b), descreveram sobre o uso de um extrato aquoso de folhas de batata-doce, o qual inibiu a produção de óxido nítrico em macrófagos e também protegeu lipossomas de camundongos contra danos oxidativos. Neste contexto, Islam et al (2014), relataram que o pó liofilizado, preparado a partir de folhas de batata-doce suprimiu o crescimento das bactérias *Escherichia coli* e *Bacillus*. Porém, o efeito antibacteriano não suprimiu as bifidobactérias, que são úteis para a saúde humana.

Desse modo, de acordo com Xu et al. (2010), o teor de luteína (31,5-42,6mg 100g-1p.s.) da variedade *Suioh* de batata-doce excedeu o teor de luteína de 120 outras frutas e vegetais, sendo que a luteína é um carotenóide de cor amarela à laranja, responsável por proteger a mácula da retina humana dos comprimentos de ondas nocivos e por eliminar espécies reativas de oxigênio. Portanto, folhas de batata-doce merecem consideração como um alimento desejável para a prevenção de doenças oculares, ademais, a luteína contida nas

folhas de batata-doce pode ser potencialmente utilizada como substituto da tartrazina (AKOETEY et al., 2017).

Também em análises, Antial et al. (2006), verificaram que os níveis de alguns nutrientes de batata-doce foram determinados usando métodos analíticos padrão e os resultados revelaram que as folhas contêm baixos níveis de substâncias tóxicas, (exceto o oxalato, o qual pode ser reduzido pelo cozimento), e uma quantidade apreciável de nutrientes, vitaminas e elementos minerais, devendo ser incluídas em dietas para suplementar o subsídio diário necessário para o corpo humano.

Algumas pesquisas têm demonstrado que as folhas da batata-doce são compostas por combinações químicas que atuam, benéficamente sobre o metabolismo de outros organismos, em especial o humano (XU et al., 2010; UDEM et al., 2011). Os compostos fenólicos estão entre as diversas substâncias presentes nas folhas de batata-doce, sendo estas, as que possuem o maior número de atividades biológicas (SONG et al., 2011). Estes compostos pertencem a um grupo diversificado de substâncias, que têm como principais representantes os flavonoides, metabólitos secundários que desempenham diferentes papéis na ecologia das plantas (HUBER e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008) e potenciais benefícios para a saúde.

Assim, o teor médio de minerais em uma cultivar desenvolvida recentemente ('Suioh') por Islam (2014), apresenta em torno de 117 mg de cálcio, 1,8 mg de ferro, 3,5 mg de Caroteno, 7,2 mg de vitamina C, 1,6 mg de vitamina E e 0,56 mg de Vitamina K para cada 100g de peso fresco das folhas. Níveis de ferro, cálcio e caroteno estão entre os primeiros, comparado com outros vegetais (ISLAM, 2014).

A literatura etnofarmacológica registra o uso do chá das folhas para aumentar a lactação, sendo o tipo "amarelo" especialmente aquele de polpa cor de abóbora detentor de  $\beta$ -caroteno em teor superior ao encontrado em cenoura, sendo seu uso recomendado como alimento-remédio e indicado contra a deficiência de vitamina A (JOSÉ, 2012).

Neste sentido, Silva et al. (2010), realizaram um estudo sobre o uso de plantas medicinais em saúde bucal e observaram que a batata-doce foi a planta com o maior número de indicações de uso em saúde bucal. Usada em extrações dentárias, dor de dente, feridas na boca, hemorragia, abscessos, gengiva inflamada e aftas; utilizada também para alteração na cavidade oral, combater gengivites, pulpites, dor de dente e aftas, além de evitar a reprodução de bactérias cariogênicas.

Observa-se que as folhas de batata-doce são ricas em nutrientes e têm grande potencial de serem usadas para consumo humano. Além do que elas contêm importantes

níveis de polifenóis e carotenóides, os quais podem ser usados como antioxidantes e também, como corantes alimentícios e farmacêuticos.

### 3.2.1 Características fitoquímicas das batatas-doce: BRS Amélia, BRS Cuia, BRS Coquinho, BRS Rubissol e Brazlândia Rosada.

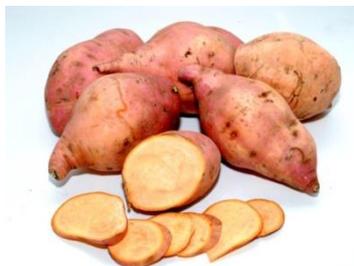
A Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA), apresenta algumas nomenclaturas para a batata-doce. São elas: Acesso e Cultivar.

Acesso: Refere-se às espécies produzidas na região em estudo, as quais ainda estão sem registro na CNPH-EMBRAPA. E Cultivar: Refere-se às espécies já registradas pela EMBRAPA.

Dentre as cultivares produzidas no RS e no Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2011), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), afirmaram que algumas espécies de batata-doce, produzidas na região Sul do País, e pertinentes a este estudo, apresentam as seguintes características nutricionais:

a) **BRS Amélia:** Com casca de coloração rosa clara, essa cultivar é rica em pró-Vitamina A. Seu alto teor de suculência, sabor e polpa alaranjada são bastante apreciados pelos consumidores. Quando cozida, a textura é úmida e melada, macia e extremamente doce. Ela apresenta qualidades nutricionais e produtividade bem acima da média das cultivares disponíveis no mercado e é comercializada pelos Escritórios de Negócios da Embrapa Transferência de Tecnologia em Canoinhas (SC) e em Capão do Leão (RS) (EMBRAPA, 2011).

**Figura 2-** Batata-doce: BRS- AMÉLIA

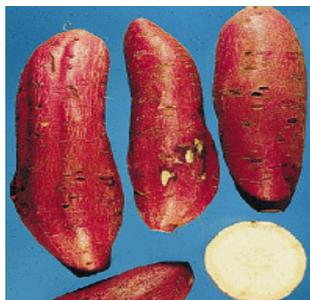


Fonte: EMBRAPA, (2011).

b) **Brazlândia Rosada:** De película externa rosa e polpa creme. O formato é alongado, bastante uniforme. O ciclo é de 120 a 150 dias, com produtividade média de 30t/ ha. Quando

colhida muito tarde, produz batatas graúdas, de elevado peso médio. É também resistente aos nematóides *M. javanica* e *M. Incógnita* (EMBRAPA, 2011). Figura 3:

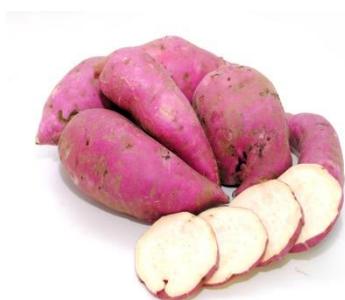
**Figura 3:** Batata-doce Brazlândia Rosada



Fonte: EMBRAPA, (2011)

c) **BRS Rubissol:** Apresenta forma redondo-elíptica com boa uniformidade. A casca tem cor púrpura intensa (vermelho-rubi) com leve aspereza ao tato. A polpa é de cor creme tendendo ao amarelo, com pontuações em amarelo mais intenso. Possui excelentes características para consumo de mesa e também pode ser utilizada no processamento industrial. Destaca-se por apresentar expressiva produtividade, com média muito superior à obtida atualmente nas regiões produtoras brasileiras, boa uniformidade e aparência das batatas. Tem como diferencial a coloração de casca em tonalidade púrpura e polpa levemente amarelada quando crua. É muito doce e com textura farinhenta após cozida ou assada (EMBRAPA, 2011). (Figura 4):

**Figura 4:** Batata-doce BRS Rubissol



Fonte: EMBRAPA, (2011)

b) **BRS Cuia:** Tanto a casca, quanto a polpa tem coloração creme (mas em tonalidades diferentes) e pode chegar a até 60 toneladas por hectare. Ganha destaque na questão culinária, devido à uniformidade e ao tamanho, relativamente grande das batatas e também, apresenta boa adequação ao processo industrial (EMBRAPA, 2011). (Figura 5):

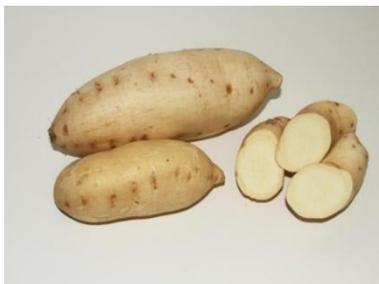
**Figura 5-** Batata-doce: BRS CUIA



**Fonte:** EMBRAPA, (2011).

d) **BRS Coquinho:** A cultivar Coquinho é originária da Paraíba. Apresenta película externa amarela pálida, polpa branca, doce, delicada, com baixo teor de fibras. A polpa é bem seca e, após o cozimento, torna-se de cor branco-acinzentada. O formato das batatas é alongado ou arredondado, desuniforme, variando de acordo com o tipo de solo. As batatas são de porte médio e raramente graúdas. As folhas são de tamanho médio a grande nos plantios de primavera/verão, e pequenas nos plantios de outono. As folhas novas são verde-claras e conforme maduram ficam verde intenso (EMBRAPA, 1995). (Figura 6):

**Figura 6-** Batata-doce: BRS COQUINHO



**Fonte:** EMBRAPA, (2011)

### 3.3 ESTRESSE OXIDATIVO E ESPÉCIES REATIVAS (ERS)

Nos dias atuais, existe um grande interesse em compostos com atividade antioxidante principalmente, em função das descobertas sobre o efeito das Espécies Reativas (ERs) no organismo (HORN et al., 2015). O estresse oxidativo é o resultado de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante. A geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais é resultante do metabolismo de oxigênio. A mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, é a principal fonte geradora. O

sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e/ou espécies reativas não radicais (BARBOSA et al., 2010).

Autores como Kupsco; Schlenk, (2015) e Balmus et al. (2016), afirmam que, apesar de as ERs serem parte importante em processos fisiológicos do organismo, exercendo atividade de grande importância no envelhecimento, transformação e morte celular, quando presentes em excesso, podem acarretar efeitos prejudiciais ao organismo, causando danos oxidativos em biomoléculas como os lipídios e as proteínas, além de alteração no DNA das células, que quando não reparados podem desencadear mutações e citotoxicidade.

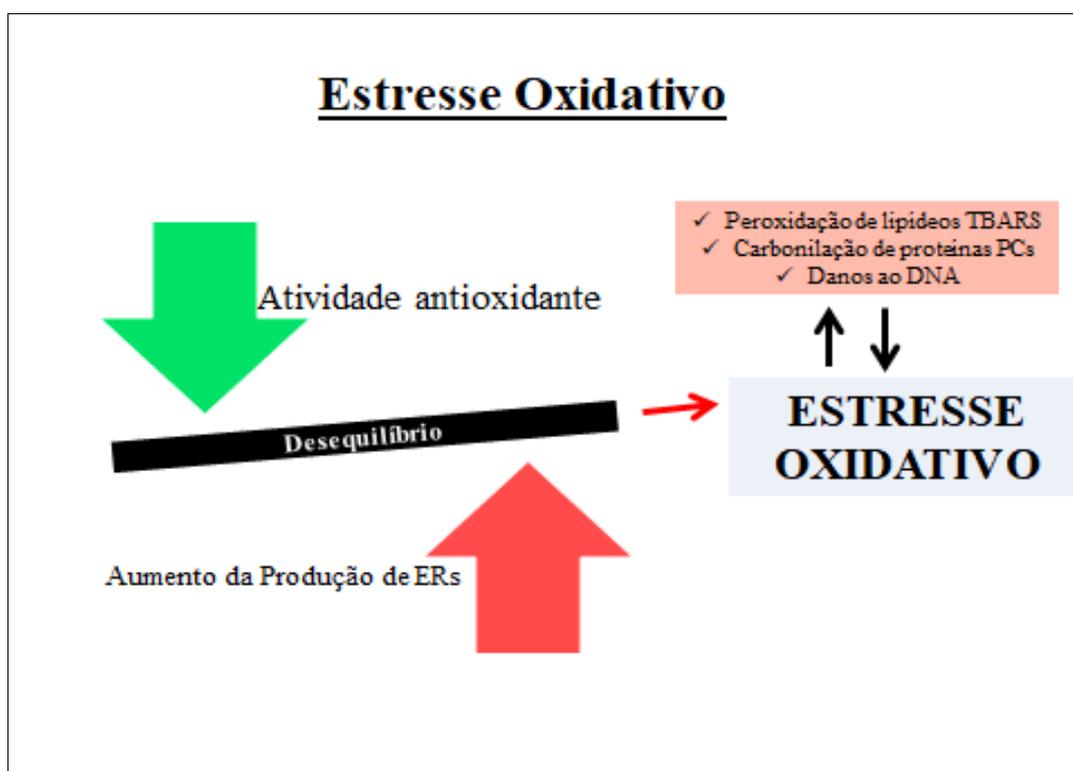
Neste contexto, para Caroch-Ferreira (2013), as Espécies Reativas (ERs) são produzidas a partir do oxigênio (EROs), nitrogênio (ERNs) e/ou enxofre (EREs) como resultado do metabolismo celular normal e são divididas em radicais livres e ERs não radicalares. As ERs são moléculas liberadas pelo metabolismo do corpo com elétrons altamente instáveis e reativos, que podem causar doenças degenerativas, envelhecimento e morte celular (CEPE, 2013).

As ERs são radicalares que possuem pelo menos um elétron desemparelhado em seus orbitais externos, permitindo a transferência de elétrons com moléculas vizinhas. Em geral são instáveis, possuem uma meia vida muito curta e reagem rapidamente com diversos compostos e alvos celulares. Os radicais livres de maior importância fisiológica são: íon hidroxila ( $\text{OH}^{\bullet}$ ), íon peroxil ( $\text{HOH}^{\bullet}$ ), ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) e peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ). Já as ERs não radicalares, como o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e o ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), não possuem elétrons livres, sendo, portanto, menos instáveis que os radicais livres, mas também podem reagir com moléculas na sua redondeza (BIRBEN et al., 2012).

Atualmente, sabe-se que o estresse oxidativo está associado ao desenvolvimento de diversas patologias como o câncer, aterosclerose, diabetes mellitus, artrite reumatoide, disfunções renais entre outras (KUPSCO; SCHLENK, 2015).

A figura 7, apresenta, de modo simplificado o processo de síntese do Estresse Oxidativo, conforme Halliwell (2012) e Oga, (2014), adaptado pelo autor, (2018):

Figura 7- Estresse Oxidativo



Fonte: Adaptado de Halliwell (2012) e Oga, et al., (2014).

### 3.3.1 Peroxidação lipídica

Os lipídios são altamente suscetíveis à oxidação por radicais livres, processo conhecido como peroxidação lipídica, particularmente os ácidos graxos poli-insaturados com duas ligações duplas *cis*, separadas por um grupo metileno (ABDALLA; SENA, 2008).

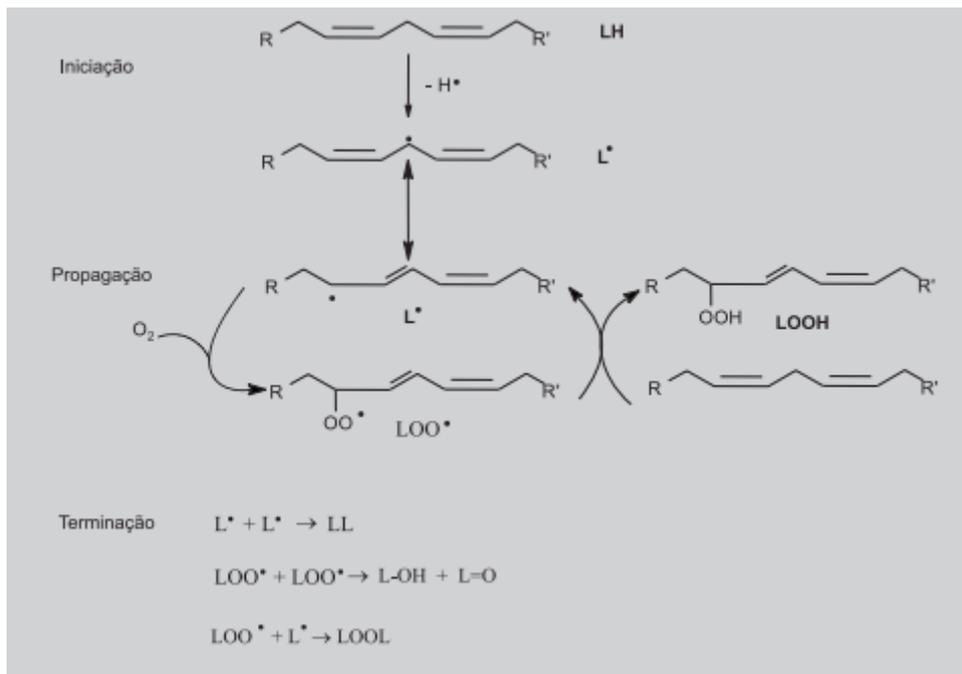
De acordo com Ayala; Muñoz; Argüelles (2014), os lipídios são componentes estruturais das membranas celulares que participam na formação da barreira de permeabilidade das células e organelas subcelulares sob a forma de bicamada lipídica. Além disso, podem controlar o estado fisiológico de uma organela modificando seus aspectos biofísicos, tais como a polaridade e permeabilidade, podendo atuar como moléculas de sinalização.

Uma das consequências do estresse oxidativo é a formação de produtos de peroxidação lipídica, que é altamente prejudicial ao organismo, pois podem alterar a permeabilidade, a fluidez e a integridade das membranas e, eventualmente, resultar em citotoxicidade grave, dando origem ao crescimento celular descontrolado ou a morte celular,

facilitando o desenvolvimento de vários estados patológicos e de envelhecimento acelerado (UMESH; RAMANA, 2013).

A peroxidação lipídica, está intimamente ligada ao estresse oxidativo e geralmente se caracteriza pelo processo “reação em cadeia”, que é composta de três passos básicos: a iniciação, a propagação e a terminação. A iniciação é a etapa de início da peroxidação lipídica, onde ocorre o ataque ao ácido graxo pela espécie reativa. Durante a fase de propagação, este radical peroxila abstrai um átomo de hidrogênio alílico de outro ácido graxo e assim sucessivamente. Por fim, na fase de conclusão da reação, ocorre a destruição dos radicais formados durante as reações iniciais, dando origem a produtos não radiculares (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014), (Figura 8).

**Figura 8-** Principais reações que ocorrem durante o processo de lipoperoxidação



**Fonte:** LIMA; ABDALLA, (2001).

Deste modo, o malondialdeído (MDA), um dos produtos da lipoperoxidação, é amplamente utilizado como um marcador de peroxidação lipídica, encontrado no sangue e urina, medido pela determinação química de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), podendo ser utilizado como um marcador de dano oxidativo a lipídios em diversos processos, inclusive em patologias associadas ao estresse oxidativo (PIZZIMENTI et al., 2013).

### 3.3.2 Oxidação proteica

Tal como os lipídeos, as proteínas também são alvos importantes para ação de oxidantes, por estarem em abundância nos sistemas biológicos e por apresentarem-se em constante reação (DAVIES, 2016).

Os principais alvos dos oxidantes nas condições de estresse oxidativo são as proteínas, graças a alta afinidade das EROs com estas biomoléculas e sua abundância nos sistemas biológicos (HÖHN; KÖNIG; GRUNE, 2013). Essas reações frequentemente ocorrem em resíduos de metionina, cisteína, prolina, histidina, arginina, lisina, triptofano, tirosina, fenilalanina e valina (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014)

Para Moraes et al (2018), a oxidação direta de resíduos de aminoácidos com EROs, pode ser decorrente da carbonização, através da formação de intermediários reativos gerados durante a peroxidação lipídica, que pode reagir com o grupo sulfidrilo de cisteína, o grupo  $\epsilon$ -amino de lisina ou o grupo imidazol de resíduos de histidina, formando produtos finais avançados da lipoxidação, ou produzido por meio da reação de açúcares redutores ou dos seus produtos de oxidação com resíduos de lisina de proteínas, levando à formação de produtos finais de glicação avançada.

Assim, a remoção de proteínas oxidadas dos sistemas biológicos é um processo contínuo, mas quando a taxa de produção é superior à sua remoção, a lesão celular passa a ser evidente, estando associado a alterações bioquímicas e fisiológicas, que quando não reparadas refletem em outras macromoléculas celulares como o DNA, podendo desencadear danos irreversíveis (KEHRER; KLOTZ, 2015).

Infelizmente, os danos em proteínas têm grande influência na viabilidade celular, haja vista que, quando irreversíveis, apresentam consequências deletérias sobre a estrutura e função das proteínas. Ademais, as proteínas danificadas e modificadas podem formar ligações cruzadas e fornecer uma base para muitas alterações associadas à senescência e ainda contribuir para uma variedade de patologias (HÖHN, KÖNIG; GRUNE, 2013). Além disso, o aumento da carbonilação de proteínas foi relatado em diversas doenças como o Alzheimer, Parkinson, artrite reumatoide, aterosclerose, diabetes mellitus tipo II, diabetes gestacional e Síndrome de Down (BARAIBAR et al., 2012).

### 3.4 SISTEMA ANTIOXIDANTE

Para neutralizar os efeitos causados pelo estresse oxidativo, o organismo faz uso de um sistema antioxidante, que atua para manter um ambiente celular saudável onde haja um equilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes. As moléculas antioxidantes, mesmo presentes em baixas concentrações, conseguem impedir, retardar ou até eliminar os danos oxidativos causados a uma molécula alvo, mantendo assim o equilíbrio redox no ambiente em questão (APOSTOLOVA, 2015).

Devido à alta quantidade de compostos que possuem reconhecida capacidade antioxidante, tornou-se necessária a classificação dos mesmos. Sendo assim, a classificação geral mais encontrada divide os antioxidantes quanto à sua origem, em: naturais ou sintéticos. Os antioxidantes naturais, como o próprio nome diz, são obtidos de fontes naturais, e não em laboratório, dentre eles apresentam-se as enzimas, vitaminas e compostos fenólicos (BOROSKI et al, 2015). Os antioxidantes sintéticos, em geral, são compostos fenólicos contendo vários graus de substituto de alquila, enquanto que os antioxidantes naturais podem ser compostos fenólicos, lactona, quinona e os polifenóis (APOSTOLOVA, 2015).

Cominetti et al. (2011), afirmam que *antioxidante* diz respeito a qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada à do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz, podendo ser encontrados naturalmente em nosso organismo e em alimentos.

Os antioxidantes também são classificados com base em suas funções, podendo ser antioxidantes primários ou secundários. Berdahl, Nahas et al. (2010), classificam os antioxidantes em:

a) **Antioxidantes primários:** compostos que doam hidrogênio ou elétrons para os radicais lipídicos ( $\text{LOO}\cdot$  ou  $\text{LO}\cdot$ ) e formam um radical antioxidante ( $\text{A}\cdot$ ) de baixa energia que evita oxidações adicionais:



b) **Antioxidantes secundários:** substâncias que reagem com os hidroperóxidos ( $\text{LOOH}$ ), convertendo-os em formas mais estáveis. Essa ação evita que os hidroperóxidos interajam com metais e formem novos radicais livres alcóxi;

- c) **Quelantes:** os antioxidantes desse grupo impendem a atividade catalisadora dos metais na formação de radicais livres;
- d) **Supressores:** substâncias que desativam espécies com alta energia, como *oxigênio singlet* ( $^1\text{O}_2$ ) ou compostos fotoativos;
- e) **Sequestradores de oxigênio:** substâncias que reagem com oxigênio removendo-o do sistema para evitar possíveis processos oxidativos;
- f) **Regeneradores (ou sinergistas):** compostos que reduzem os radicais que são formados quando um antioxidante primário doa um átomo de hidrogênio ou um elétron a um radical livre.

Vizzotto (2018), também classifica os antioxidantes em dois sistemas, *o enzimático* (endógeno), o qual é formado por um conjunto de enzimas produzidas naturalmente pelo organismo. No entanto, com o passar dos anos, a eficiência deste sistema de produção tende a diminuir. E além dos compostos antioxidantes endógenos, a dieta, suplementos nutricionais e plantas medicinais fornecem uma fonte de antioxidantes exógenos como o ácido ascórbico (Vitamina C), o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), o  $\beta$ -caroteno, entre outros (SALUD et al., 2016). Outra classificação é o sistema *não-enzimático*, (exógeno). Composto por grupos de substâncias como vitaminas, substâncias vegetais e sais minerais que podem ser ingeridos por meio da dieta alimentar. Fazendo parte deste grupo as vitaminas e outras substâncias, como os flavonóides, licopeno e bilirrubina. Tais substâncias podem agir diretamente, neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não-radicaais, ou indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com tal capacidade (VIZZOTTO, 2018).

Além desses, algumas plantas também possuem ação antioxidante não-enzimática, sendo capazes de atenuar os danos oxidativos induzidos por ERs, e muitos estudos *in vitro* vem sendo utilizados para rastrear essas plantas com potencial antioxidante (KASOTE et al., 2015).

O uso de plantas medicinais ricas em substâncias antioxidantes podem reduzir os riscos de inúmeras doenças. Esta atividade benéfica das plantas deve-se, em grande parte, a presença de compostos bioativos como os flavonoides, antioxidantes polifenólicos que possuem um largo espectro de atividades biológica e farmacológica, sendo usadas no tratamento de vários tipos de doenças (SALUD et al., 2016).

Segundo a Food Ingredients Brasil, (FIB - 2009), de modo geral, os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais, e ainda, enzimas que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres.

### **3.4.1 Compostos Fenólicos como Antioxidantes**

Novaes et al. (2014), enfatizam que dentre as substâncias com maior atividade antioxidante estão os compostos fenólicos, que são capazes de absorver e neutralizar as ERS, podendo ser de origem natural ou sintético. Dentre os naturais, destacam-se as vitaminas A, E e C, amplamente encontradas em frutas e vegetais e que possuem a capacidade de dificultar as reações em cadeia, evitando os danos causados pelas ERs, além dos carotenoides, flavonoides, entre outros, que são moléculas que também atuam no processo de sequestro de ERs, sendo, portanto, antioxidantes indispensáveis aos organismos vivos.

Os compostos fenólicos desempenham importante papel na proteção celular, pois são capazes de sequestrar ou inibir as diversas espécies de oxigênio reativo, transferir elétrons para radicais livres, ativar enzimas antioxidantes e inibir enzimas oxidases, desempenhando forte ação na prevenção do estresse oxidativo, apontado como causa de algumas doenças, como arteriosclerose, diabetes e doenças neurodegenerativas (DUMITRIU et al., 2015). Ademais, esses compostos estão frequentemente associados à inibição do crescimento de células cancerígenas (JARA-PALACIOS et al., 2015).

A tabela 3 apresenta as principais classes de compostos fenólicos em função do peso molecular.

**Tabela 3-** Principais classes de compostos fenólicos em função do peso molecular

Peso Molecular	Estrutura	Classe	Subclasse	Exemplos
<b>Baixo</b>	C6-C1	Ácidos hidroxibenzóicos		Vanílico, gálico, elágico, salicílio
	C6-C3	Ácidos hidroxicinâmicos		Cumárico, caféico, ferúlico, sinápico
<b>Intermediário</b>	C6-C3-C6	Flavonóides	Antocianidinas Flavonóis Flavanóis Flavononas Flavonas Isoflavonas Chalconas	Apigenidina, Cianidina Quercetina, Miricetina (+)- Catequina Naringenina Apigenina, Luteolina Genisteína, Daidzeína
<b>Alto</b>	(C6-C1)n	Taninos hidrolisáveis		
	(C6-C3-C6)n	Taninos condensados		

**Fonte:** Escarpa e Gonzalez, (2001).

### 3.4.2 Flavonoides

O doutor Szent György, teve o primeiro contato com os flavonoides no ano de 1930. Ao estudar a casca do limão ele isolou a citrina e observou que a essência da fruta tinha alto caráter de controle da permeabilidade dos capilares. Essa classe do metabolismo secundário das plantas é obtida da via dos fenilpropanóides, os chamados polifenóis (MARTÍNEZ-FLORES et al., 2002).

As plantas desenvolvem mecanismos de defesa enzimáticos e não-enzimáticos, capazes de neutralizar a citotoxicidade das EROs (JUROWSKI et al., 2014). Assim, o sistema de defesa antioxidante (constituído por compostos *enzimáticos* e *não-enzimáticos*), está presente tanto no organismo (dentro das células ou na circulação sanguínea), como nos alimentos ingeridos (GOUVEIA e LIMA, 2017).

De acordo com Pereira et al.(2015), os flavonoides pertencem ao subgrupo dos polifenóis, sendo denominados metabólitos secundários, presentes em frutas e vegetais, uma vez que são amplamente distribuídos na natureza, embora, não uniformemente, porém, grupos

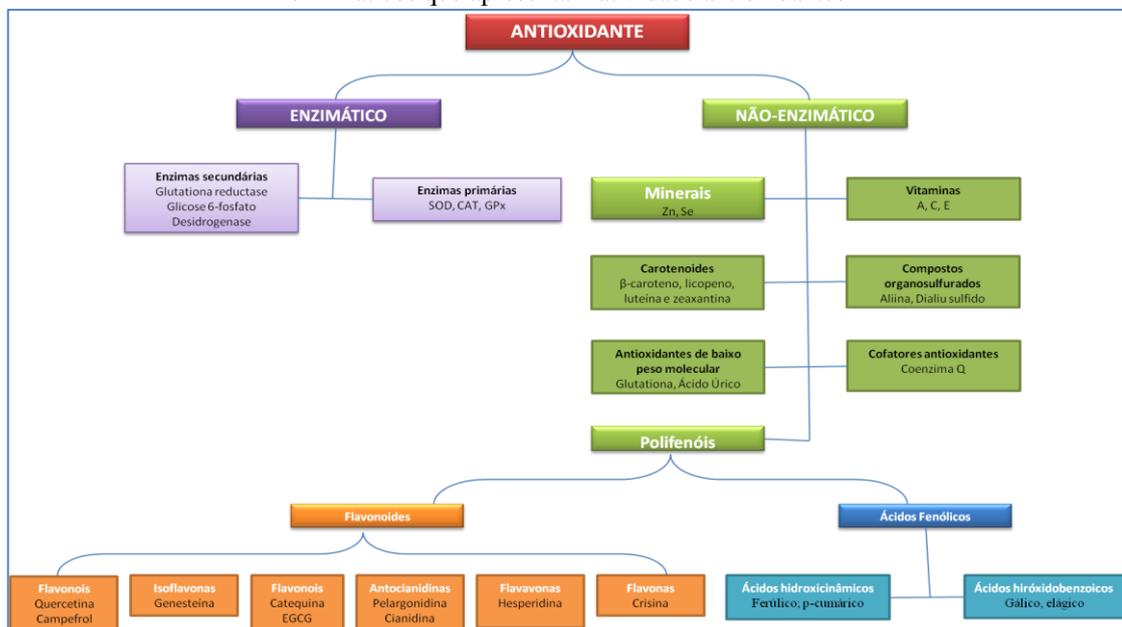
específicos de alimentos muitas vezes constituem fontes ricas de uma ou mais subclasses desses polifenóis. Suas propriedades biológicas estão relacionadas com a atividade antioxidante que cada fenol exerce sobre determinado meio.

Ainda em relação a compostos antioxidantes, Burk e Hill (2015), afirmam que o selênio e zinco são minerais reconhecidos por sua ação inibidora do processo oxidativo. O selênio faz parte do sítio ativo da enzima glutatona peroxidase, que atua reduzindo hidroperóxidos, como o peróxido de hidrogênio. O zinco é componente da estrutura da superóxido dismutase, enzima catalisadora da reação de dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (JUROWSKI et al., 2014).

Além disso, Koekkoek e Van Zanten (2016), alegam que as vitaminas A, C e E desempenham grande papel antioxidante. A vitamina E tem atividade na membrana celular, eliminando radicais livres e, assim como a vitamina A, evita a peroxidação lipídica. A vitamina C possui atividade no meio aquoso celular, prevenindo reações de oxidação, devido ao seu poder redutor.

O fluxograma abaixo apresenta a classificação e exemplos de antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos (Figura 9).

**Figura 9-** Classificação hierárquica de diferentes componentes orgânicos e inorgânicos em enzimáticos e não enzimáticos que apresentam atividade antioxidantes



**Fonte:** Adaptado de Ratnam et al., (2006).

### 3.4.3 Sistema Enzimático

O organismo conta com uma linha de defesa enzimática contra os danos oxidativos. Assim, a atividade das enzimas muitas vezes depende da participação de cofatores enzimáticos, especialmente antioxidantes de origem dietética, tais como Glutathione, Vitamina C, E Flavonoides, Quercetina, Luteína, Clorofila, Selênio (TURECK et al., 2017). Tais cofatores podem diferir de acordo com os compartimentos celulares de ação das enzimas. A enzima superóxido dismutase (SOD) pode ser encontrada sob duas formas: no citoplasma, é dependente de cobre e zinco (SOD-Cu/Zn), enquanto na mitocôndria, necessita do manganês como cofator (SOD-Mn). A GPx também existe sob duas formas: dependente e independente de selênio e pode apresentar-se no citoplasma ou na mitocôndria (HALLIWELL, 2012).

Abaixo, segue tabela referente ao Sistema enzimático antioxidante, de acordo com sua reação biológica e sua ação (Tabela 4):

**Tabela 4-** Sistema enzimático antioxidante, conforme sua reação biológica e seus sítios de ação

Enzima (Sigla)	Ação Biológica	Locais
Superóxido Dismutase (SOD)	Catalisa a dismutação do $O_2$ convertendo-o em $H_2O_2$ (menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas)	Abundante nas células aeróbicas
Catalase (CAT)	Catalisa a água e o oxigênio para formação de $H_2O_2$	Eritrócitos e baço, rins dos mamíferos e fígado
Glutathione Peroxidase (GSH Px)	Catalisa a redução de $H_2O_2$ e peróxidos orgânicos para seu álcool correspondente, sendo que a glutathione opera em ciclos entre a sua forma oxidada e sua forma reduzida	Citosol
Glutathione Redutase (GSH Rd)	Mantém o sistema de proteção celular íntegro através da redução da forma oxidada (GSSG) para a forma (GSH reduzida)	Fígado e linfonodos

**Fonte:** Adaptado de Oliveira e Schoffen, (2010).

### **3.4.4 Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutationa Peroxidase (GPx) e Glutationa Redutase (GSH Rd)**

A enzima superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima na eliminação do ânion superóxido. Uma de suas funções é comum às duas formas: converter  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  e a diminuição dessa atividade associa-se com o estresse oxidativo na síndrome metabólica (YOKOTA et al., 2013).

Presente na maioria das células aeróbicas, a enzima Catalase (CAT) é indispensável para desintoxicação das células das plantas em condições de stress (bióticos e/ou abióticos), sendo responsável também, pela dismutação direta de peróxido em  $H_2O$  e  $O_2$ , reduzindo o conteúdo ( $H_2O_2$ ). Entretanto, a enzima é a principal via de degradação  $H_2O_2$  e, portanto, a inibição da atividade de catalase resulta na ativação da resistência sistêmica adquirida nas plantas. A CAT proporciona aumento na tolerância ao estresse, passando a ajudar na regulação das respostas e aclimatação aos estresses ambientais e humanos (MONTEIRO, 2017).

Neste contexto, observa-se que a Glutationa Peroxidase (GPx) é uma enzima antioxidante que contém selênio e, além de reduzir efetivamente o  $H_2O_2$ , reduz também peróxidos lipídicos a lipídios alcoólicos. Essas enzimas estão presentes no citoplasma em concentrações milimolares e também estão presentes na matriz mitocondrial. O desequilíbrio redox está envolvido na patogênese e progressão de distintas doenças, incluindo as neurodegenerativas, o câncer, as cardiovasculares, o diabetes mellitus e a hipercolesterolemia. Estas patologias apresentam como características em comum a inflamação crônica que, juntamente com o estresse oxidativo, formam um binômio importante no desenvolvimento das mesmas (DE GROOT et al., 2012).

Por fim, a Glutationa Redutase (GSH Rd), é a enzima responsável pela redução da GSSG à GSH. Os sítios ligantes para GSSG estão situados na interface das duas subunidades que constituem a estrutura quaternária da glutaciona redutase, sendo que cada uma tem um domínio distinto com um sítio ligante para o NADPH. Ela apresenta-se como um alvo para o desenvolvimento de vários tipos de fármacos (GOUVEIA e LIMA, 2017).

Conforme Barbosa et al. (2010), a glutaciona redutase possui ação antioxidante devido à ligação dissulfeto de sua estrutura. Deste modo, observa-se sua importância para o sistema de defesa antioxidante, uma vez que ela catalisa a redução da glutaciona oxidada à glutaciona reduzida (GSH Rd).

### 3.5 SISTEMA NÃO-ENZIMÁTICO

O sistema de defesa não-enzimático inclui, especialmente, os compostos antioxidantes de origem dietética, entre os quais se destacam: vitaminas, minerais e compostos fenólicos. O ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides, licopeno, luteína bioflavonoides, como a genisteína e a quercetina, os taninos, as catequinas,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno, precursores das vitaminas E e A, respectivamente, são compostos vitamínicos potencialmente antioxidantes. Outros carotenoides como licopeno, luteína e zeaxantina, também apresentam potencial antioxidante (MOSCA et al., 2017).

#### 3.5.1 Antioxidantes Dietéticos: Vitaminas, Minerais e Polifenóis

##### 3.5.1.1. Vitamina C e Carotenoides,

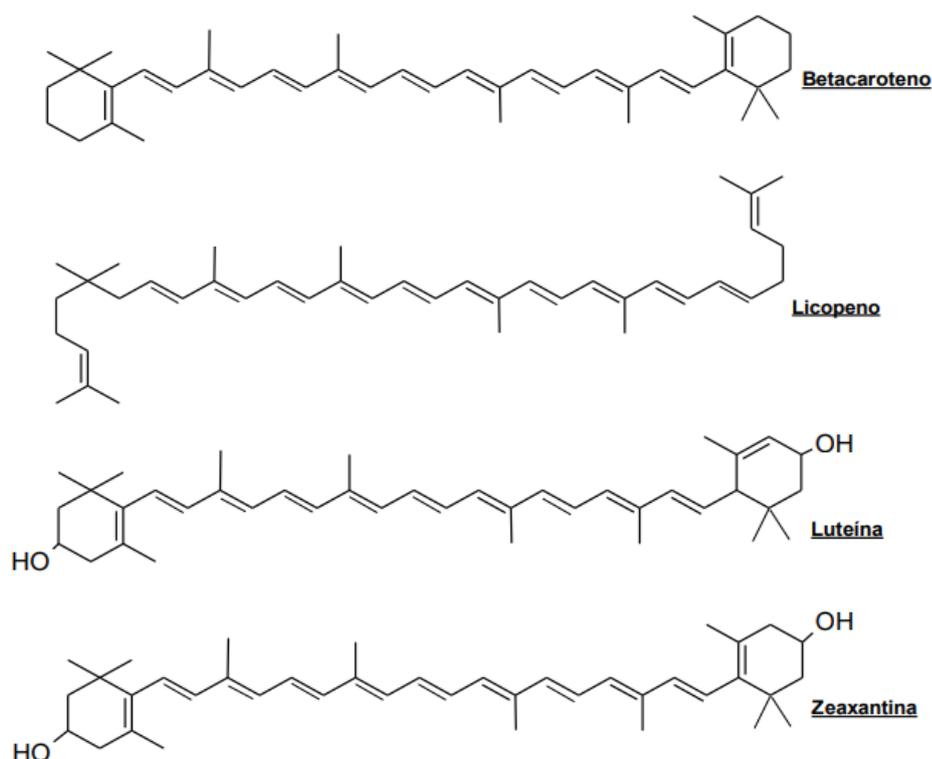
Vitamina C é o nome genérico dado ao ácido ascórbico, uma vitamina hidrossolúvel essencial para a saúde do ser humano, porém, não é sintetizada pelo organismo, sendo necessário adquiri-la de forma exógena, através da dieta, sendo um antioxidante em potencial. No entanto, a presença de metais de transição como o ferro possibilita sua ação oxidante, tornando-a capaz de produzir espécies radicais ( $\text{OH}\cdot$ ) e não-radicaais ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ( BARBOSA et al, 2010).

A denominação carotenóides é derivada do nome científico da cenoura, *Daucus carota*, primeira fonte de caroteno ( $\beta$ -caroteno) isolada por Wackenroder em 1831. Os carotenóides pertencem a um grupo de mais de 700 pigmentos lipossolúveis e uma bioprodução anual de 100 milhões de toneladas torna os carotenóides uma das classes de pigmentos mais difundidas na natureza. Dentre as estruturas de carotenóides, aproximadamente 50 possuem atividade biológica e deste total cerca de 40 podem ser encontradas em alimentos (LERFALL, 2016).

Os carotenoides são pigmentos naturais responsáveis pela cor amarela, laranja ou vermelha de muitos alimentos, uma propriedade de importância tecnológica uma vez que a cor é o atributo que mais influencia a aceitação dos alimentos. Nos dias atuais, estudos têm mostrado outras atividades biológicas atribuídas aos carotenoides, como fortalecimento do sistema imunológico e a diminuição do risco de doenças degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata (RODRIGUES-AMAYA, 2008).

A estrutura de alguns carotenoides encontrados em alimentos estão apresentados na figura 10.

**Figura 10-** Estrutura química de alguns carotenoides encontrados em alimentos.



**Fonte:** Adaptado de Leite, (2017).

Levando em consideração somente os alimentos que contêm mais de 20 µg/g de carotenoides importantes para a saúde. As fontes ricas nesse nutriente encontram-se, principalmente, nas frutas palmáceas e também em alguns tubérculos como a batata-doce, sendo uma importante fonte de β-caroteno em muitos países, especialmente na África. No Brasil, entretanto, esse tubérculo não é tão popular e as variedades comercializadas são usualmente brancas, ou seja, de baixo conteúdo em carotenoides (RODRIGUES-AMAYA, 2008).

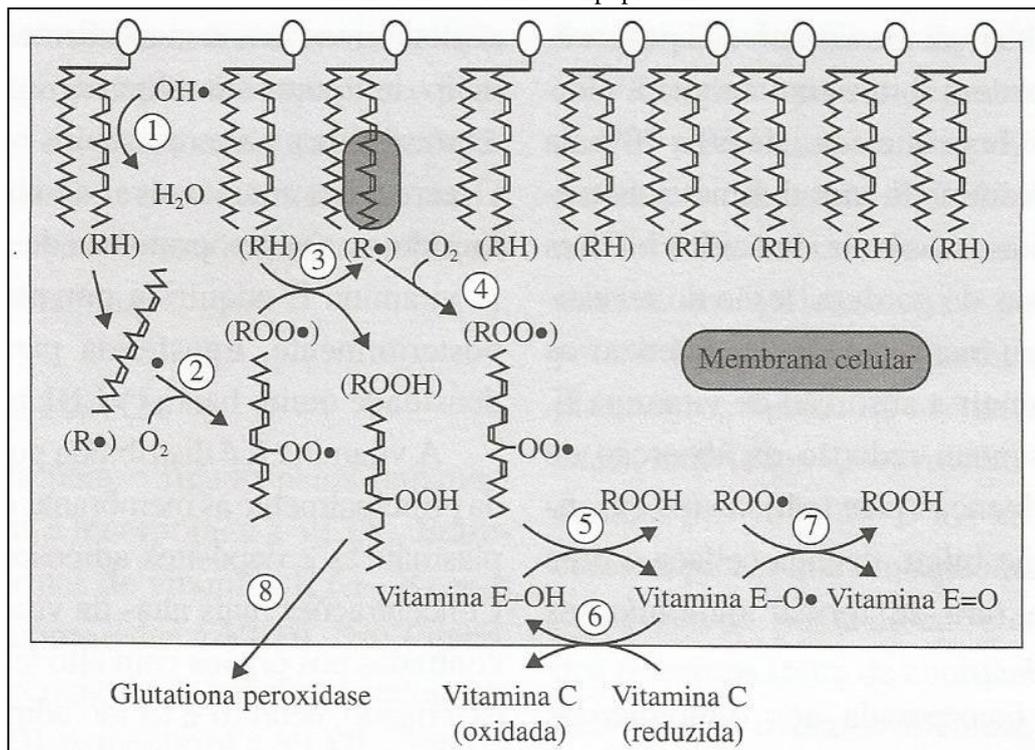
### 3.5.1.2 Vitamina E

A vitamina E é uma vitamina razoavelmente resistente ao calor e a ácidos e instável a álcalis, luz ultravioleta e oxigênio, ela é destruída quando há presença de gorduras rançosas, chumbo e ferro. Ela pode ser encontrada em alimentos de origem animal e vegetal. A gema de ovo e a carne de fígado são as maiores fontes de vitamina E. Enquanto os vegetais verde-escuros, sementes oleaginosas, óleos vegetais e germem de trigo são consideradas as principais fontes de vitamina E de origem vegetal (DA SILVA et al., 2017). Dentre as fontes

de origem vegetal, a polpa de batata-doce e, principalmente, a folha de batata-doce apresentam consideráveis concentrações de vitamina E que, em associação com carotenoides, favorecem o equilíbrio da biodisponibilidade de sais minerais para o organismo, principalmente na regulação do binômio ferro e zinco (MOHANRAJ; SIVASANKAR, 2014; INFANTE et al., 2017).

A importância da vitamina E como alimento funcional deve-se ao seu elevado poder antioxidante, desempenhando importante função na proteção das membranas das células e das lipoproteínas plasmáticas contra a lesão causada pelos EROs (VROLIJK et al., 2015). A vitamina E é capaz de neutralizar as EROS devido ao grupo hidroxila no anel cromanol fornecer prontamente um elétron ou um grupo híbrido para radical livre, provocando sua estabilização (Figura 11).

**Figura 11-** Representação esquemática da atividade antioxidante da vitamina E em uma rota metabólica nas membranas celulares e lipoproteínas.



**Fonte:** Adaptado de Silva et al. (2017).

Para Vrolijk et al.(2015), a ação antioxidante da vitamina E é explicada pelo fato de fornecer átomos de hidrogênio para as membranas celulares, impedindo a reação em cadeia que se propaga nas membranas lipídicas. Estudos indicam que a vitamina E pode modular a

arteriosclerose por outros mecanismos, incluindo a inibição da adesão e a redução do dano oxidativo de células imunes e endoteliais, além de inibir a proliferação de células musculares lisas (DA SILVA et al., 2017). A função antioxidante da vitamina E tem sido amplamente estudada, uma vez que faz parte de um sistema de proteção que envolve outros componentes, como o ácido ascórbico e o selênio (CHITCHUMROONCHOKCHAI et al., 2017).

### 3.5.1.3 Minerais

Os minerais são elementos inorgânicos e estão presentes na maioria dos alimentos que consumimos, seja de origem vegetal ou animal, os quais desempenham importantes funções biológicas no organismo de seu consumidor. Estes elementos não são sintetizados pelo corpo, por isso sua ingestão diária é recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para a manutenção da saúde e o bom funcionamento do organismo (LEITE, 2017). Além disso, os efeitos dos minerais traços, como Cu, Mn, Zn em enzimas antioxidantes como a catalase e superóxido dismutase e o Se pela importância na formação da glutathione peroxidase tem sido amplamente reportados na literatura (FERNANDES; MAFRA, 2016).

Assim, a castanha-do-Brasil é a principal fonte de selênio conhecida até o momento, haja vista que o Selênio é um elemento essencial para o homem e seu estudo é de grande interesse devido às suas propriedades antioxidantes e anticancerígenas. No entanto, há um intervalo de concentração entre o nível essencial e o toxicológico, no qual doses tóxicas são 100 vezes maiores do que aquelas necessárias para as funções fisiológicas. Além disso, o selênio atua como componente da enzima glutathione (GSH-Px), auxiliando na atividade antioxidante e, conseqüentemente, como radioprotetor (ZIMMERMANN; KIRSTEN, 2008).

Outro mineral importante é o zinco. Um componente estrutural da superóxido-dismutase (SOD), presente no citoplasma de todas as células e que catalisa a conversão de dois radicais, íon superóxido e peróxido de hidrogênio, reduzindo a toxicidade das espécies reativas do oxigênio (FERNANDES; MAFRA, 2016).

Dessa forma, o manejo empregado no cultivo das plantas da batata-doce pode influenciar na qualidade nutricional e no conteúdo mineral das raízes. A absorção e conseqüente conteúdo de minerais nas batatas-doces dependem das características da planta, das condições ambientais e do solo utilizado para sua produção (RÓS; NARITA; HIRATA, 2014).

Assim, é necessário uma série de estudos que permita conhecer a distribuição destes componentes e suas influências em diferentes rotas metabólicas e do potencial para atuar como agentes antioxidantes para o combate das EROs (FERNANDES; MAFRA, 2016).

#### 3.5.1.4 Polifenóis

Os polifenóis apresentam várias outras ações biológicas específicas, ainda pouco compreendidas, entretanto, diferentes estudos tem demonstrado de forma efetiva as propriedades antioxidantes de diferentes fontes de origem vegetal (ISLAM, 2014)

Os polifenóis formam grupos heterogêneos, que se dividem em dois subgrupos: os flavonoides e os não flavonoides, sendo ambos compostos de baixo peso molecular, denominados metabólitos secundários, presentes em frutas e vegetais (JOSÉ; CHAVES CARVALHO; WIEST, 2015).

Os flavonoides tem a estrutura química C6-C3-C6 e englobam uma classe de pigmentos naturais sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos. A atividade antioxidante que cada fenol exerce sobre determinado meio representa a principal propriedade biológica dos polifenóis (ISLAM, 2014).

Em relação aos flavonoides se observa ampla distribuição na natureza de modo heterogêneo. Portanto, grupos específicos de alimentos muitas vezes constituem fontes ricas de uma ou mais subclasses desses polifenóis (VIZZOTTO et al., 2018). A análise fitoquímica de folhas de batata-doce de polpa do tipo “amarelo”, especialmente aquele de polpa cor de abóbora revelou, além do amido, quantidades de flavonoides livres e glicosídeos de renol e borneol e triterpenoides especiais (ISLAM, 2014; JOSÉ; CHAVES CARVALHO; WIEST, 2015).

Conforme a literatura científica, diferentes estudos envolvendo a análise fitoquímica das folhas de batata-doce tem demonstrado que esta estrutura é rica em polifenóis, entre eles as antocianinas e os ácidos fenólicos como o ácido caféico, ácido monocateoilquínico (ácido clorogênico), ácido dicafeoilquínico e ácidos de tricateoilquínico. Quando comparado com outras fontes de origem vegetal tem sido observado concentrações de polifenóis superiores que em outras hortaliças (ISLAM, 2014; JOSÉ; CHAVES CARVALHO; WIEST, 2015).

### 3.6. Potencial antioxidante da batata-doce

A batata-doce é uma excelente fonte de compostos antioxidantes, como os compostos fenólicos que incluem ácidos fenólicos e antocianinas, carotenoides e tocoferóis. Estes compostos bioativos atuam como neutralizadores de radicais livres dependendo das cores características dos cultivares (PARI, 2015). Assim, YI et al. (2010), mostraram que as antocianinas poderiam inibir a injúria oxidativa de células do endotélio em virtude das suas estruturas delas, tendo assim um efeito protetor contra a oxidação do LDL.

Além de amidos simples, batata-doce é rica em carboidratos complexos como fibra dietética, minerais como potássio e fósforo, vitaminas como a tiamina, vitamina A, betacaroteno, vitamina B2, vitamina C e vitamina E e compostos antioxidantes. A raiz, no entanto, não contém gorduras saturadas ou colesterol (MOHANRAJ & SIVASANKAR, 2014). A composição química da batata-doce varia com o cultivar, condições climáticas, época da colheita, tratos culturais, duração e condições de armazenamento (RISSO, 2014).

Pesquisadores como Miyazaki et al. (2008), avaliaram o potencial protetor das antocianinas da batata-doce roxa, da cultivar Ayamurasaki (APSP), contra a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) *in vitro* e o desenvolvimento da lesão aterosclerótica em ratos com deficiência de apolipoproteína E., onde foi dada uma dieta enriquecida com colesterol e gordura, com e sem 1% de APSP, adicionado por 4 semanas na dieta de camundongos com 6 semanas de idade. As antocianinas da APSP foram capazes de aumentar a resistência da LDL à oxidação, comparado ao ácido L-ascórbico. Os animais que receberam a dieta suplementada com antocianinas da batata-doce roxa apresentaram uma redução nas lesões ateroscleróticas (45%), nos níveis de TBARS (substâncias que reagem com o ácido L-ascórbico). Os animais que receberam a dieta suplementada com antocianinas da batata-doce roxa apresentaram uma redução nas lesões ateroscleróticas (45%), nos níveis de TBARS (substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico) no fígado e nos níveis plasmáticos de VCAM-1 (molécula-1 de adesão da célula vascular). Porém, o APSP não demonstrou efeito no perfil lipídico no plasma e no fígado.

#### 3.6.1 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante pode ser considerada um marcador sensível e efetivo para detectar mudanças no estresse oxidativo *in vivo*, permitindo a elucidação de fatores fisiológicos e nutricionais importantes, e ainda, oferecendo informações sobre absorção e

biodisponibilidade de compostos antioxidantes (GHISELLI et al., 2000). Vários métodos são usados para elucidar o perfil total de atividade antioxidante, por isso é necessária a utilização de duas ou mais técnicas (PRIOR et al., 2005).

De acordo com Huang et al. (2005), os principais métodos usados para avaliar a capacidade antioxidante podem ser divididos em dois grupos: (i) baseado na reação de transferência de elétrons, representados pelo método de sequestro de radicais livres, DPPH e (ii) baseado na reação de transferência de átomos de hidrogênio, representado pelo ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).

O método DPPH (2,2- Difenil-1 picrilhidrazila) se fundamenta na habilidade de antioxidantes presentes na amostra, se ligarem com o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), um radical livre orgânico estável. A absorção máxima do DPPH é a 515 nm. O decaimento de absorbância do DPPH quando está na presença de um antioxidante indica a transferência do átomo de hidrogênio e/ou elétrons para eliminar o radical DPPH, o radical DPPH pode ser reduzido por um antioxidante ou espécies radicais livres. Conforme o radical é extinto por antioxidantes a cor da solução pode ser visualizada pela mudança da cor de violeta para amarelo claro e a absorbância vai decaindo (SUN et al., 2007).

Frequentemente, usa-se o método DPPH para determinação rápida de capacidade antioxidante em extratos de alimentos, existem, porém, algumas limitações. Uma delas, foi apresentada por Bondet et al. (1997), que reportaram que muitos antioxidantes fenólicos reagiram de forma contínua e lenta com o DPPH, chegando a ser estável entre 1 e 6 horas, o que sugere que a atividade antioxidante poderia ser avaliada ao longo do tempo.

#### **4. ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES**

Os compostos bioativos de materiais vegetais como moléculas com capacidade antioxidante e extrativos podem ser extraídos por vários métodos analíticos clássicos ou convencionais de extração ou métodos analíticos não convencionais. A maioria desses métodos analíticos baseiam-se no poder de extração de diferentes solventes em uso e na aplicação de calor e/ou transferência de massa (AZMIR et al., 2013).

Para obter compostos bioativos de plantas, os métodos analíticos clássicos existentes são: i) extração de Soxhlet, ii) maceração e iii) hidrodestilação. Os principais desafios da extração convencional são o tempo de extração mais longo, o requisito do solvente caro e de

alta pureza, a evaporação da grande quantidade de solvente, baixa seletividade de extração e a decomposição térmica de compostos termolábeis. Neste sentido, alguns dos métodos analíticos mais promissores são extração assistida por ultrassom, extração assistida por enzimas, extração assistida por micro-ondas, extração assistida por campo elétrico pulsado, extração de fluido supercrítico e extração líquida pressurizada. Alguns desses métodos são considerados como "métodos analíticos verdes", pois cumprem os padrões estabelecidos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) no que tange o consumo de reagentes, consumo de energia e geração de resíduos perigosos (AZMIR et al., 2013).

#### **4.1. Estratégias analíticas para determinação da Capacidade Total Oxidante e Compostos Bioativos**

Existem vários métodos analíticos para a determinação da capacidade antioxidante de um componente fitoquímico (AZMIR et al., 2013). De qualquer modo, Pisoschi e Negulescu (2011), propõem o agrupamento desses métodos quanto ao princípio da técnica analítica podendo ser espectrométricos, eletroquímicos ou cromatográficos.

No grupo das técnicas espectrométricas, o produto final de determinação pode ser obtido: 1) por colorimetria (com reagente **DPPH-** (2,2- Difetil-1 picrilhidrazila); **ABTS-**( 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) **FRAP** (Ferric. Reducing Antioxidant Power- Poder antioxidante de redução do ferro) ; ou **CUPRAC-** (copper reducing antioxidant capacity- Método de redução do cobre); 2) pela perda de fluorescência ou fluoresceína (reagente **ORAC** e **HORAC**); 3) intensidade de quimioluminescência (reagente **TRAP-** fosfatase ácido resistente ao tartarato); 4) pelo espectro de emissão do composto bioativo (Fluorimetria) (PISOSCHI; NEGULESCU, 2011).

Nas técnicas analítica eletroquímicas, o produto final de determinação pode ser obtido: 1) pela medição da intensidade do pico catódico/anódico (Voltametria Cíclica); 2) pela medição da intensidade da corrente gerada pela oxidação / redução de um analito eletroativizado (Amperometria); 3) ou pela medição da corrente que flui entre dois eletrodos de trabalho idênticos, com uma pequena diferença de potencial e imerso em uma solução contendo a amostra analisada e uma dupla redox reversível (Bio-amperometria) (PISOSCHI; NEGULESCU, 2011).

Em relação às técnicas cromatográficas há aqueles determinados por cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia líquida (CL). Na CG a separação dos compostos numa mistura

baseia-se na repartição entre uma fase estacionária líquida e uma fase móvel de gás com posterior detecção por ionização do composto bioativo, por condutividade térmica ou detecção por espectrometria de massa. Enquanto que na CL a separação dos compostos numa mistura baseia-se na repartição entre uma fase estacionária sólida e uma fase móvel líquida com diferentes polaridades, com alta taxa de fluxo e pressão da fase móvel e a detecção pode ser realizada por UV-VIS (por exemplo, matriz de diodos), fluorescência, espectrometria de massa ou detecção eletroquímica (AZMIR et al. 2013).

## **5 USO DO HERBICIDA 2,4 D EM CÉLULAS HUMANAS**

A exposição aos agrotóxicos é um problema que envolve toda a sociedade. Esses produtos vêm sendo utilizados em quantidades que aumentam a cada ano. São utilizados na agricultura, pecuária, no combate a vetores, como domissanitários, preservantes de madeiras e com outras finalidades (COSTA et al., 2016).

O composto diclorofenoxiacetato (2,4-D), foi o primeiro herbicida orgânico, seletivo e de aplicação em pós-emergência desenvolvido no mundo. Juntamente com a revolução verde, ele contribuiu para a elevação da produção dos cereais nas décadas posteriores a 1950 (STERLING & HALL, 1997).

O 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) é um dos herbicidas mais utilizados no controle de plantas daninhas de folhas largas do que a agricultura brasileira e mundial, que é potencialmente tóxica para os seres humanos (BOIVIN, 2005). O solo é um dos seus destinos finais.

Esse produto é uma auxina sintética que pode ser utilizada como regulador de crescimento vegetal ou como herbicida para o controle de espécies daninhas dicotiledôneas (MORTENSEN et al., 2012). O principal mecanismo apontado para ação desse herbicida nas plantas é a estimulação da produção de ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) sintase, enzima responsável pela biossíntese do hormônio etileno. De acordo com Grossmann (2010), o aumento da concentração deste hormônio acelera a senescência das plantas e, ao final, a morte. Entre as auxinas sintéticas existem quatro grupos químicos: fenoxialcanoatos (2,4-D, 2,4-DB, MCPA e MCPB), benzoatos (dicamba), piridinacarboxilatos (clopyralid, fluroxipyr, picloran e triclopyr) e quinolinocarboxilatos (quinclorac e quinmerac) (DI MEO, 2012).

O Rio Grande do Sul (RS) é um Estado onde as atividades agropecuárias representam importante atividade econômica. A agropecuária, no seu modelo produtivo convencional,

utiliza como insumo um grande volume de agrotóxicos e sua atividade agrícola segue o modelo nacional, com intenso uso destes e de adubos químicos (COSTA et al., 2016).

No entanto, segundo Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural – Nead do Ministério do Desenvolvimento Agrário, a exposição ao uso de herbicidas à base de 2,4-D representa perigos à saúde, podendo causar desregulação endócrina, perturbações nas funções reprodutivas, alterações genéticas (efeito genotóxico), efeitos cancerígenos e o desenvolvimento da doença neurodegenerativa de Parkinson (FIOCRUZ, 2014).

Infelizmente, no Brasil, boa parte dos mais importantes herbicidas não tem os limites máximos permitidos fixados por qualquer regulamentação, e quando detectados em mananciais, normalmente, estão em concentrações acima dos critérios adotados pelos Estados Unidos e/ou países europeus. Dentre os herbicidas, alguns dos mais detectados e quantificados são: atrazine, clomazone, diuron, glyphosate e 2,4-D (SANTOS et al., 2013).

No presente estudo, foram pipetadas 200µL do herbicida 2,4-D, sendo este, o valor máximo permitido, utilizado nas lavouras do Rio Grande do Sul.

## 6. MATERIAL E MÉTODOS

### 6.1 Delineamento do estudo

Este estudo faz parte do projeto Batata-doce: uma alternativa para a agricultura familiar, idealizado pelo Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, financiado pela Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia/ SDECT-RS, Banco Mundial e Simbiose-Agro.

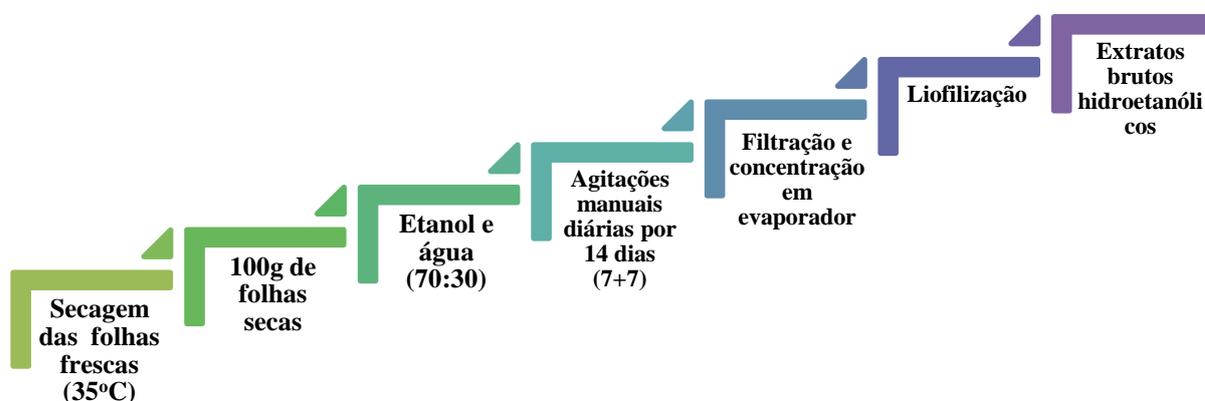
Ele também é oriundo do projeto: Estudo do Efeito antioxidante de diferentes princípios ativos, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da UNICRIZ, sob o parecer consubstanciado, nº. 273.167, de acordo com a Resolução do CNS nº. 466/2012.

### 6.2 Procedimento do Estudo

#### 6.2.1. Preparo do Extrato das folhas de batata-doce

A figura 12 apresenta o fluxograma referente ao preparo dos extratos das folhas de batata-doce.

**Figura 12-** Fluxograma do preparo dos extratos das folhas de batata-doce.



**Fonte:** Adaptado de MORRISON, et al. (1995); WOISKY e SALATINO, (1998); CHANDRA e MEJIA, (2004); SIMÕES, et al. (2010).

## **7. COLETA DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE PARA O PREPARO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE [*Ipomoea batatas* (L ). Lam]**

O plantio das batatas-doce foi realizado no Horto da UNICRUZ, na cidade de Cruz Alta, Rio Grane do Sul, dia 12/09/2017, e as folhas, matéria-prima utilizada neste trabalho, foram colhidas no início mês de Março de 2018 e encaminhadas para o Laboratório de Plantas Medicinais e Estresse Oxidativo - (LAMOXX), também da UNICRUZ.

No laboratório, as folhas foram secas em estufa, a uma temperatura de 35°C. Após a secagem, as folhas foram trituradas, manualmente.

Para o preparo do extrato hidroetanólico da folha foi seguida a metodologia descrita por Simões et al., (2010), que preconiza o uso de etanol e água (70:30) como solventes extratores. Depois da maceração, as matérias vegetais foram submetidas a agitações manuais diárias durante 14 dias, após este período as folhas foram filtradas e concentradas em evaporador rotatório. Após esse processo, o material foi filtrado e concentrado em rotavapor, obtendo-se se 100 mL do extrato hidroetanólico.

### **7.1 Caracterização fitoquímica do extrato hidroetanólico das folhas da batata-doce [*Ipomoea batatas* (L ). Lam]**

#### **7.1.1 Doseamento de polifenóis totais**

A determinação de polifenóis totais foi realizada pelo método do Folin-Ciocalteu, descrito por Chandra e Mejia (2004). Para isto, a amostra foi diluída a uma concentração de 0,150mg/mL em água e acrescida de 2mL de solução de carbonato de sódio a 20%. Após 5 minutos, foi adicionado 0,5mL do reagente Folin-Ciocalteu 2N. A solução foi incubada por 10 minutos e as absorvâncias medidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 730nm, em duplicata. O conteúdo de polifenóis totais foi expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato seco, baseados na curva de calibração do ácido gálico.

#### **7.1.2 Doseamento de flavonoides totais**

O teor de flavonoides totais foi determinado de acordo com o método descrito por Woisky e Salatino (1998). A amostra foi diluída a uma concentração de 1mg/mL em metanol e acrescida de 0,5mL de cloreto de alumínio a 2% e 2,5mL de metanol. Após 30 minutos, as

absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420nm. Os testes foram realizados em duplicata e para o cálculo do doseamento foi utilizada a curva padrão de quercetina. Os teores de flavonoides foram determinados em miligrama de quercetina por grama de extrato seco.

### 7.1.3 Doseamento de taninos condensados

A determinação de taninos condensados foi realizada utilizando o método descrito por Morrison et al. (1995). A amostra foi diluída a uma concentração de 25mg/mL em metanol. Posteriormente, foi adicionado 0,1mL da amostra, 0,9mL de metanol seguidos por 2,5mL de uma solução de vanilina (1g vanilina diluída em 100mL de metanol) e 2,5mL de uma solução contendo 8mL de ácido clorídrico concentrado diluído em 100mL de metanol. A solução foi aquecida à 60°C por 10 minutos e as absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 500nm. As análises foram realizadas em duplicata e o teor de taninos totais foi expresso em miligramas equivalentes de catequina por grama de planta seca, baseados na curva padrão de catequina.

## **8 PROCEDIMENTO DE COLETA E AMOSTRAGEM DE ERITRÓCITOS**

### **8.1 Aspectos éticos**

Foram utilizados, como material biológico, eritrócitos de 15 indivíduos que não possuem doenças crônicas, com idade de 18 a 35 anos, os quais aceitaram participar do estudo, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Anexo I). Foram excluídos dessa pesquisa, indivíduos que não contemplaram esses requisitos.

### **8.2 Coleta e preparo das amostras de sangue**

A coleta de sangue foi realizada com o uso de um vacutainer, contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para obtenção dos eritrócitos. Essas amostras foram centrifugadas imediatamente, a 3000rpm durante 10 minutos e o plasma despresado.

Após a centrifugação, os eritrócitos foram separados e lavados três vezes com solução salina iso5tônica 0,9% e centrifugados. Depois da lavagem final, os eritrócitos foram ressuspenso em solução salina, e em seguida, diluídos até atingirem um hematócrito de 10%, conforme técnica descrita por Catalgol, Ozden e Alpertunga, (2007). Para cada grupo foram utilizadas 1500µL de hemácias a 10%.

Os eritrócitos foram subdivididos em seis grupos experimentais, conforme apresentado na tabela 6:

**Tabela 5-** Descrição dos grupos de estudo

<b>Grupos</b>	<b>Descrição e designação do grupo amostral</b>
Basal	controle do Estudo: eritrócitos expostos e tratados com Salina 0,9%)
2,4-D	Controle do tratamento: eritrócitos expostos ao 2,4D (1,1 g/L) e tratados com Salina 0,9%
2,4-D + 0,5g/mL	Eritrócitos expostos ao 2,4D (1,1 g/L) e tratados com extrato hidroetanólico da batata-doce a 0,5g/L
2,4-D + 1,0g/mL	Eritrócitos expostos ao 2,4D (1,1 g/L) e tratados com extrato hidroetanólico da batata-doce a 1,0 g/L
2,4-D + 2,0g/mL	Eritrócitos expostos ao 2,4D (1,1 g/L) e tratados com extrato hidroetanólico da batata-doce a 2,0 g/L
2,4-D + 10,0g/mL	Eritrócitos expostos ao 2,4D (1,1 g/L) e tratados com extrato hidroetanólico da batata-doce a 10,0 g/L

As quantidades pipetadas de 2,4-D e dos extratos foram de 200 $\mu$ L. A exposição ao herbicida e os tratamentos ocorreram em Banho Maria 37°C por 1 hora (exposição) e mais 1 hora (tratamento), sobre uma mesa agitadora em velocidade lenta e constante, a fim de toda a mistura reacional ficar em contato direto. Após esses procedimentos, os eritrócitos de todos os grupos foram hemolisados com agitação em vórtex durante 10 segundos e centrifugados por 15 minutos a 3000 rpm, sendo o sobrenadante armazenado em freezer a -20°C para posteriores determinações analíticas.

## **9. MARCADORES OXIDANTES E ANTIOXIDANTES**

### **9.1 Determinação dos níveis de TBARS**

Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinados em duplicata, conforme protocolo de Stocks e Dormandy, (1971). Baseado na mistura reacional contendo TCA a 28% (v/v) e TBA 1%, com aquecimento a 95°C. As leituras foram

realizadas em espectrofotômetro visível em 532nm, comprimento no qual a concentração do produto formado na reação (malondialdeído) pode ser medido. Os resultados foram expressos em nmol/g Hb. Os níveis de hemoglobina total foram determinados a partir de metodologia descrita pelos fabricantes do Kit Labtest<sup>®</sup>.

## **9.2 Determinação da Hemoglobina Total**

Os níveis de hemoglobina total foram determinados a partir de metodologia descrita pelos fabricantes do Kit Labtest<sup>®</sup>. Os resultados foram expressos por g de hemoglobina.

## **9.3 Determinação dos níveis de GSH**

A glutathiona reduzida (GSH) foi determinada em duplicata a partir do método descrito por Ellman, (1959), que utiliza o ácido 5',5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) como reagente principal. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro visível em 412nm e os resultados foram expressos por  $\mu\text{mol GSH/mL}$ .

## **9.4 Determinação dos níveis de DPPH**

O extrato hidroetanólico das folhas foi submetido a testes para detecção dos principais constituintes químicos (MATOS, 2009) e também foi avaliada a atividade antioxidante. Para avaliação da atividade antioxidante foi utilizado o método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

## **9.5 Análises estatísticas**

Os resultados das variáveis determinadas neste estudo foram submetidos à análise de distribuição dos dados utilizando os testes: D'Agostino & Pearson omnibus, Shapiro –Wilk e KS. Após os dados que apresentaram distribuição normal, os mesmos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguido do teste de Tukey's e Scott Knott, sendo consideradas significativas diferenças com  $p < 0,05$ .

## 10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos fenólicos totais (CFTs), tem ação antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória e vasodilatadora (ROSSA, 2013), permitindo a prevenção ou redução da ocorrência de lesão celular. Deste modo, de acordo com a tabela 7A, esses níveis de compostos foram avaliados e pode-se verificar que, dentre as 22 espécies de batata-doce estudadas, quatro se destacaram, apresentando maior quantidade de CFTs. Estas foram, em ordem decrescente: Selbach105, Coquinho, Estrela 102 e Amélia (Tabela 6A).

**Tabela 6**

**A-** Níveis de compostos fenólicos totais, flavonóides, taninos e DPPH ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ), o poder redutor e a capacidade quelante dos acessos de folha de batata-doce:

Acessos	Compostos Fenólicos Totais			Flavonoides			Taninos		
	mg/g	TT	SK	mg/g	TT	SK	mg/g	TT	SK
SE 101	261,7	c d	d	46,6	h i	h	81,80	d e f g h	C
SE 105	<b>359,7</b>	<b>A</b>	<b>a</b>	60,2	e f	e	<b>116,4</b>	<b>B</b>	<b>B</b>
Estrela 103	200,1	f g	g	48,1	h	h	70,10	g h i	D
Selbach GV 201	219,6	e f	F	62,3	d e	e	91,50	b c d e f g	C
Brazlândia roxa	223,7	e f	F	59,6	e f	f	85,90	c d e f g h	C
Estrela 104	156,8	h i	J	40,7	i j	i	55,78	e f g h i	C
Selbach GC 204	173,4	g h i	I	51,3	g h	h	69,40	g h i	D
Estrela 102	<b>289,4</b>	<b>b c</b>	<b>c</b>	56,6	e f g	g	<b>114,7</b>	<b>B</b>	<b>B</b>
*BRS Coquinho	<b>312,2</b>	<b>b</b>	<b>b</b>	68,3	c d	d	107,1	b c d	B
*BRS Cuia	231,3	E	F	<b>81,6</b>	<b>b</b>	<b>b</b>	87,60	c d e f g h	C
*Amélia	<b>285,1</b>	<b>b c</b>	<b>c</b>	58,9	e f	f	76,70	f g h i	C
Princesa	184,7	G	h	40,3	j	i	63,40	h i	D
SE 104	268,1	c d	d	<b>90,6</b>	<b>a</b>	<b>a</b>	<b>181,4</b>	<b>A</b>	<b>A</b>
Brazlândia branca	150,3	I	J	56,7	e f g	g	54,30	i j	D
*BRS Rubissol	178,7	g h	h	<b>78,8</b>	<b>b</b>	<b>b</b>	84,50	d e f g h	C
Saldanha Marinho	96,50	j k	k	33,8	k	j	86,40	c d e f g h	C
Selbach 100	197,3	f g	g	48,0	h	h	86,90	c d e f g h	C
Ibirubá 100	103,8	J	k	32,3	k l	j	83,40	d e f g h	C
SE 102	279,8	C	d	50,0	f g	g	93,40	b c d e f g	C
*Brazlândia rosada	246,0	c d	e	<b>72,4</b>	<b>c</b>	<b>c</b>	62,30	h i	D
Copeagri - Ibirubá 205	275,1	C	c	49,3	h	h	<b>111,5</b>	<b>b c</b>	<b>B</b>
Selbach 203	102,5	j k	k	23,4	m	l	102,3	b c d e f	B
Beaure Grand	172,6	g h i	i	61,9	e f	e	103,6	b c d e	B
Selbach 103	75,60	K	l	23,3	l m	k	30,00	J	E
CV (%)	4,2			3,52			9,32		

Letras diferentes, representam diferenças significativas, considerando  $p < 0,05$ .

\*Acessos da CNPH- Embrapa- Brasília

Flavonoides: mg de quercetina /g de extrato seco

TT: Teste de Tukey; SK: Scott Knott.

**B- Acessos de folha de batata-doce com mais princípios ativos com Atividade Antioxidante:**

Acessos	Poder Redutor			DPPH			Capacidade Quelante		
	mg/g	TT	SK	mg/g	TT	SK	mg/g	TT	SK
SE 101	150,8	efg	d	76,89	hijklm	d	84,83	bcdefgh	d
SE 105	149,7	efg	d	170,7	bc	b	87,02	bcdefgh	d
Estrela 103	150,9	k	d	86,94	fghijkl	d	90,08	bcdefgh	d
Selbach GV 201	159,4	def	d	93,16	fghijk	d	78,86	cdefgh	d
*Brazlândia roxa	138,7	efgh	d	125,6	defg	c	102,1	bcdef	c
Estrela 104	69,40	ijk	f	47,63	lmn	e	71,87	cdefgh	d
Selbach GC 204	120,8	fgh	e	33,20	mno	f	99,82	bcdefgh	c
Estrela 102	182,0	bcde	c	175,67	b	b	105,1	bcde	c
*BRS Coquinho	226,5	a	a	119,1	defgh	c	99,90	bcdefg	c
*BRS Cuia	163,4	cdef	f	146,8	bcd	c	122,5	abc	b
*BRS Amélia	207,0	abc	b	139,1	bcd	c	99,82	bcdefg	c
*Princesa	122,9	fgh	e	53,10	klmn	e	84,39	bcdefgh	d
SE 104	195,4	abcd	b	101,1	efghij	d	173,3	a	a
*Brazlândia branca	163,0	cdef	c	103,3	defghi	d	58,50	defgh	e
*BRS Rubissol	181,6	bcde	c	57,70	jklmn	e	109,8	bcd	c
Saldanha Marinho	110,4	ghi	e	25,80	no	f	51,27	fgh	e
Selbach 100	171,9	cde	c	83,95	ghijkl	d	84,84	bcdefgh	d
Ibirubá 100	103,4	hij	e	00,00	o	g	41,87	h	e
SE 102	176,5	cde	c	175,7	b	b	133,9	ab	b
*Brazlândia rosada	225,2	ab	a	130,9	cdef	c	63,62	defgh	e
Copeagri - Ibirubá 205	232,8	a	a	230,3	a	a	64,50	defgh	e
Selbach 203	64,70	jk	f	00,00	o	g	55,83	efgh	e
*Beaure Grand	170,2	cde	c	73,60	ijklm	d	75,03	cdefgh	d
Selbach 103	54,40	k	f	00,00	o	g	49,79	gh	e
CV (%)	9,09			15,06			19,13		

Letras diferentes, representam diferenças significativas, considerando  $p < 0,05$ .

\*Acessos da CNPH- Embrapa- Brasília

TT: Teste de Tukey; SK: Scott Knott.

Neste contexto, podemos ressaltar também a importância dos flavonoides, os quais são considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários das plantas, e são encontrados amplamente, em frutas, folhas, chás e vinhos. Eles são pigmentos naturais importantes e nas plantas tem como principal função proteger estes organismos contra agentes oxidantes (LOPES et al., 2010). Suas principais classes são as antocianinas, flavanas, flavonas, os flavonóis e isoflavonóides (LAZARY, 2010). Em nosso estudo, os quatro acessos que obtiveram melhores níveis de flavonoides foram: Selbach 104, BRS Cuia, BRS Rubissol e Brazlândia Rosada (Tabela 6A).

Na sequência, foram verificados os níveis de taninos. O acesso com maior quantidade deste composto foi a Selbach 104, seguida da Selbach 105, Estrela 102 e Copeagri-Ibirubá 205 (Tabela 6A).

Pesquisadores como Monteiro et al. (2006), afirmam que, em virtude de seu amargor, os taninos impedem o ataque de herbívoros a determinados locais da planta, como folhas,

frutos, sementes e casca. Esses compostos são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais, devido à precipitação de glucoproteínas salivares, resultando na perda do poder lubrificante. Graças à sua comprovada atividade antimicrobiana, acredita-se que os taninos atuem na proteção do vegetal contra o ataque de microorganismos patogênicos (COLLI et al., 2007).

De acordo com a tabela 6B, também foi realizada a avaliação do poder redutor das folhas dos acessos de batata-doce, sendo que os destaques foram: Copeagri-Ibirubá 205, BRS Coquinho, Brazlândia Rosada e BRS Amélia.

Uma técnica baseada no método da eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) também foi realizada, haja vista que de acordo com Shibamoto (2009), esta avaliação é utilizada em mais de 90% dos estudos de avaliação antioxidante de substâncias puras, misturas ou matrizes complexas a fim de avaliar a capacidade antioxidante do extrato. A molécula de DPPH é bastante conhecida por caracteriza-se como um radical orgânico livre estável e tem muitas vantagens, tais como: uma boa estabilidade na ausência da luz, aplicabilidade, simplicidade e viabilidade (DENG, CHENG, YANG, 2011). Neste sentido, percebe-se, que a capacidade de sequestro do radical DPPH foi, novamente maior para o acesso Copeagri-Ibirubá 205, seguida dos acessos Selbach 102, Estrela 102 e Selbach 105, respectivamente.

Finalizando essa primeira etapa do estudo, investigamos a capacidade quelante das folhas dos acessos de batata-doce, que, de acordo com Soares et al. (2014), são compostos bioativos com a capacidade de fixar íons metálicos, formando um complexo (quelato), solúvel e não tóxico, sendo utilizados no tratamento de intoxicações por metais, e verificou-se que o acesso SE 104 foi o destaque, seguido dos acessos SE 102, BRS Cuia e BRS Rubissol.

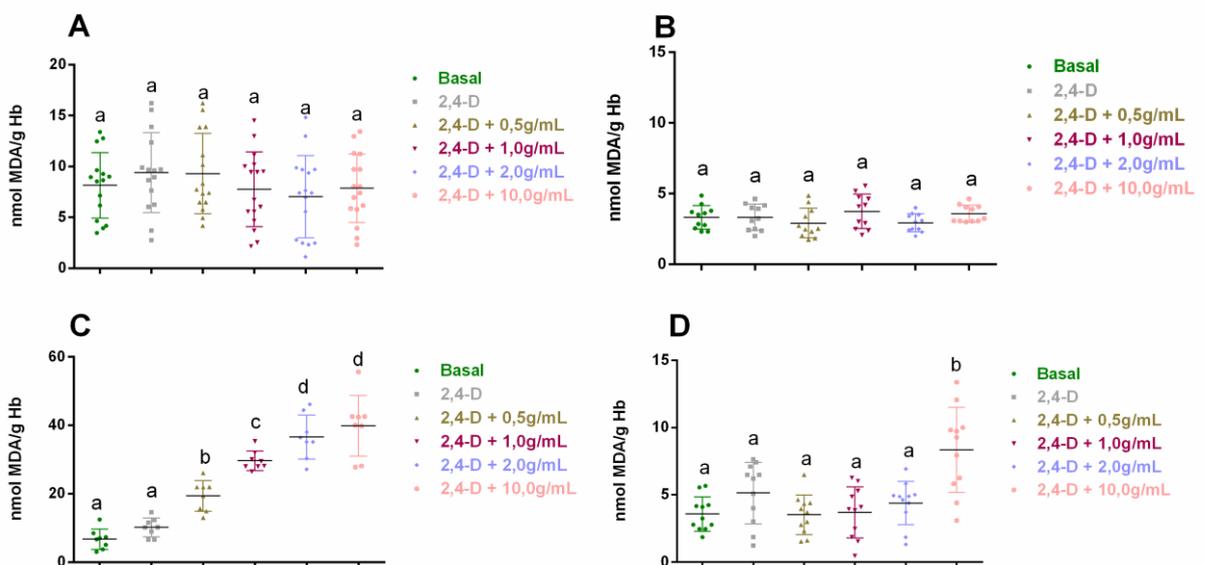
Portanto, de acordo com a tabela 6A e 6B, as 8 (oito) espécies que se destacaram neste estudo, por apresentar maior número e quantidade de fitoquímicos com atividade antioxidante em suas folhas foram: *SE 104, Estrela 102, SE 105, BRS Amélia, Brazlândia Rosada, BRS Cuia, BRS Rubissol e BRS Coquinho*. Lembrando que destes, conforme descrito na metodologia, BRS Cuia, BRS Rubissol e BRS Coquinho são acessos produzidos pela Embrapa, utilizadas como referências neste estudo.

Com 4 destes acessos mais ricos em fitoquímicos, Estrela 102 e SE104 (produtores); BRS Cuia e BRS Coquinho (EMBRAPA-CNPH-Brasília), foram realizados testes *in vitro* com células humanas, os quais geram informações prévias da capacidade antioxidante e /ou

tóxica dos extratos das folhas de batata-doce, frente a uma exposição ao herbicida 2,4-D, necessária para visualizar ou não, futuros testes *in vivo*.

A figura 13 apresenta os níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em eritrócitos expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações do extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce. **A**: Estrela 102; **B**: SE104; **C**: BRS Cuia e **D**: BRS Coquinho.

**Figura 13-** Níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em eritrócitos expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações do extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce. **A**: Estrela 102; **B**: SE104; **C**: BRS Cuia e **D**: BRS Coquinho.



Legenda: inclusa nas figuras

Letras diferentes, representam diferenças significativas, considerando  $p < 0,05$ ., após realização do Teste de Tukey;

N: 15

Na figura 13 A, B, C, D, foram apresentados os níveis de TBARS detectados após o tratamento dos eritrócitos expostos ao 2,4-D, com diferentes concentrações (0,5; 1,0; 2,0 e 10,0 mg/g) dos extratos hidroetanólicos das folhas dos 4 acessos testados, em que foi observado que nos tratamentos realizados com as folhas oriundas de produtores rurais das cidades de Selbach-RS e Estrela-RS, não houve alterações no grau de lipoperoxidação (Figura 13 A e B), revelando que esses extratos não possuem uma significativa toxicidade aos lipídeos presentes nestas células, tampouco, possuem capacidade antioxidante.

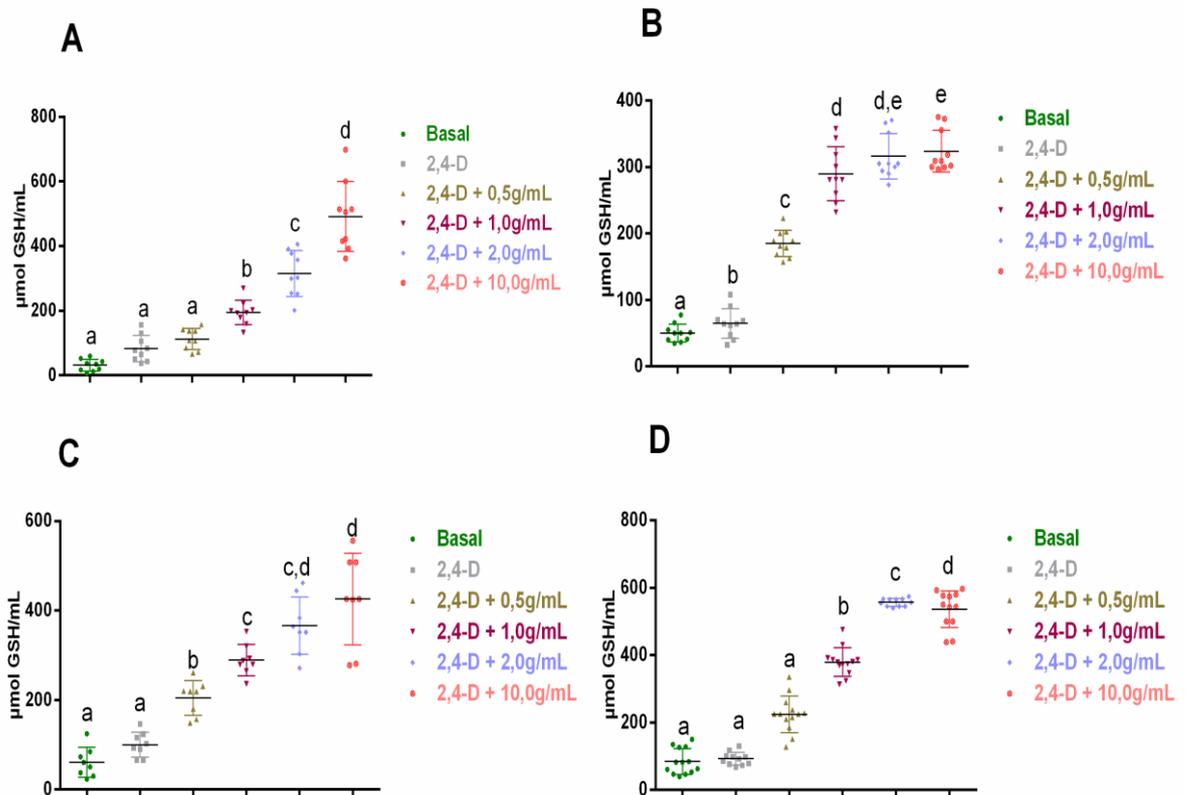
Por outro lado, o TBARS foi elevado, de maneira proporcional, ao aumento da concentração do extrato da cultivar BRS Cuia (Figura 13 C). Essa elevação na

lipoperoxidação também foi evidente com o tratamento realizado com o extrato hidroetanólico das folhas da BRS Coquinho (Figura 13 D).

Estes danos gerados pelos extratos das folhas da BRS Cuia e da BRS Coquinho indicam que, dependendo da concentração testada, a lipoperoxidação torna-se evidente, havendo a necessidade de um cuidado especial na utilização desses dois acessos de batata-doce na aquisição de nutracêuticos para fins terapêuticos ou preventivos. Já que o aumento do dano oxidativo em lipídeos podem desencadear arterosclerose, câncer, Parkinson, Alzheimer, entre outras patologias (SOARES et al., 2014).

A figura 14 apresenta os níveis de Glutathiona Reduzida em eritrócitos expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações do extrato hidroetanólico de 4 acessos de folha da batata-doce.

**Figura 14-** Níveis de Glutathiona Reduzida (GSH) em eritrócitos expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações do extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce. **A:** Estrela 102; **B:** Selbach 104; **C:** BRS Cuia e **D:** BRS Coquinho.



Legenda: inclusa nas figuras

Letras diferentes, representam diferenças significativas, considerando  $p < 0,05$ ., após realização do Teste de Tukey;

N: 15

Na figura 14 A, B, C, D, foram apresentados os níveis da GSH detectados após o tratamento dos eritrócitos expostos ao 2,4-D, com diferentes concentrações (0,5; 1,0; 2,0 e 10,0 mg/g) dos extratos hidroetanólicos das folhas dos 4 acessos testados. Verificou-se que todos os quatro acessos elevaram os níveis de GSH, proporcionalmente, ao aumento da concentração do extrato estudado. Esse resultado indica um efeito benéfico em termos de prevenção, tendo em vista que a GSH é o principal agente antioxidante endógeno e com o aumento deste marcador entende-se que o organismo estará mais preparado para enfrentar um possível aumento de ERs e evitar assim, a ocorrência de estresse oxidativo.

Contudo, ao ser avaliada a Figura 13 C e D em conjunto com a Figura 14 C e D verificou-se que pode ocorrer um aumento dos níveis dos danos lipídicos mesmo com um significativo aumento da GSH, servindo de alerta para a necessidade de maiores avaliações para analisar o real efeito antioxidante destes extratos.

Além do mais, durante os experimentos foi-se verificado a ocorrência de hemólise, conforme imagem da figura 15, que, visivelmente, parecia ser, diretamente proporcional à concentração do extrato, adicionada nos tubos de ensaio.

**Figura 15-** Foto do sobrenadante, após a hemólise no Vórtex, pós exposição e tratamento, em que os marcadores foram avaliados.



Fonte: O autor (2018).

F2: Folha Selbach 104

016: Basal

B16: 2,4-D+ 1,1 g/L+NaCl 0,9%

16.1: 2,4D+ 0,5 g/mL

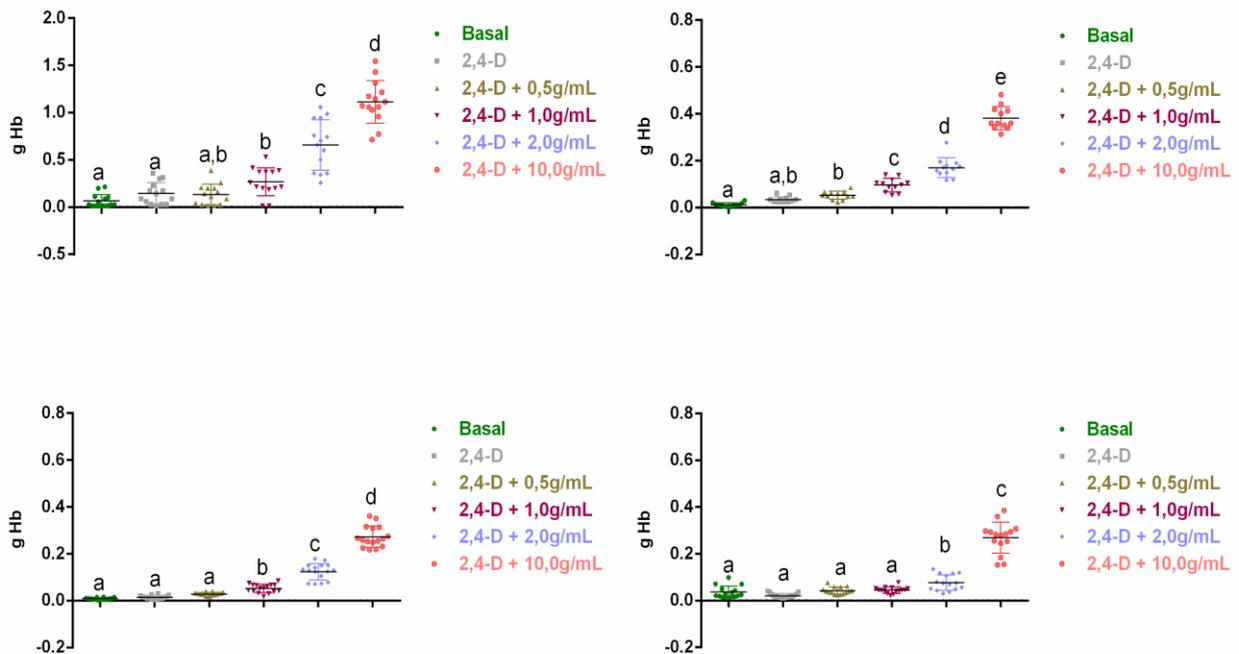
16.2: 2,4D+ 1,0 g/mL

16.3: 2,4D+ 2,0 g/mL

16.4: 2,4D+ 10,0 g/mL

Assim, para a confirmação da ocorrência de hemólise analisou-se os resultados da hemoglobina, determinada após a realização da exposição e do tratamento dos eritrócitos (Figura 16 A, B, C e D).

**Figura 16-** Hemoglobina, após exposição e tratamento dos eritrócitos diluídos em NaCl a 0,9%, expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações de extrato hidroetanólico das folhas de 4 acessos de batata-doce.



Legenda: inclusa nas figuras

Letras diferentes, representam diferenças significativas, considerando  $p < 0,05$ ., após realização do Teste de Tukey;

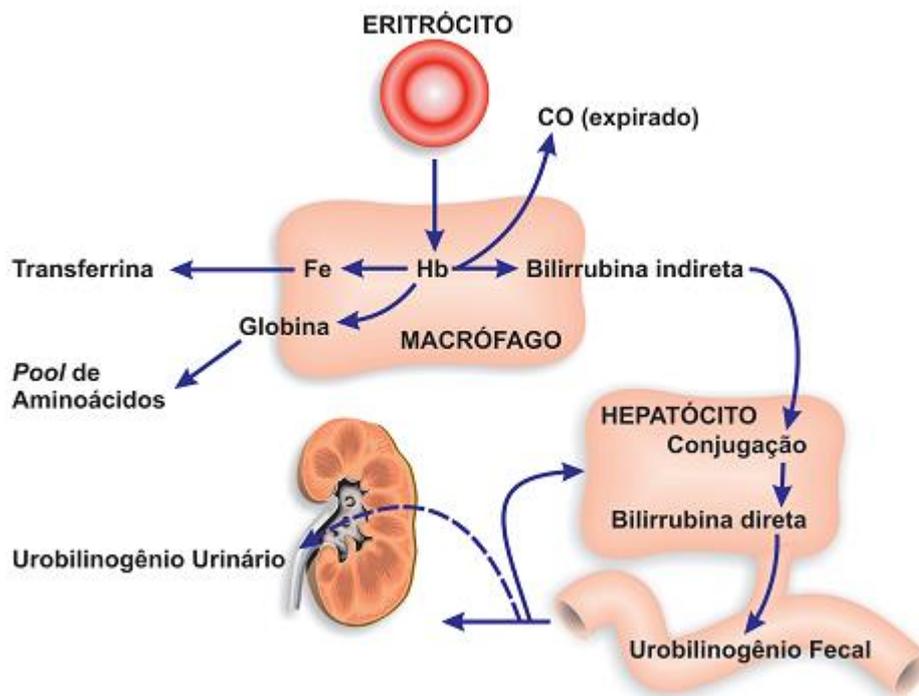
N: 15

Na figura 16, foram apresentados os níveis de Hb em eritrócitos diluídos em NaCl a 0,9%, expostos ao 2,4-D e tratados com diferentes concentrações de extrato hidroetanólico das folhas de 4 acessos de batata-doce, em que observou-se a ocorrência de hemólise a qual aumentou, proporcionalmente, à concentração dos extratos adicionados.

Quando ocorre a quebra das hemácias e a ruptura da membrana plasmática em que há liberação da hemoglobina, dá-se o nome de hemólise. De modo geral, as hemácias corporais têm sobrevida de aproximadamente 120 dias, após esse período, elas são destruídas pelo baço, no fígado e na medula óssea e substituídas por novas (VIEIRA e UBALDO et al., 2012).

Nos casos em que essa regra do organismo é quebrada, e as hemácias são destruídas antes do tempo, podendo gerar uma série de complicações como, por exemplo: a anemia hemolítica, a anemia faciforme, *icterícia*, *esplenomegalia*, *hipóxia* tecidual, estresse oxidativo etc. Na figura 17, há a apresentação do catabolismo da hemoglobina, após a hemólise (COSTA et al., 2013). (Figura 17):

**Figura 17-** Catabolismo da hemoglobina após a hemólise



Fonte: Costa et al. (2013), apud Zago, (2013).

Portanto, estes resultados nos mostraram que, para a indicação correta de um nutracêutico no tratamento ou prevenção de danos e patologias, deve-se fazer todos os testes de toxicidade indicados pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), a fim de se eximir quaisquer dúvidas quanto a toxicidade do item estudado. No caso do referido estudo, os testes mostraram que o extrato hidroetanólico das folhas de batata-doce podem ser tóxicos ao organismo humano, o que requer continuidade nas pesquisas.

## 11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitos estudos apontam a relação da alimentação com o desenvolvimento de algumas doenças crônicas, ligadas, em especial, ao estresse oxidativo, como câncer, diabetes, obesidade, hipertensão, entre outros, assim, é grande a importância dos alimentos para a manutenção e qualidade de vida.

Neste contexto, vemos que a frase: “*Faça de seu alimento o seu medicamento*”, afirmada por Hipócrates no milênio passado, ganha local de interesse nos dias atuais, uma vez que os alimentos funcionais, em especial, desempenham o papel não apenas de nutrir, mas também, de agregar benefícios à saúde.

Vemos que a raiz da batata-doce, é um alimento de fácil acesso e cultivo, rica em compostos fitoquímicos, com atividades antioxidantes, a qual é muito conhecida por praticantes de atividade física e interessados na perda ou manutenção do peso, recebendo especial atenção para as pesquisas atuais, relacionadas, entre outros fatores, à prevenção de doenças crônicas não transmissíveis.

No entanto, as folhas da batata-doce ainda são pouco consumidas e estudadas. Assim, surgiu o interesse em avaliar a viabilidade do seu uso (partes estas, ricas em compostos bioativos), mas ainda desprezada por grande parcela da população mundial, analisando se há ou não benefícios em seu consumo.

No decorrer do estudo verificamos um aumento nos níveis de GSH, proporcionalmente, ao aumento da concentração do extrato de todos os acessos de batata-doce (*Ipomoea batatas L- Lam*) estudados, indicando efeito benéfico dessas batatas, em termos de prevenção, já que com o aumento da Glutathione reduzida, aumenta o potencial antioxidante, frente à possíveis elevações nas produções de espécies reativas que, quando não neutralizadas, desencadeiam o estresse oxidativo.

Por outro lado, também verificamos aumento dos níveis dos danos lipídicos em dois acessos estudados (BRS Cuia e BRS Coquinho), mesmo com um significativo aumento da GSH, sendo evidenciada também, a presença de hemólise nos testes *in vitro* realizados.

Esses indicativos apontam para a importância de verificarmos todos os possíveis modos de toxicidade, pois como neste caso, a folha pode ter fitoquímicos, aumentar a GSH, mas também pode desenvolver lipoperoxidação e hemólise, podendo desencadear doenças graves como a anemia hemolítica.

Assim, é fundamental que os nutricionistas conheçam mais os reais benefícios e/ou malefícios dos alimentos que recomendam em suas prescrições dietéticas, evitando que danos oxidativos desnecessários aconteçam, haja vista que o conhecimento técnico sobre alimentação e nutrição é de grande valia para auxiliar no incremento de novas pesquisas, no desenvolvimento de alimentos e novos produtos com fins nutracêuticos, favorecendo a promoção da saúde.

## 12. REFERÊNCIAS

- ABDALLA, D. S. P.; SENA, K. C. M. Biomarcadores de peroxidação lipídica na aterosclerose. **Rev. Nutr**, v. 21, n. 6, p.749-756, 2008.
- AKOETHEY, W; BRITAIN, M M; MORAWICKI, RO. Potencial para utilização de subprodutos do cultivo e processamento de batata-doce. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.47: 05, e20160610, 2017.
- ANTIAL, B. S.; AKPANZ, E. J.; OKONL, P. A.; UMORENL, I. U. Nutritive and anti-nutritive evaluation of sweet potatoes. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 5, n. 2, p. 166-168, 2006.
- APOSTOLOVA, N.; VICTOR, V. M. Molecular Strategies for Targeting Antioxidants to Mitochondria: Therapeutic Implications. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 22, n. 8, 2015.
- ASADI S.; AHMADIANI A.; ESMAEILI M A.; SONBOL A.; ANSARI, N; KHODAGHOLI F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 5, p. 1341-1349, 2010.
- AYALA, A.; MUÑOZ, M.F.; ARGÜELLES, S. Lipid Peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2014, 2014.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I.S.M.; RAHMAN, M.M.; SHARIF, K.M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M.H.A.; GHAFOOR, K.; NORULAINI, N.A.N.; OMAR, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.
- BALMUS, I. M.; et al. Oxidative Stress Implications in the Affective Disorders: Main Biomarkers, Animal Models Relevance, Genetic Perspectives, and Antioxidant Approaches. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016.
- BARAIBAR, M. A. et al. Protein Oxidative Damage at the Crossroads of Cellular Senescence, Aging, and Age-Related Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2012.
- BARBOSA, K. B. F; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. G.; DE PAULA, S. O.; MININ, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr**., v. 23, n. 4, 2010.
- BERDAHL, DR.; NAHAS, RI.; BARREN, JP. Synthetic and natural antioxidant additives in food stabilization: current applications and future research. In: DECKER, EA.;ELIAS, RJ., et al (Ed.). Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Philadelphia, PA: Woodhead Publishing, v.1, 2010. cap. Antioxidants in foods and beverages, p.408
- BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **WAO Journal**, v.5, n.1, p.9-19, 2012.

BOIVIN, A. et al. Degradação do ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) e dinâmica de degradação em três solos agrícolas. **Poluição Ambiental**, n. 138, p. 92-99, 2005.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 609-615, 1997.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R.; Antioxidantes Princípios e Métodos Analíticos, 1. ed. – Curitiba, Appris, 2015.

CAMARGO, L. K. P. Caracterização de acessos de Batata doce do Banco de Germoplasma da Unicentro, PR. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, **Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná**. 2013. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/30073>. Acesso em: 01/05/2017.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v.51, p.15-25, 2013.

CATALGOL, B.K., OZDEN, S., ALPERTUNGA, B. Effect of trichlorfon on molondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. **Toxicol. In Vitro**. 21 (2007)

CEPE USP. O que são radicais livres? 2013. Disponível em <http://www.cepe.usp.br/site/?q=dicas>. Acesso em: 25/11/2017.

CESARE, MA; PORTO,RR; BANDEIRA,BB; BRUXEL,MA. Potencial dos extratos liofilizados de folhas de batata doce de polpa roxa (*Ipomea batatas*) no tratamento metabólico da obesidade. XXI Feira de Iniciação à Inovação e ao Desenvolvimento Tecnológico – FINOVA/2012.

CHANDRA, S.; GONZALEZ DE MEJIA E. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2004; 52: 3583-9.

CHANG, W. H.; CHEN, C. M.; HU, S. P.; KAN, N. W.; CHIU, C. C.; LIU, J. F. Effect of purple sweet potato leaves consumption on the modulation of the immune response in basketball players during the training period. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 16, n. 4, p. 609-615, 2007.

CHANG, W. H.; HU, S. P.; HUANG, Y. F.; YEH, T. S.; LIU, J. F. Effect of purple sweet potato leaves consumption on exercise-induced oxidative stress and IL-6 and HSP72 levels. **Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 6, p. 1710-1715, 2010.

CHEN CM, LI SC, CHEN CY, AU HK, SHIH CK, HSU CY, LIU JF. Constituents in purple sweet potato leaves inhibit in vitro angiogenesis with opposite effects ex vivo. **Nutrition**, 2011.

CHITCHUMROONCHOKCHAI, C.; DIRETTO, G.; PARISI, B.; GIULIANO, G.; FAILLA, M. L. Potential of golden potatoes to improve vitamin A and vitamin E status in developing countries. **PloS one**, v. 12, n. 11, 2017.

COLLI, A. et al. Propriedades físico-mecânicas e preservação, com boro e tanino, do *Bambusa tuldoides* (Munro). **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 14, n. 1, p. 56 - 64, 2007.

COMINETTI C; BORTOLI MC; ABDALLA, DSP; COZZOLINO, SM F. Considerações sobre estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. **Nutrire: Revista Sociedade Brasileira Alimentos Nutrição**, v. 36, n. 3, p. 131-153, 2011

COSTA, FF et al., Síndrome Hemolítica. Fisiopatologia e Clínica. Classificação. **Tratado de Hematologia**. 11/2013, ed. 1, 1, Atheneu, Vol. 1, pp. 7, pp.161-167, 2013.

COSTA, E.T et al., Cenário da Intoxicação por Agrotóxicos no Rio Grande do Sul. **Bol. Epidemiológico** | v.18 | n. 1/março 2016 e n. 2/junho 2016 1

DA SILVA, A. O.; SAMPAIO, F. A.; DE QUEIROZ, I. P. C. DA S.; CONCEIÇÃO, K. N.; DA SILVA, V. F. Poder antioxidante de carotenoides, flavonoides e vitamina e na prevenção da arteriosclerose. **Revista Ciência & Saberes-Facema**, v. 2, n. 4, p. 320-324, 2017.

DAVIES, M. J. Protein oxidation and peroxidation. **Biochem. J**, v. 473, p. 805–825, 2016.

DE GROOT, L.; ABALOVICH, M.; ALEXANDER, E. K.; AMINO, N.; BARBOUR, L.; COBIN, R. H.; MESTMAN, J. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society clinical practice guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 8, p. 2543-2565, 2012.

DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay., **Food Chemistry** v. 125, n. 4, p. 1430-1435, 2011.

DI MEO, N. L. Understanding the inheritance and mechanism of auxinic herbicide resistance in wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.). 118 f. Thesis (Master of Science in Environmental Biology) University of Guelph, Guelph, 2012.

DOMBROSKI, J.L.D; et al.Indução de Calos em três variedades de Batata-doce. **Revista Verde**, 5:129-133, 2010

DUMITRIU, D.; PEINADO, R. A.; PEINADO, J.; LERMA, N. Grape pomace extract improves the in vitro and in vivo antioxidant properties of wines from sin light dried Pedro Ximénez grapes. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 380-387, 2015.

ELLMAN GL. Tissue sulfhydryl groups. **Arch Biochem Biophys** 1959;82:70-77.

ESCARPA, A.; GONZALEZ, M. C. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 57-139, 2001.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011. Novas cultivares de batata-doce chegam ao mercado.

Disponível em: "<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18147344/novas-cultivares-de-batata-doce--chegam-ao-mercado>. Acesso em: 28/10/2018.

\_\_\_\_\_.A cultura da batata-doce.**Coleção Plantar**. Brasília. DF, 1995. Disponível em:"<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/162018/1/A-cultura-da-batata-doce.pdf>. Acesso em:28/01/2018

FAOSTAT Estatística Banco de Dados da Food and Agriculture Organization das Nações Unidas, Roma, Itália. 2016 <http://faostat3.fao.org/home>. Acesso em: 02/04/2017.

FERNANDES, A. G.; MAFRA, D. Zinco e câncer: uma revisão. **Saúde. com**, v. 1, n. 2, 2016.

FIOCRUZ- ENSP. Vigilância Sanitária. Parecer técnico destaca perigos à saúde por uso de 2,4-D em herbicidas. Disponível em: "<http://www6.ensp.fiocruz.br/visa/?q=node/6083>". Acesso em: 28/12/2018.

FOOD INGREDIENTS BRASIL- FIB. Dossiê Antioxidantes. N. 6, 2009. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>. Acesso: 28/11/2017.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. - Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n.11, p.1106-1114, 2000

GOUVEIA, S. S.; LIMA, A. A. Relação entre espécies reativas de oxigênio e a promoção carcinogênica. **Braz. J. Surg. Clin. Res.** V. 20, n. 2, pp.174-179 (Set - Nov 2017).

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v.70, p.257–265, 2012.

HÖHN, A.; KÖNIG, J.; GRUNE, T. Protein oxidation in aging and the removal of oxidized proteins. **Journal of Proteomics**, v.30 n.92, p.132-159, 2013.

HORN, R.C. et al. Antioxidant Effect of Physalis Peruviana Fruit Aqueous Extract. **Journal of Agricultural Science**, vol.7, n.12, p.137-143, 2015

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

HUANG, D., OU, B., PRIOR, RL. (2005) The Chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 1841-1856.

HUANG, M. et al. Inhibitory effects of sweet potato leaves on nitric oxide production and protein nitration. **Food Chemistry**, v.121, n.2, p.480-486, 2010b.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; ÂNGELO, F. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31 n. 5, p. 1170-1179, 2008.

ISLAM, S. Nutritional and Medicinal Qualities of Sweet potato Tops and Leaves. **Cooperative Extension Service, University of Arkansas**, 2014.

JARA-PALACIOS, M. J.; HERNANZ, D.; CIFUENTES-GOMEZ, T.; ESCUDERO-GILETE, M. L.; HEREDIA, F. J.; SPENCER, J. P. Assessment of white grape pomace from winemaking as source of bioactive compounds, and its antiproliferative activity. **Food Chemistry**, v. 183, p. 78-82, 2015.

JOSÉ, A. E. Compostos fenólicos e atividade antibacteriana em acessos de Ipomoea Batatas (L.) Lam. Batata doce. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Ciências e Tecnologia de Alimentos. **Programa de Pós-Graduação em Ciência de Tecnologia de Alimentos**, Porto Alegre, BR RS, 2012.

JOSÉ, A. E.; CHAVES CARVALHO, H. H.; WIEST, J. M. A valiação do efeito antibacteriano de extratos de folhas de batata-doce (Ipomoea batatas L.) frente a bactérias de interesse em alimentos e correlação com os compostos fenólicos. **Revista Ceres**, v. 62, n. 5, 2015.

JUROWSKI, K.; SZEWCZYK, B.; NOWAK, G.; PIEKOSZEWSKI, W. Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 19, n. 7, p. 1069-1079, 2014.

KASOTE, D. M. *et al.* Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. **International Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 8, p. 982-991, 2015.

KEHRER, J. P.; KLOTZ, L. O. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. **Critical Reviews in Toxicology**, 2015.

KIM, HJ.; Park, WS.; BAE, J.-Y.; KANG, SY.; YANG, MH.; LEE, S.; LEE, H.-S.; KWAK, S.-S.; AHN, M.-J. Variations in the carotenoid and anthocyanin contents of Korean cultural varieties and home-processed sweet potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, 41, 188-193, 2015.

KOEKOEK, W. A. C.; VAN ZANTEN, A. R. H. Antioxidant vitamins and trace elements in critical illness. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 31, n. 4, p. 457-474, 2016.

KUPSCO, A.; SCHLENK, D. Oxidative stress, unfolded protein response, and apoptosis in developmental toxicity. **Int Rev Cell Mol Biol**, v. 317, 2015.

LAZARY, VMD. Efeitos do consumo do isoflavona na prevenção do câncer de mama. [Monografia]. Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Núcleo de Estudos em Educação e Promoção da Saúde, **NESPROM**, Brasília, 2010.

LEBOT, V., 2009. Tropical root and tuber crops: cassava, sweet potato, yams and aroids. **Crop production science in horticulture**, Wallingford, UK, 2009.

LEITE, C. E. C. Novas cultivares de batatas-doces (Ipomoea batatas L. Lam.): potencial nutricional, composição de bioativos, propriedades antioxidantes e análise digital de imagem. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

LERFALL, J. Carotenoids: occurrence, properties and determination. In: Smithers, G. (Ed.) - Reference module in food science: **Encyclopedia of food and health**. Cambridge, Elsevier, p. 663-669., 2016.

LIMA, É. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, 2001.

LIU, F.; MA, C.; GAO, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Food-Grade Covalent Complexes and Their Application as Nutraceutical Delivery Systems: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 1, p. 76-95, 2017.

LOPES, RM.; OLIVEIRA, TD., NAGEM, TJ., PINTO, ADS. Flavonóides. *Biotecnologia Ciência& Desenvolvimento*. 2010;3(14).

MARTÍNEZ-FLORES, S.; GONZÁLEZ GALLEGOS, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutr. Hosp.**; v. 17, n. 6, p. 271- 276, 2002.

MALUF, W. R. A batata doce e seu o potencial na alimentação humana, na alimentação animal, e na produção de etanol biocombustível, 2003. Disponível em: [http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev\\_7/MALUF.PDF](http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_7/MALUF.PDF). Acesso em: 08/05/2017.

MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental, **Edições UFC**, Ceará, Barsil, 2009.

MIYAZAKI, K.; MAKINO, K.; IWADATE, E.; DEGUCHI, Y.; ISHIKAWA, F. - Anthocyanins from purple sweet potato ipomoea batatas cultivar ayamurasaki suppress the development of atherosclerotic lesions and both enhancements of oxidative stress and 70 soluble vascular cell adhesion molecule-1 in Apolipoprotein E-deficient mice, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.23, p.11485-11492, 2008.

MOHANRAJ, R.; SIVASANKAR, S. Sweet Potato (Ipomoea batatas [L.] Lam) -A valuable medicinal food: A review. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 7, p. 733-741, 2014.

MONTEIRO, GC. Método da atividade da catalase. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA INSTITUTO DE BIOCÍÊNCIAS Departamento de Química e Bioquímica Análises Químicas e Bioquímicas em vegetais. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/QuimicaeBioquimica/BioquimicaPos-Colheita/metodo-da-atividade-da-catalase-cat.pdf>. 2017.

MOHANRAJ R; SIVASANKAR S. Sweet potato (Ipomoea batatas [L.] Lam) – Avaluable medicinal food: a review. **J Med Food**. 2014 Jul;17(7):733-41.

MORAIS, M.B et al. Estresse múltiplo no metabolismo oxidativo de variedades de cana-de-açúcar. **Cienc. Rural**, 2018, vol.48, n.4

MORRISON, M., ASIEDU, E.A., STUCHBURY, T., POWELL, A.A. Determination of Lignin and Tannin contents of cowpea seeds coats. **Annals of Botany**, v.76, n. 3,p. 287-290.1995.

MORTENSEN, D. A. et al. Navigating a critical juncture for sustainable weed management. **Bioscience**, v. 62, n. 1, p. 7584, 2012.

MOSCA, SS; SANCHES, RA;COMUNE, AC. A Importância dos Antioxidantes na neutralização dos Radicais Livres: **Revista Saúde em Foco** – Edição nº 9 – Ano: 2017

NOVAES, G. M.; SILVA, M. J. D.; ACHKAR, M. T.; VILEGAS, W. Compostos antioxidantes e sua importância nos organismos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 535-539, 2014.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. **Fundamentos de Toxicologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2014. 704p.

OLIVEIRA, M. C. de; SCHOFFEN, J. P. F. Oxidative stress action in cellular aging. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 53, n. 6, p. 1333-1342, 2010.

PARI, Y,N,V. Avaliação das Propriedades Antioxidantes presentes no Extrato de Batata-Doce Roxa (*Ipomoea batatas* (L.) lam). Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de Campinas –UNICAMPI, 2015.

PAM, Produção Agrícola Municipal: culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro: **IBGE**, 2014. v..41, 100 p.

PARI, Y.N.V. Avaliação das propriedades antioxidantes presentes no extrato de batata doce roxa (*Ipomoea batatas* (L.) lam). 2015. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP..

PEREIRA, W. L. et al. Ação antiproliferativa do flavonoide morina e do extrato da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) contra a linhagem de célula H460. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 17, n. 4, p. 798-806, 2015.

PESTANA, C. M. D. Efeitos do processamento sobre a biodisponibilidade de carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante em quatro cultivares de batata-doce (*Ipomea Batatas* L.) biofortificados. Piracicaba, 2011. 86 p.:il. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

PISOSCHI, A. M.; NEGULESCU, G. P. Methods for total antioxidant activity determination: a review. **Biochemistry and Analytical Biochemistry**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2011.

PIZZIMENTI, S. et al. Interaction of aldehydes derived from lipid peroxidation and membrane proteins. **Frontiers in physiology**, v. 4, n. 242, 2013.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. - Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4290-4302, 2005

RATNAM, D. V.; ANKOLA, D. D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D. K.; KUMAR, M. R. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical prospective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, p. 89-207, 2006.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. KIMURA, M; AMAYA-FARFAN, J. Fontes Brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos-Brasília: MMA/SBF, 2008. 100 p.

RÓS, A. B.; TAVARES FILHO, J.; BARBOSA G. M. C. Produtividade da cultura da batata doce em diferentes sistemas de preparo do solo. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 2, p.140-145 2014.

ROSSA, U. B. Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização. 2013, 208f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)– Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SANTOS, E.A; CORREIA, N.M; BOTELHO, R.G. Resíduos de herbicidas em corpos hídricos - Uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.12, n.2, p.188-201, mai./ago. 2013

SANTI, M.M., et al., Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea* DC. Por HPLC-DAD. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.2, p.256-261, 2014.

SALUD, N. M. et al. Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, GO; PONIJALEKI, R; SUINAGA, F.A. Divergência genética entre acessos de batata doce utilizando caracteres fenotípicos de raiz. **Horticultura Brasileira** 30: 595-599. 2012.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1102p.

SOARES, IM et al. Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de diferentes cultivares de ipomoea batatas (L.) lam. obtidas por melhoramento genético para produção industrial de etanol. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada** 35(3):479-488 · Ago, 2014

SONG, J.; LI, D.; LIU, C.; ZHANG, Y. Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 12, n. 3, p. 282-287, 2011.

SOUZA, AV et al. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 21, e2017103, 2018.

STERLING, T. M.; HALL, J. C. Natural auxins and the auxinic herbicides. In: ROE, R. M.; BURTON, J. D.; KUHR, R. J. **Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology**. Netherlands: IOS Press, 1997. 205 p.

STOCKS, J, DORMANDY, T.L. The autooxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. **Br. J. Haematol.** 20 (1971) 95-111.

SUN, H.; MU, T.; XI, L.; ZHANG, M.; CHEN, J.: Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves as nutritional and functional foods. **Food Chemistry**, n. 156, p. 380-389, 2014.

TURECK,C; et al., Avaliação da ingestão de nutrientes antioxidantes pela população brasileira e sua relação com o estado nutricional. **Rev. Bras. Epidemiol.** JAN-MAR 2017; 20(1): 30-42

UDEM, S. C.; ASOGWA, O. Effects on hematological and biochemical parameters in albino mice fed *Ipomoea batatas* leaf aqueous extract. **Comparative Clinical Pathology**, v. 20, n. 5, p. 475-479, 2011.

UMESH, C.S.Y., RAMANA, K.V. Regulation of NF- $\kappa$ B-induced inflammatory signaling by lipid peroxidation-derived aldehydes. **Oxid. Med. Cell. Longev.** 2013 (2013) 1-11. DOI: 10.1155/2013/690545

VIEIRA, J. UBALDO, F. et al., Hemólise na circulação extracorpórea: correlação com tempo e procedimentos realizados. **Rev Bras Cir Cardiovasc**]. 2012, vol.27, n.4, pp.535-541.

VIZZOTTO, M; PEREIRA, ES; CASTRO,LAS; RAPHAELLI, CH; KROLOW, AC. Composição mineral em genótipos de batata-doce de polpas coloridas e adequação de consumo para grupos de risco. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 21, e2016175, 2018.

VROLIJK, M. F.; OPPERHUIZEN, A.; JANSEN, E. H.; GODSCHALK, R. W.; VAN SCHOOTEN, F. J.; BAST, A.; HAENEN, G. R. The shifting perception on antioxidants: The case of vitamin E and  $\beta$ -carotene. **Redox biology**, v. 4, p. 272-278, 2015.

YOKOTA, T.; KINUGAWA, S.; YAMATO, M.; HIRABAYASHI, K.; SUGA, T.; TAKA, S. Systemic Oxidative Stress is associated with lower aerobic capacity and impaired skeletal muscle energy metabolism in patients with metabolic syndrome. **Diabetes Care**, 2013.

WILLIAMS, R.; SOARES, F.; PEREIRA, L.; BELO, B.; SOARES, A.; SETIAWAN, A.; ERSKINE, W. Sweet potato can contribute to both nutritional and food security in Timor-Leste. **Field Crops Research**, v. 146, p. 38-43, 2013.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

WUEHLER, S. E.; OUEDRAOGO, A. W.: Situational analysis of infant and young child nutrition policies and programmatic activities in Burkina Faso. **Maternal and Child Nutrition**, n. 7(Suppl.1), p. 35-62, 2011.

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, n. 6, p. 599-604, 2010.

ZIMMERMANN, A. M.; KIRSTEN, V. R. Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica. **Disciplinarum Scientia| Saúde**, v. 8, n. 1, p. 51-68, 2016.

## **ANEXOS**

### **ANEXO I - Parecer Consubstanciado do CEP da Pesquisa Estudo do Efeito Antioxidante de Diferentes Princípios Ativos**



UNIVERSIDADE DE CRUZ  
ALTA - UNICRUZ/RS



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo do efeito antioxidante de diferentes princípios ativos  $\gamma$  PROJETO GUARDA CHUVA

**Pesquisador:** Roberta Cattaneo Horn

**Área Temática:** Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

**Versão:** 1

**CAAE:** 15510413.3.0000.5322

**Instituição Proponente:** Fundação Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ/RS

**Patrocinador Principal:** Fundação Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ/RS

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 273.167

**Data da Relatoria:** 15/05/2013

#### Apresentação do Projeto:

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta. Antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo. Os antioxidantes produzidos pelo corpo agem enzimaticamente, a exemplo da GPx, CAT e SOD ou, não-enzimaticamente a exemplo de GSH, peptídeos de histidina, proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido diidrolipóico e CoQH. Além dos antioxidantes produzidos pelo corpo, o organismo utiliza aqueles provenientes da dieta como o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno (provitamina A), ácido ascórbico (vitamina C), e compostos fenólicos onde se destacam os flavonóides e poliflavonóides. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito antioxidante de diferentes princípios, a partir de testes com eritrócitos humanos ("in vitro").

As amostras de sangue são obtidas de doadores randômicos, todos os grupos constituídos de eritrócitos de um mesmo indivíduo.

**Endereço:** Campus Universitário Ulysses Guimarães - Rodovia Municipal Jacob Della M<sup>é</sup>a, Km 5.6 - Caixa Postal 858  
**Bairro:** Campus Universitário Prédio      **CEP:** 98.020-290  
**UF:** RS      **Município:** CRUZ ALTA  
**Telefone:** (55)3322-1618      **E-mail:** comitedeetica@unicruz.edu.br



UNIVERSIDADE DE CRUZ  
ALTA - UNICRUZ/RS



Continuação do Parecer: 273.167

As amostra de sangue total, de 5 indivíduos voluntários que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), serão coletadas com vacutainers contendo EDTA. O procedimento experimental constará da avaliação basal com técnicas de estresse. Após, os eritrócitos serão expostos ao extrato da planta medicinal e as técnicas de estresse serão repetidas novamente.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito antioxidante de princípios ativos.

Objetivo Secundário:

Avaliação dos níveis de TBARS; Avaliação dos níveis de proteínas carboniladas; Avaliação dos níveis de GSH (glutaciona)

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

Na coleta das amostras o participante pode apresentar algum hematoma da punção venosa, podendo ser necessária uma massagem local com aplicação do medicamento tópico Reparil® Gel fim de eliminar esse transtorno ao participante.

Benefícios:

Diminuição dos níveis de marcadores de estresse oxidativo no grupo tratado com os princípios ativos estudados, evidenciando o efeito antioxidante dos mesmos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo em vitro destinado a testar o efeito antioxidante de princípios ativos extraídos de plantas medicinais. A amostra será proveniente de 5 doadores randômicos, mas não está claro no projeto se os indivíduos serão saudáveis ou expostos à fatores de risco que elevam o estresse oxidativo como a exposição aos pesticidas.

No projeto consta que na coleta das amostras o participante pode apresentar algum hematoma da punção venosa, podendo ser necessária uma massagem local com aplicação do medicamento tópico Reparil® Gel fim de eliminar esse transtorno ao participante. No entanto, o termo de consentimento sugere outra abordagem se houver hemotoma "Após a coleta pode ocorrer a formação de hematomas na região coletada e neste caso o indivíduo deve fazer compressas com água frio e/ou gelo no local acometido várias vezes por dia." Sugere-se adotar uma melhor definição do procedimento adotado se houver hematoma.

Endereço: Campus Universitário Ulysses Guimarães - Rodovia Municipal Jacob Della Méa, Km 5.6 - Caixa Postal 858  
Bairro: Campus Universitário Prédio CEP: 98.020-290  
UF: RS Município: CRUZ ALTA  
Telefone: (55)3322-1618 E-mail: comitedeetica@unicruz.edu.br



UNIVERSIDADE DE CRUZ  
ALTA - UNICRUZ/RS



Continuação do Parecer: 273.167

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Adequados

**Recomendações:**

Esclarecer no projeto se os indivíduos serão saudáveis ou expostos à fatores de risco que elevam o estresse oxidativo.

Definir qual procedimento será adotado se houver hematoma; aquele que consta no idem riscos do projeto ou aquele que consta no termo de consentimento.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto aprovado, visto que trata-se de um estudo em vitro.

No entanto, sugere-se esclarecer no projeto se os indivíduos serão saudáveis ou expostos à fatores de risco que elevam o estresse oxidativo. Além de definir qual procedimento será adotado se houver hematoma; aquele que consta no projeto ou aquele que consta no termo de consentimento.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Aprovado

Analisar as recomendações expostas pelo avaliador

CRUZ ALTA, 15 de Maio de 2013

---

**Assinador por:**  
**Adalberto Fernandes Falconi**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Campus Universitário Ulysses Guimarães - Rodovia Municipal Jacob Della Méa, Km 5.6 - Caixa Postal 858  
**Bairro:** Campus Universitário Prédio **CEP:** 98.020-290  
**UF:** RS **Município:** CRUZ ALTA  
**Telefone:** (55)3322-1618 **E-mail:** comitedeetica@unicruz.edu.br

## APÊNDICES I

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

(De acordo com Resolução nº 466/2012, Conselho Nacional de Saúde)

Dados de identificação

Título do Projeto: Caracterização Fitoquímica e Avaliação Antioxidante *in vitro* do Extrato Hidroetanólico das Folhas de Batata-Doce

Pesquisador Responsável: Roberta Cattaneo Horn

Instituição: Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ

Telefone para contato: (55) 96264308

Nome do Voluntário: \_\_\_\_\_

Prezado Senhor (a),

O(a) Sr.(a) está sendo convidada a participar como voluntário(a) do projeto de pesquisa intitulado “Caracterização Fitoquímica e Avaliação Antioxidante *In Vitro* do Extrato Hidroetanólico das Folhas de Batata Doce” de responsabilidade da professora orientadora Roberta Cattaneo Horn.

No caso de aceitar em ser voluntário neste projeto você, em data, local e horário a combinar, consentirá com a coleta de amostra de sangue, que será realizada de acordo com as normas de biossegurança.

Após a coleta pode ocorrer a formação de hematomas na região coletada e neste caso o indivíduo deve fazer compressas com água frio e/ou gelo no local acometido várias vezes por dia.

Também fui informado(a) de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo.

É assegurado o acesso à informação durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas conseqüências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, bem como os resultados obtidos serão mantidos em sigilo e que estes últimos somente serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas sem a minha identificação.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo. Assim consinto em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

Eu, \_\_\_\_\_, RG nº \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado dos objetivos da pesquisa acima descrita de maneira clara e detalhada e que esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e foi garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade. A professora responsável pelo projeto Roberta Cattaneo Horn garantiram-me de que todos os dados pessoais desta pesquisa serão tratados com sigilo. Em caso de dúvidas poderei chamar a estudante Gabriela Tassotti Gelatti ou a professora orientadora Roberta Cattaneo Horn no telefone 55- 96264308.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante\_\_\_\_\_  
Nome do Participante\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador\_\_\_\_\_  
Nome do Pesquisador

Este formulário foi lido para o participante \_\_\_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/2018 pelo responsável pela pesquisa.

\_\_\_\_\_  
Assinatura de testemunha\_\_\_\_\_  
Nome da Testemunha

Cruz Alta, RS, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2018.

**Apêndice 2: Questionário**

1.Nome:

---

2.Idade:

---

3. Possui alguma dessas doenças crônicas:

Hipertensão: ( )SIM ( )NÃO ( )NÃO SABE

Obesidade: ( )SIM ( )NÃO ( )NÃO SABE

Diabetes: ( )SIM ( )NÃO ( )NÃO SABE

Doença Cardíaca: ( )SIM ( )NÃO ( )NÃO SABE

Outras:

---

4. Fumante: ( )SIM ( )NÃO

Consumo?

---

5. Pratica exercício físico: ( )SIM ( )NÃO

Quais?\_\_\_\_\_

6. Faz uso de polivitamínicos: ( )SIM ( )NÃO

Quais?\_\_\_\_\_

7. Faz uso de bebida alcoólica? ( )SIM ( )NÃO

8. Toma algum medicamento: ( )SIM ( )NÃO

Quais? -

---