



Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de diferentes cultivares de ipomoea batatas (L.) lam. obtidas por melhoramento genético para produção industrial de etanol

Ilsamar Mendes Soares¹; Ernane Gerre Pereira Bastos¹; Tadeu José da Silva Peixoto Sobrinho²; Tarso da Costa Alvim¹; Márcio Antônio da Silveira¹; Raimundo Wagner de Souza Aguiar¹; Sérgio Donizeti Ascêncio^{1*}

¹Universidade Federal do Tocantins – UFT.
²Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

RESUMO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é um vegetal nativo da América Tropical, com destaque no cenário da agricultura mundial. A principal finalidade do cultivo desta planta concentra-se na obtenção de raízes para alimentação humana, de animais domésticos e produção de etanol. A preferência de consumo de *I. batatas* concentra-se nas raízes, conseqüentemente a parte aérea, na maioria das vezes, é descartada ou fornecida como alimento para animais. Este trabalho teve como objetivo determinar o conteúdo fenólico total, o perfil cromatográfico e o potencial antioxidante das folhas de 10 cultivares de *I. batatas* provenientes de melhoramento genético convencional direcionado para a produção industrial de etanol. Extratos etanólicos das folhas de plantas adultas foram avaliados quanto ao conteúdo fenólico pelo método Folin-Ciocalteu, que variou entre $54,72 \pm 4,35$ e $112,29 \pm 3,65$ mg EAT/g, flavonoides por complexação com cloreto de alumínio ($29,15 \pm 3,72$ a $97,36 \pm 2,13$ mg ER/g), atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos DPPH, FRAP e atividade quelante. Adicionalmente, foram investigados os componentes fenólicos por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que revelaram matrizes complexas de compostos, constituídas por ácido elágico e vários flavonoides. Constatou-se um elevado potencial antioxidante correlacionado satisfatoriamente pelo coeficiente de Pearson com teor de fenóis e flavonoides totais. Os resultados demonstraram grande potencial de agregação de valor ao cultivo de *I. batatas*, pela integração das práticas agroenergéticas que utilizam suas raízes, com a obtenção de outros produtos de base orgânica presentes nas folhas desta planta.

Palavras-chave: Batata-doce. Compostos fenólicos. Antioxidantes.

Autor correspondente: Sérgio Donizeti Ascêncio, Programa de Pós-Graduação em Agroenergia. Curso de Medicina, Universidade Federal do Tocantins. Av. NS 15, Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, Palmas, Tocantins, 77020-210, Brasil. E-mail: sergioda@uft.edu.br

INTRODUÇÃO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é uma hortaliça de raízes tuberosas, adaptada a diversas condições edafoclimáticas, cultivada tanto nos trópicos como nas regiões temperadas do planeta. Por suportar estresses abióticos adversos e não necessitar de cuidados intensivos, se constitui uma cultura de baixo custo de produção com destaque no cenário da agricultura mundial (Woolfe, 1992; Luo et al., 2006; Edson et al., 2009). A principal finalidade do cultivo desta planta concentra-se na obtenção de raízes para alimentação humana e de animais domésticos. Por conter grandes quantidades de amido, as raízes de *I. batatas* são também exploradas como matéria-prima da produção de etanol, se configurando atualmente, como forma de inclusão do agricultor familiar na produção de biocombustíveis (Silveira et al., 2008; Pavlak et al., 2011).

Como a preferência de consumo de *I. batatas* concentra-se nas raízes, a parte aérea, é na maioria das vezes, 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 (Woolfe, 1992; Song et al., 2011), fato que tem motivado a investigação dos constituintes químicos do referido órgão vegetal (Miyazaki et al., 2005; Islam, 2009). Diversos estudos têm demonstrado que a parte aérea de *I. batatas* é dotada de combinações químicas capazes de atuar benéficamente sobre o metabolismo de outros organismos, em especial o organismo humano (Ishida et al., 2000; Islam, 2006; Xu et al., 2010; Song et al., 2011; Udem et al., 2011). Dentre às diversas substâncias presentes nas folhas de *I. batatas*, as que possuem o maior número de atividades biológicas reconhecidas são os compostos fenólicos (Islam et al., 2002; Islam, 2006), um grupo diversificado de substâncias, que têm como principais representantes os flavonoides, metabólitos secundários que desempenham diferentes papéis na ecologia das plantas (Zuanazzi et al., 2003; Huber & Rodrigues-Amaya, 2008) e potenciais benefícios para a saúde humana. Estes se configuram como bons antioxidantes, capazes de sequestrar radicais livres e

quelar metais de transição, evitando danos às moléculas biológicas (Haslan, 1996; Atoui et al., 2005; Sousa et al., 2007).

Em trabalho anterior, realizado por pesquisadores da Universidade Federal do Tocantins (UFT), foram desenvolvidas sob melhoramento genético convencional, variedades de batata-doce com alto teor de amido e excelentes resultados na produção de etanol em escala industrial, cultiváveis nas condições edafoclimáticas do Tocantins (Silveira et al., 2008). Entretanto, as características agrônômicas alcançadas em tais plantas foram, até o presente momento, analisadas somente na parte radicular e sem focar estudos fitoquímicos com as folhas das referidas cultivares. Como os compostos fenólicos são metabólitos secundários importantes no equilíbrio da planta com o ambiente adjacente (Harborne, 1988; Croteau et al., 2000; Sandes & Di-Blasi, 2000; Santos, 2003), percebeu-se ser relevante analisar, fitoquimicamente, as folhas destas plantas com ênfase em tais compostos, em especial os flavonoides.

Por ser uma alternativa capaz de potencializar agregação de valores ao cultivo da batata-doce em decorrência do grande potencial dos compostos fenólicos para a transformação em diversos produtos de interesse humano, este trabalho apresenta estudos sobre o conteúdo fenólico total, o perfil cromatográfico e o potencial antioxidante das folhas de cultivares de *I. batatas* provenientes de melhoramento genético convencional direcionado para a produção industrial de etanol.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Folhas de *I. batatas* foram coletadas durante o mês de outubro de 2011 a partir de plantas adultas pertencentes ao banco de germoplasma do Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a Partir de Fontes Renováveis (LASPER/UFT). Todos os espécimes utilizados pertencem a cultivares desenvolvidos por melhoramento genético convencional direcionado para produção industrial de etanol. Estudou-se um total de dez variedades, todas registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob os respectivos nomes e números de registros: Marcela, 22592; Bárbara, 22595; Duda, 22598; Amanda, 22593; Carolina Vitória, 22597; Ana Clara, 22594; Beatriz, 22596; Julia, 22599; Lívia, 22591; e Izabela, 22600.

Tratamentos iniciais e obtenção do extrato bruto

As folhas coletadas foram submetidas à limpeza macroscópica e secagem em estufa com circulação e renovação de ar a 50 ± 2 °C. Seguindo os cuidados práticos do manuseio de plantas medicinais conforme recomendações de Simões et al. (2003) realizaram-se pesagens periódicas até estabilização do peso, para depois reduzi-las a pó em triturador industrial. A extração ocorreu mediante modificações do método descrito por Xu et al. (2010). Uma porção de 20 g do pó foram submetidos a

extração por refluxo em aparelho de Soxhlet por um período de 12 horas, utilizando etanol 70%, (v/v) como solvente, à temperatura de ebulição da solução inicial. A solução de compostos obtida pelo processo de refluxo foi concentrada sob vácuo em evaporador rotativo ajustado a 70 rpm, 50 ± 2 °C em banho-maria. O concentrado foi congelado a -70°C e seco por sublimação em Liofilizador Terroni® LS 3000 e acondicionado em dessecador de vidro sob vácuo, protegido da luz.

Conteúdo fenólico total

Determinação de fenóis totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Amorim et al. (2008) empregando-se ácido tânico como padrão. Soluções metanólicas (0,2 mL) do extrato (1 mg/mL, p/v) ou do padrão (0,1 a 2,0 µg/mL, p/v) foram misturadas com solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu (0,5 mL a 10%, v/v), carbonato de sódio (1 mL a 75%, p/v) e 8,3 mL de água (purificada e deionizada em purificador Millipore® Milli Q sistema gradiente (água milli-Q), cuidadosamente agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz. A absorbância foi mensurada a 760 nm, em espectrofotômetro UV-VIS Biochrom® Biowave II+ equipado com cubetas de quartzo de 1 cm em percurso óptico, calibrado com água milli-Q. Os teores de fenóis totais foram determinados por interpolações das absorbâncias das amostras contra uma curva de calibração construída com as diferentes concentrações do padrão de ácido tânico, expressos como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato liofilizado (mg EAT/g). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Determinação de flavonoides totais

A quantificação de flavonoides totais foi realizada de acordo com a descrição de Peixoto Sobrinho et al. (2008) com modificações, empregando rutina como padrão. As reações foram realizadas em triplicata e mediante a mistura de 0,5 mL de soluções metanólicas do extrato (1mg/mL, p/v) ou do padrão (1 a 10 µg/mL, p/v) com uma solução aquosa de ácido acético (0,5 mL a 60%, v/v), solução metanólica de piridina (2 mL a 20%, v/v), cloreto de alumínio (1 mL a 5%, p/v) e água milli-Q (6 mL). Um branco foi construído pela junção de todos os componentes da reação e o extrato ou padrão, substituindo-se o cloreto de alumínio por metanol. O complexo reacional e o branco foram cuidadosamente agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz, e as absorbâncias medidas a 420 nm, em espectrofotômetro como na análise anterior, calibrado com água milli-Q. Os teores de flavonoides totais foram determinados por interpolação das absorbâncias das amostras (descontando a absorbância do branco) contra uma curva de calibração construída com as diferentes concentrações do padrão rutina e expressos como miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato liofilizado (mg ER/g).

Avaliação da atividade antioxidante

Atividade removedora de radicais livres (DPPH)

A capacidade antioxidante foi mensurada pelo método DPPH estabelecido por Brand Willims et al. (1995) seguindo as descrições de Peixoto Sobrinho et al. (2011) com modificações, tendo como controles positivos os padrões rutina e ácido ascórbico. Em triplicatas, 0,5 mL de diferentes concentrações dos extratos ou padrões (20 – 180 µg/mL, p/v) foram adicionados a uma solução metanólica de DPPH (3 mL a 40 µg/mL, p/v). Um branco foi construído pela substituição do DPPH por metanol no meio reacional. O complexo reacional e o branco foram agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz, e as absorvâncias medidas a 517 nm em espectrofotômetro calibrado com metanol. A absorvância da solução de DPPH a 40 µg/mL também foi medida e utilizada como controle negativo. A atividade de remoção de radicais livres ou atividade antioxidante foi expressa como a porcentagem de inibição determinada pela equação:

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

onde % AA é a porcentagem de atividade antioxidante; ABS_{cn} , a absorvância do controle negativo; $ABS_{amostra}$, a absorvância da amostra; ABS_{branco} , a absorvância do branco.

Utilizando-se curvas de calibração obtidas pela plotagem das diferentes concentrações em relação as % AAs, calculou-se a concentração eficiente, quantidade de amostra necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE50), que foi expressa em µg/mL.

Poder antioxidante redutor férrico (FRAP)

A determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP – ferric reducing antioxidant power) foi realizada baseada na metodologia desenvolvida por Benzie & Strain (1996) conforme descrito por Rufino et al. (2006) com alguns ajustes. O reagente FRAP é a combinação de tampão acetato 0,3 M e pH 3,6 (obtido pela mistura de 3,1 g de acetato de sódio em 16 mL de ácido acético, aferindo-se o volume para 1000 mL com água milli-Q) com a solução de TPTZ 10 mM (obtido pela dissolução 3,2 g de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine em HCl 40 mM) e solução aquosa de cloreto férrico (20 mM), na proporção de 10:1:1 (v/v). Em triplicatas, 0,1 mL de diferentes diluições (0,5 a 0,125 mg/mL, p/v) do extrato em metanol ou do padrão sulfato ferroso em água milli-Q (500 µM a 2000 µM) foram misturados com 2,9 mL do reagente FRAP e mantidos por 30 minutos em banho-maria a 37 °C e protegidos da luz. Mensurou-se a absorvância a 593 nm em espectrofotômetro calibrado com o reagente FRAP. Mediante a construção de curvas de calibração, calculou-se a absorvância referente a 1000 mM de sulfato ferroso. O valor obtido foi substituído pela variável equivalente nas curvas de calibração das amostras para determinar a atividade antioxidante total (AAT FRAP), a qual foi

expressa em µM equivalentes de sulfato ferroso por grama de extrato liofilizado (µM Fe+2/g).

Atividade quelante do íon ferro (AQIF)

A atividade quelante do íon ferro foi determinada conforme descrito por Chew et al. (2009) com modificações, utilizando EDTA como controle positivo. Em triplicatas, 1 mL de diferentes diluições (50 - 500 µg/mL, p/v) do extrato em metanol 75% (v/v) ou padrão EDTA em água milli-Q (0,2 a 2 µg/mL, p/v) foram misturados com sulfato ferroso (1 mL a 0,1 mM, p/v), seguido por ferrozina (1 mL a 0,25 mM, p/v), ambos dissolvidos em metanol 75% (v/v) com intervalo de 10 minutos entre a adição de cada reagente. Um branco foi construído substituindo-se a ferrozina por metanol no meio reacional. O complexo reacional e o branco foram cuidadosamente agitados e mantidos por 10 minutos no escuro, para depois terem as absorvâncias medidas a 562 nm em espectrofotômetro calibrado com metanol. As absorvâncias obtidas foram comparadas com as de um controle negativo constituído de todos os reagentes menos o extrato ou EDTA, que foram substituídos por metanol. A habilidade de quelar íons ferrosos ou atividade quelante (% AQIF) foi expressa como a porcentagem de quelação determinada pela equação:

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

onde, % AQIF é a atividade quelante; ABS_{cn} , a absorvância do controle negativo; $ABS_{amostra}$, a absorvância da amostra; ABS_{branco} , a absorvância do branco.

Utilizando-se curvas de calibração obtidas pela plotagem das diferentes concentrações em relação as % AQIFs, calculou-se também a concentração eficiente, quantidade de extrato ou controle positivo necessária para decrescer a absorvância da ferrozina em 50% (CE50), que foi expressa em µg/mL.

Prospecção fitoquímica

Análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A prospecção fitoquímica foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD) conforme descrito por Rodrigues et al. (2004) utilizando rutina como substância de referência. As cromatoplacas foram eluídas com solução de acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água milli-Q (100:11:11:27 v/v) e após secagem foram nebulizadas com revelador citrobórico (ácido cítrico: ácido bórico: metanol, 12:12:76, p/v), observadas sob a luz ultravioleta (UV) a 366 nm e fotografadas. Os fatores de retenção (RF) foram calculados como a razão entre a distância percorrida pelo composto e o deslocamento do eluente. Devido os espécimes estudados serem da mesma espécie botânica, esta análise preliminar foi realizada apenas com as cultivares Beatriz e Marcela, que foram escolhidas aleatoriamente.

Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foi desenvolvida em Cromatógrafo Shimadzu® LC-10 Series Avp, equipado com uma bomba (LC-10AD), degaseificador (DGU-14A), detector UV-VIS (SPD - 10A), forno de coluna (CTO-10A), injetor manual Rheodyne (loop de 20 µL) e integrador CLASS (LC-10A). A separação foi desenvolvida por método de eluição isocrática, utilizando-se uma coluna de fase reversa Phenomenex Luna C18 5µ (2) (250 x 4,6 mm) e pré coluna Phenomenex C18 (4 x 3,0 mm) preenchida com material semelhante a coluna principal. A fase móvel utilizada foi constituída de 0,1% de ácido fórmico em água Milli Q/metanol (45:55), taxa de fluxo do eluente a 0,8 mL/min, temperatura de 40°C, detecção UV a 280 nm com tempo máximo de corrida de 30 minutos. Identificou-se os compostos pela comparação entre o tempo de retenção das amostras e padrões autênticos, tais como ácido elágico, luteolina, miricetina, morina, quercetina, (+/-)-naringenina, e rutina (Sigma®). Os extratos foram dissolvidos no solvente de eluição e os padrões em metanol. Todos foram filtrados em membrana Millipore® (0,45 µm de diâmetro de poro).

Análise estatística

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos a análises estatísticas, tais como análise de variância (ANOVA), teste “t” de student, teste de Tukey, com níveis de significância $p < 0.05$ e análise de correlação pelo coeficiente de Pearson conforme Triola (2008). Os cálculos foram realizados com auxílio do software ASSISTAT 7.6 Beta® e BIOESTAT 5.3®.

RESULTADOS

Conteúdo fenólico total

A equação de correlação e o coeficiente de linearidade, obtidos para a curva de calibração usada para quantificar os fenóis totais foram, respectivamente, $y = 0,0689x + 0,0143$ e $R^2 = 0,9732$, enquanto que para os flavonoides totais foram $y = 0,0217x - 0,0067$ e $R^2 = 0,9928$. Como apresentado na Tabela 1, o conteúdo de compostos fenólicos totais mensurados pelo método Folin-Ciocalteu e flavonoides totais pelo método da complexação com cloreto de alumínio variaram significativamente ($p < 0.05$) entre as dez cultivares de *I. batatas* melhoradas geneticamente para a produção industrial de etanol (IMPE).

Avaliação da Atividade Antioxidante

A capacidade de sequestro do radical DPPH foi dependente da concentração, mostrando-se crescente com o aumento da quantidade de extrato no meio reacional (Figura 1).

Como observado na Tabela 2, a atividade removedora de radicais livres frente a concentração de extrato (CE50 DPPH), poder antioxidante redutor férrico (FRAP) e capacidade de quelção do íon ferro em função

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão do teor de fenóis e flavonoides totais encontrados em dez cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. melhoradas geneticamente para produção industrial de etanol.

Cultivares	Fenóis totais (mg EAT/g)	Flavonoides totais (mg ER/g)
Lívia	112,29 ± 3,66 a	97,36 ± 2,13 a
Izabela	110,84 ± 3,65 a	66,33 ± 2,97 def
Julia	109,87 ± 1,45 ab	71,24 ± 1,60 cde
Carolina Vitória	109,39 ± 4,43 ab	74,62 ± 3,24 cd
Bárbara	100,19 ± 0,838 bc	76,47 ± 2,13 bc
Ana Clara	92,45 ± 5,23 c	85,07 ± 5,24 b
Beatriz	79,39 ± 2,90 d	64,49 ± 0,92 ef
Amanda	74,55 ± 4,43 d	59,26 ± 4,22 fg
Marcela	74,07 ± 1,68 d	54,65 ± 3,32 g
Duda	54,72 ± 4,35 e	29,15 ± 3,72 h

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

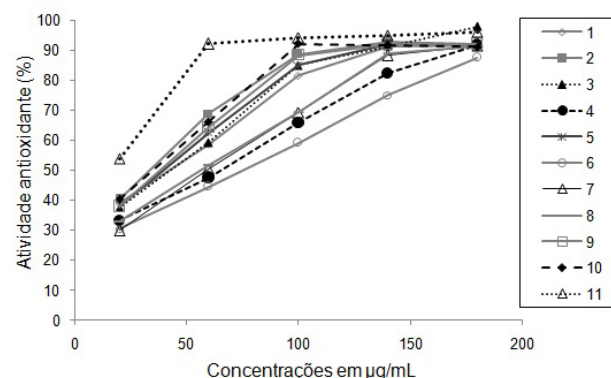


Figura 1. Porcentagem de atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. e do controle nas concentrações (20, 60, 100, 140 e 180 µg/mL), pelo método DPPH. 1 – Julia, 2 – Lívia, 3 – Izabela, 4 – Amanda, 5 – Carolina Vitória, 6 – Duda, 7 – Marcela, 8 – Beatriz, 9 – Ana Clara, 10 – Bárbara, 11 – controle positivo rutina.

da concentração do extrato (CE50 AQIF) diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre as IMPEs.

Como ilustrado na figura 2, a capacidade de quelção do íon ferro ascendeu proporcionalmente com o aumento da concentração dos extratos.

Correlações entre as análises de Conteúdo fenólico, DPPH, FRAP e AQIF

Os resultados da análise de correlação de Pearson entre as quantificações de fenóis, flavonoides totais e atividades antioxidantes testadas nos extratos das IMPEs podem ser observados através da Tabela 3, todas mostraram-se bem correlacionadas, exceto com a AQIF.

Prospecção fitoquímica

A avaliação por CCD demonstrou a existência de flavonoides, evidenciados pelo desenvolvimento de fluorescência em manchas de Rf característico para o padrão rutina (Rf = 0,45). A especificidade do revelador

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão das atividades antioxidantes avaliadas pelo ensaios DPPH (CE50 em µg/mL), FRAP (em µM Fe²⁺/g) e AQIF (CE50 em µg/mL) nas folhas das cultivares de *Ipomoea batatas*(L.) Lam. melhoradas geneticamente para produção industrial de etanol.

Cultivares	DPPH	FRAP	AQIF
Lívia	28,99 ± 1,66 f	3818,32 ± 115,79 a	609,17 ± 26,58 a
Izabela	41,17 ± 0,96 d	3132,79 ± 121,01 cd	249,83 ± 4,80 de
Júlia	40,46 ± 2,21 d	2937,11 ± 105,40 d	377,01 ± 4,66 b
Carolina Vitória	37,99 ± 1,45 de	3514,97 ± 104,57 b	401,91 ± 10,20 b
Bárbara	30,06 ± 1,93 f	3603,15 ± 114,41 ab	599,38 ± 7,53 a
Ana Clara	35,67 ± 1,37 e	3224,24 ± 83,34 c	313,41 ± 2,10 c
Beatriz	35,67 ± 1,89 c	2577,33 ± 52,03 e	170,15 ± 1,61 f
Amanda	62,63 ± 0,18 b	2243,29 ± 52,20 f	603,52 ± 16,28 a
Marcela	60,55 ± 1,68 bc	2321,09 ± 88,52 ef	279,94 ± 2,28 d
Duda	74,38 ± 1,35 a	1841,83 ± 45,46 g	228,77 ± 7,25 e
Acido ascórbico	14,23 ± 0,43		
Rutina	18,49 ± 0,10		
EDTA			9,094 ± 0,057 g

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

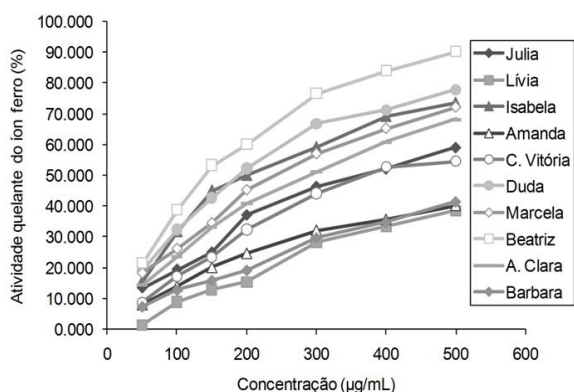


Figura 2. Capacidade quelante do íon ferroso de diferentes concentrações dos extratos das folhas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam.

Tabela 3. Coeficientes de correlação (r) entre os teores de fenóis, flavonoides totais e atividades antioxidantes mensuradas pelos ensaios DPPH, FRAP e AQIF nos extratos das folhas das cultivares de *Ipomoea batatas*(L.) Lam. melhoradas geneticamente para produção industrial de etanol.

Métodos	Fenóis totais	Flavonoides	DPPH	FRAP	AQIF
Fenóis totais	-				
Flavonoides	0,8100	-			
DPPH	-0,8196	-0,8889	-		
FRAP	0,8926	0,9017	-0,9015	-	
AQIF	0,3483	0,4999	-0,2616	0,4732	-

permitiu detectar outros compostos além da referência utilizada, um de Rf = 0,38 e outro de Rf = 0,64, além de outras manchas mais suaves (Figura 3).

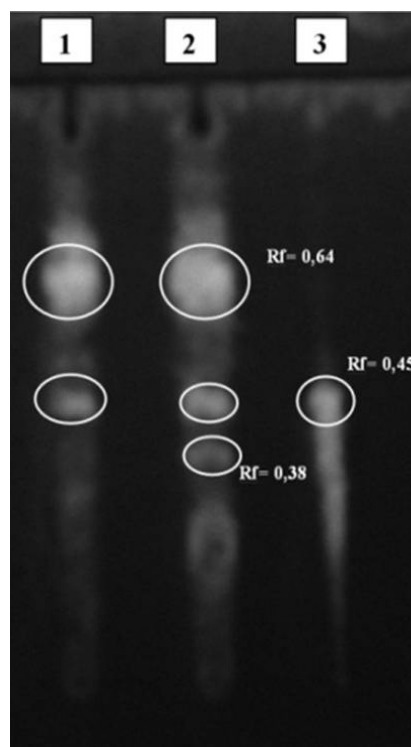


Figura 3. Cromatograma (CCD) das soluções extrativas de *Ipomoea batatas* (L.) Lam.; 1 – Beatriz, 2 – Marcela, 3– padrão rutina.

Os fingerprint obtidos nas análises por CLAE revelaram matrizes de compostos fenólicos com padrão de picos semelhantes entre as cultivares estudadas (Figura 4) o que permitiu a detecção do ácido elágico (tR 7,0 min.) e dos flavonoides rutina (tR 5,5 min.), miricetina (tR 7,2 min.), morina (tR 8,9 min.), quercetina (tR 11,2 min.), (+/-)-naringenina (tR 12,1 min.), luteolina (tR 13,4 min.), em todas amostras, exceto luteolina que não foi detectado nos extratos das cultivares Ana Clara, Duda, Marcela e Bárbara.

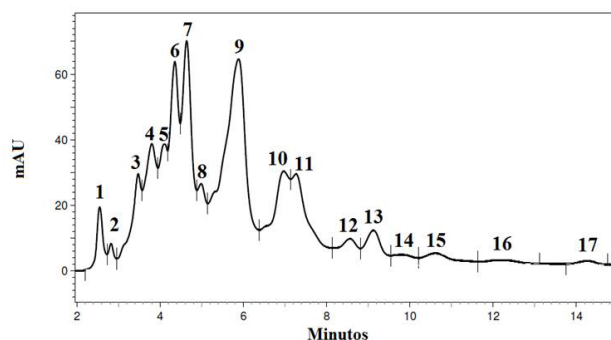


Figura 4. Cromatograma do extrato das folhas da cultivar Beatriz, obtido na separação por CLAE/UV-VIS, conforme descrito em material e métodos. Pico 9: rutina; 10: ácido elágico; 11: miricetina; 12: morina; 15: quercetina; 16: (+/-)-naringenina; 17: luteolina.

DISCUSSÃO

Conteúdo fenólico total

As quantidades significativas de fenóis totais obtidas no presente trabalho corroboram trabalhos descritos na literatura para a espécie *I. batatas* (Islam et al., 2002; Islam, 2009; Xu et al., 2010; Hue et al., 2012). Quando comparados aos teores fenólicos obtidos por Ghasemzadeh et al. (2012) a partir de 6 diferentes cultivares da Malásia, observam-se que os encontrados no presente trabalho mostraram-se superiores. Trabalhos realizados por Islam (2009) têm demonstrado que os compostos fenólicos encontrados nas folhas de *I. batatas*, são substâncias ativas que possuem múltiplas ações biológicas, incluindo a antioxidação, ação antimutagênica, anti-inflamatória e anticarcinogênica, fato que torna claro o potencial de aproveitamento destas partes da planta para a transformação numa gama de produtos de interesse humano, o que pode originar novas cadeias de valores às práticas agroenergéticas, já que estas partes da planta são simplesmente descartadas ou servidas como ração para animais. Tais observações fortalecem as idéias sobre o desenvolvimento de biorrefinarias abordados por diversos autores, que sugerem uma transformação da biomassa adotando o mesmo princípio da petroquímica (Kamm & Kamm, 2004; Kamm et al., 2006; Bozell & Petersen, 2010; Demirbas, 2009).

Pela comparação dos dados obtidos na quantificação de flavonoides, com outros reportados na literatura, constatou-se que os valores médios de flavonoides totais das IMPEs, assemelham-se aos dados obtidos por Hue et al. (2012) e são superiores aos obtidos por Ghasemzadeh et al. (2012) com cultivares coletadas na Malásia e aos de Huang et al. (2013) obtidos a partir de diferentes frações extrativas de folhas desta planta coletadas na China. Esta constatação demonstra que as cultivares estudadas neste trabalho, não obstante, melhoradas geneticamente para produção industrial de etanol, mantém equilíbrio entre a síntese de flavonoides e a produção de raízes tuberosas, reforçando a importância da exploração integral destas plantas pela integração das práticas agroenergéticas à obtenção de outros produtos de base orgânica. Isto corrobora a ideia de outros autores que têm investigado a utilização das folhas de *I. batatas* como fonte potencial de antioxidantes naturais (Ishida et al., 2000; Xu et al., 2010; Hue et al., 2012; Agati et al., 2012).

Avaliação da Atividade antioxidante

Como apresentado na Figura 1, todas as cultivares, exceto Duda, apresentaram atividade antioxidante superior a 65% na concentração de 100 µg/mL, atingindo um máximo de $88,51 \pm 1,48\%$ para o extrato da cultivar Livia e $91,99 \pm 0,45\%$ para o extrato da cultivar Bárbara, estando esta última estatisticamente igual ($p < 0,01$) ao padrão rotina, ($94,35 \pm 0,15\%$) na referida concentração. Os dados obtido na determinação deste papel biológico para as IMPEs mostram-se significativos, quando comparados a outros obtidos a partir de diferentes variedades da espécie

reportado no meio científico (Islam et al., 2002; Islam, 2006; Islam, 2009; Xu et al., 2010; Ghasemzadeh et al., 2012). Alguns autores como Xu et al. (2010), Hue et al. (2006) e Huang et al. (2013) também observaram atividade antioxidante dependente da concentração em extratos das folhas de *I. batatas* frente ao radical DPPH. Conforme Xu et al. (2010), a influência da concentração de extrato sobre o desenvolvimento da atividade antioxidante, pode estar relacionada às altas concentrações de compostos fenólicos presentes nestas partes da planta, já que estes compostos tem grande influencia sobre a atividade antioxidante.

Os compostos fenólicos são tidos como substâncias eficientes na quelação de metais de transição (Sousa et al., 2007), porém no presente trabalho constatou-se que, embora as cultivares Livia e Bárbara estejam entre as cultivares que apresentaram os maiores valores de fenóis e flavonoides totais, exibiram os menores resultados na análise deste papel biológico *in vitro*. Com outras espécies botânicas da Malásia, Chew et al. (2009) também fizeram a mesma constatação. Uma explicação foi sugerida por Khokhar et al. (2003) que, a quelação de metais nos sistemas biológicos se relaciona com a estrutura das substâncias presentes no meio reacional, podendo a eficiência de ligação do composto fenólico com os íons metálicos ser depende da posição em que o grupo doador de elétrons se encontra no polifenol. Assim, os resultados desta análise, sugerem que os compostos com essa atividade encontram-se em baixas concentrações nestas partes das plantas estudada. Não obstante, o fato de as cultivares com menor atividade antioxidante (a exemplo das cultivares Beatriz, Duda e Izabela) apresentarem os melhores resultados para tal papel biológico, permitem inferir que as cultivares de *I. batatas* estudadas no presente trabalho utilizam diferentes mecanismos de defesa aos danos oxidativos, sendo isto confirmado pela constatação que os extratos com a melhores atividades antioxidantes testadas pelos métodos DPPH e FRAP foram os menos eficientes quanto a capacidade de quelação de metais.

Os resultados obtidos na análise da CE50 do DPPH mostram-se significativos quando comparados a trabalhos da literatura obtidos a partir de *I. batatas* e outras espécies botânicas (Islam et al., 2002; Islam, 2006; Islam, 2009; Xu et al., 2010; Ghasemzadeh et al., 2012). Por meio de estudos com plantas do semiárido nordestino brasileiro, Melo et al. (2010) estabeleceram uma forma de classificação para a atividade antioxidante. Baseado no desempenho do extrato bruto, esses autores determinaram três classes para este papel biológico *in vitro*: I - boa atividade ($CE50 < 42,684 \mu\text{g/mL}$, ou valores com até três vezes a concentração eficiente do controle positivo), II - atividade moderada ($42,684 \mu\text{g/mL} < CE50 < 99,596 \mu\text{g/mL}$, variando entre três e sete vezes a concentração inibitória do controle positivo), III - baixa atividade ($CE50 > 99,596 \mu\text{g/mL}$, sete vezes superior a concentração inibitória do controle positivo). Baseado na classificação mencionada, verificou-se que 70% das cultivares de *I. batatas* apresentaram atividade antioxidante boa, as exceções ocorreram com as cultivares

Amanda, Duda e Marcela que se mostraram na classificação II, o que demonstra um grande potencial de aproveitamento das folhas das IMPEs como fonte de antioxidantes naturais.

Correlações entre as análises de Conteúdo fenólico, DPPH, FRAP e AQIF

Estudos com diversas espécies botânicas têm demonstrado que os compostos fenólicos são, em maior parte, os responsáveis pelas atividades antioxidantes em extratos vegetais e, dentre estes, os flavonoides compõe o grupo que mais se destaca (Sun et al., 2011; Ghasemzadeh et al., 2012). Como mostrado na Tabela 3, a alta correlação indicada pelo coeficiente de correlação de Pearson ($r = 0,8100$, $p = 0,0045$) demonstrou grande influência dos flavonoides sobre o conteúdo fenólico de *I. batatas*.

Diversos trabalhos têm demonstrado que os flavonoides constituem um dos mais importantes grupos de compostos fenólicos nas plantas (Silva et al., 2011; Peixoto-Sobrinho et al., 2010; Carvalho et al., 2010), sendo que alguns trabalhos como o de Hue et al. (2012) e Ghasemzadeh (2012) também destacam esta contribuição dos flavonoides no conteúdo fenólico da espécie *I. batatas*. Tanto os valores médios do conteúdo fenólico como o de flavonoides mostraram-se altamente correlacionados com as atividades antioxidantes realizadas pelos métodos DPPH ($r = -0,8196$, $p = 0,037e$; $r = -0,8889$, $p = 0,0006$ respectivamente) e FRAP ($r = 0,8926$, $p = 0,0005$ e; $r = 0,9017$, $p = 0,0004$ respectivamente). Esta constatação corrobora trabalhos realizados com outras variedades da espécie (Islam et al., 2002; Xu et al., 2010; Ghasemzadeh et al., 2012), indicando que os compostos fenólicos são os principais antioxidantes presentes nas folhas de *I. batatas*.

A comparação entre os métodos DPPH e FRAP demonstrou alto grau de equivalência na precisão para determinar a atividade antioxidante dos extratos das folhas de *I. batatas*. A forte correlação entre estes métodos já foi também constatado por Xu et al. (2010) em outras variedades da espécie.

A baixa correlação entre a AQIF com as atividades antioxidantes mensuradas pelos métodos DPPH, FRAP, o conteúdo fenólico e os flavonoides totais dos extratos das IMPEs diferem de forma inversa aos dados obtidos por Liao et al. (2011) em extratos de folhas da espécie, permitindo inferir que cultivares distintas, desenvolvem diferentes mecanismos de defesa aos danos oxidativos. Isto justifica o fato de as cultivares com menor atividade antioxidante (Beatriz, Duda e Izabela) apresentarem os melhores resultados para a quelação de metais.

Prospecção fitoquímica

As análises por CLAE realizadas com todos os cultivares de *I. batatas* estudados neste trabalho permitiram identificar constituintes fenólicos descritos na literatura como importantes em diversas funções biológicas. Os flavonoides, rutina, miricetina, morina, quercetina, (+/-)-naringenina e luteolina também já foram evidenciados em trabalhos anteriores com folhas de *I. batatas*, como os

de Chu et al. (2000), Yang et al. (2008), Huang et al. (2010) e Carvalho et al. (2010), porém, em nenhum detectou-se registro de diversidade como a observada no presente trabalho. A multiplicidade de compostos observada, ante o expressivo teor de flavonoides encontrado, remetem à possibilidade de aproveitamento das folhas de *I. batatas* deste estudo para aplicações biológicas, tendo em vista, que vários estudos *in vitro*, já demonstraram capacidade dos compostos identificados em atuarem sinergicamente na diminuição de riscos associados a várias patologias, como inflamações intestinais, infecções bacterianas, diabetes, doenças cardiovasculares, câncer, entre outras decorrentes da oxidação de moléculas biológicas (Kawabata et al., 1999; Caltagirone et al., 2000; Gálvez et al., 2001; Knekt et al., 2002; Edwards et al., 2007; Ju et al., 2007; Sanchez et al., 2007; Lim et al., 2007; Johnson & Pace, 2010; Jang et al., 2010; Liu et al., 2011; Shohaib et al., 2011).

Vários estudos envolvendo folhas de *I. batatas* têm evidenciado ácidos fenólicos em sua composição (Islam et al 2002; Xu et al., 2010; Ghasemzadeh et al., 2012), entretanto, nenhum trabalho foi encontrado destacando a presença do ácido elágico para a espécie neste órgão da planta. As análises por CLAE deixaram evidente a presença deste composto entre os picos majoritários. Esta constatação torna as folhas das IMPEs, como uma fonte potencial para este composto, que, atualmente é obtido de outras espécies botânicas e apontado por estudos *in vitro* como importante na prevenção aos estresses oxidativos, supressão da leucemia, inibição do crescimento de bactérias patogênicas humanas, atividade antiúlcera, potencial antiaterogênico entre outras funções biológicas (Meyer et al., 1998; Anderson et al., 2001; Silva-Jr et al., 2010; Abe et al., 2010; Ismail et al., 2012; Tamashiro-Filho et al., 2012; Colombo et al., 2013).

Os resultados obtidos neste estudo revelaram que os constituintes fenólicos nos extratos das folhas das variedades de *I. batatas* desenvolvidas pelo LASPER/UFT para produção industrial de etanol constituem uma matriz complexa de compostos na qual, está incluso o ácido elágico, composto de grande importância farmacológica. Desta forma, estas partes da planta se tornam atraente para contínuas pesquisas e futura aplicação na medicina. O aproveitamento integral da batata-doce, por conciliação da produção de bioetanol com a futura obtenção de antioxidantes naturais e produtos farmacológicos, poderá não só aumentar sua competitividade em relação a outras culturas, mas também, fortalecer a produção de biocombustíveis à medida que promoverá uma transformação cada vez mais eficiente da biomassa pela obtenção de compostos químicos em proporções semelhantes ao petróleo.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro concedido. Ao LASPER/UFT pela gentil concessão do material botânico. Ao Programa de Pós-Graduação em Agroenergia/UFT por viabilizar as pesquisas.

ABSTRACT

Phenolic content and antioxidant activity of several varieties of Ipomoea batatas (L.) Lam developed for genetic improvement for industrial production of ethanol

The sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) is a vegetable native to tropical America, now a prominent crop in all parts of the world. The main purpose of cultivating this plant is to produce roots for human and domestic animal consumption and ethanol production. The preferred part of *I. batatas* is the roots, so that the shoot is generally discarded or used as animal feed. The aim of this study was to determine the total phenolic content, the chromatographic profile and the antioxidant potential of the leaves of 10 cultivars of *I. batatas* developed by conventional breeding for the industrial production of ethanol. Ethanol extracts of the leaves of mature plants were assayed for phenolic contents by The Folin-Ciocalteu method, which ranged between 54.72 ± 4.35 and 112.29 ± 3.65 mg TAE/g, for flavonoids by complexation with aluminum chloride (29.15 ± 372 to 97.36 ± 2.13 mg RE/g), for *in vitro* antioxidant activity by the DPPH FRAP methods and for chelating activity. Additionally, the phenolic compounds were investigated by thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC), revealing a complex matrix of compounds comprising various flavonoids and ellagic acid. A high antioxidant potential was found, which was satisfactorily correlated by Pearson correlation with total phenolic and flavonoid contents. The results showed a great potential for adding value to the crop of *I. batatas*, by combining the current agro-energy practice based on its roots with the exploitation of other organic commodities present in its leaves.

Keywords: Sweet potato. Phenolic compounds. Antioxidants.

REFERÊNCIAS

- Abe LT, Lajolo FM, Genovese MI. Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2010;30(1):254-9.
- Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci*. 2012;196:67-76.
- Amorim ELC, Nascimento JE, Monteiro JM, Peixoto-Sobrinho TJS, Araújo TAS, Albuquerque UP. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. *Func Ecosyst Commun*. 2008;2(1):88-94.
- Anderson KJ, Teuber SS, Gobeille A, Cremin P, Waterhouse AL, Steinberg FM. Walnut Polyphenolics Inhibit *In vitro* Human Plasma and LDL Oxidation. *J Nutr*. 2001;131:2837-42.
- Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Panagiotis K. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem*. 2005;89:27-36.
- Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal Biochem*. 1996;239(292):70-8.
- Bozell JJ, Petersen GR. Technology development for the production of biobased products from biorefinery carbohydrates—the US Department of Energy's "Top 10" revisited. *Green Chem*. 2010;12(4):539-54.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*. 1995;28(1):25-30.
- Caltagirone S, Rossi C, Poggi A, Ranelletti FO, Natali PG, Brunetti M, Aiello FB, Piantelli M. flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential. *Int J Cancer*. 2000;87:595-600.
- Carvalho IS, Cavaco T, Carvalho LM, Duque P. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves. *Food Chem*. 2010;118(2):384-90.
- Chew YL, Goh JK, Lim YY. Assessment of *in vitro* antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chem*. 2009;116(1):13-8.
- Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J Sci Food Agric*. 2000;80(5):561-6.
- Colombo E, Sangiovanni E, Dell'Agli M. A Review on the Anti-Inflammatory Activity of Pomegranate in the Gastrointestinal Tract. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013; Article ID 247145. Epub 2013 Mar 14. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/247145>
- Croteau R, Kutcha TM, Lewis NG. Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan B, Grissem W, Jones R. *Biochemistry & Molecular biology of Plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists; 2000. p.1250-1317.
- Demirbas A. Biorefineries: Current activities and future developments. *Energy Convers Manage*. 2009;50:2782-2801.
- Edson S, Hegde V, Makesh Kumar T, Srinivas T, Suja G, Padmaja G. Sweetpotato in the Indian SubContinent. In: Loebenstein G, Thottappilly G, editors. *The sweetpotato*. Heidelberg: Springer; 2009. p.391-414.
- Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, Rabovsky A, Symons JD, Jalili T. Quercetin Reduces Blood Pressure in Hypertensive Subjects. *J Nutr*. 2007;137:2405-11.
- Gálvez J, Coelho G, Crespo ME, Cruz T, Rodríguez-Cabezas ME, Concha A, Gonzalez M, Zarzuelo A. Intestinal anti-inflammatory activity of morin on chronic

- experimental colitis in the rat. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001;15:2027-39.
- Ghasemzadeh A, Omidvar V, Jaafar HZE. Polyphenolic content and their antioxidant activity in leaf extract of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *J Med Plants Res.* 2012;6(15):2971-6.
- Harborne JB. *Phytochemical methods: A Guide to modern techniques of plant analysis.* 3rd. ed. London: Chapman & Hall; 1988.
- Haslan E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. *J Nat Prod.* 1996;59(2):205-15.
- Huang MH, Chu HL, Juang LJ, Wang BS. Inhibitory effects of sweet potato leaves on nitric oxide production and protein nitration. *Food Chem.* 2010;121(2):480-6.
- Huang X, Tu Z, Xiao H, Li Z, Zhang Q, Wang H, Hu Y, Zhang L. Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves flavonoid. *Food Bioprod Process.* 2013;91(1):1-6.
- Huber LS, Rodrigues-Amaya, DB, Flavonois e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. *Alim Nutr.* 2008;19(1):97-108.
- Hue S, Boyce AN, Somasundram C. Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents in the leaves of different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Aust J Crop Sci.* 2012;6(3):375-80.
- Ishida H, Suzuno H, Sugiyama N, Innami S, Tadokoro T, Maekawa A. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* pair). *Food Chem.* 2000;68(3):359-67.
- Islam S, Yoshimoto M, Yahara S, Okuno S, Ishiguro K, Yamakawa O. Identification and characterization of foliar polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *J Agric Food Chem.* 2002;50(13):3718-22.
- Islam S. Medicinal and Nutritional Qualities of Sweetpotato Tops and Leaves. *Plant Sci.* 2009;4:3-7.
- Islam SJ. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaf: Its potential effect on human health and nutrition. *J Food Sci.* 2006;71(2):13-21.
- Ismail T, Sestili P, Akhtar S. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *J Ethnopharmacol.* 2012;143(2):397-405.
- Jang S, Dilger RN, Johnson RW. Luteolin Inhibits Microglia and Alters Hippocampal-Dependent Spatial Working Memory in Aged Mice. *J Nutr.* 2010;140:1892-8.
- Johnson M, Pace RD. Sweet potato leaves: properties and synergistic interactions that promote health and prevent disease. *Nutr Rev.* 2010;68(10):604-15.
- Ju W, Wang X, Shi H, Chen W, Belinsky SA, Lin Y. A Critical Role of Luteolin-Induced Reactive Oxygen Species in Blockage of Tumor Necrosis Factor-Activated Nuclear Factor-kB Pathway and Sensitization of Apoptosis in Lung Cancer Cells. *Mol Pharmacol.* 2007;71(5):1381-8.
- Kamm B, Gruber PR, Kamm M. *Biorefineries: Industrial Processes and Products.* Weinheim: Wiley-VCH; 2006.
- Kamm B, Kamm M. Principles of biorefineries. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004;64(2):137-45.
- Kawabata K, Tanaka T, Honjo S, Kakumoto M, Hara A, Makita H, Tatematsu N, Ushida J, Tsuda H, Mori H. Chemopreventive effect of dietary flavonoid morin on chemically induced rat tongue carcinogenesis. *Int J Cancer.* 1999;83:381-6.
- Khokhar S, Richard K, Apenten O. Iron binding characteristics of phenolic compounds: some tentative structure-activity relations. *Food Chem.* 2003;81(1):133-40.
- Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A, Hakulinen T, Aromaa A. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:560-8.
- Liao WC, Lai YC, Yuan MC, Hsu YL, Chan CF. Antioxidative activity of water extract of sweet potato leaves in Taiwan. *Food Chem.* 2011;127(3):1224-8.
- Lim DY, Jeong Y, Tyner AL, Park JHY. Induction of cell cycle arrest and apoptosis in HT-29 human colon cancer cells by the dietary compound luteolin. *Am J Physiol Gastroint Liver Physiol.* 2007;292:66-75.
- Liu Q, chen X, Yang G, Min X, Deng M. Apigenin inhibits cell migration through MAPK pathways in human bladder smooth muscle cells. *Biocell.* 2011;35(3):71-9.
- Luo HR, Benavides SMM, Zhang J, Zhang YZ, Zhang DP, Ghislain M. Rapid genetic transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) via organogenesis. *Afr J Biotechnol.* 2006;5(20):1851-7.
- Melo JG, Araújo TAS, Castro VTNA, Cabral DLV, Rodrigues MD, Nascimento SC, Amorim ELC, Albuquerque UP. Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. *Molecules.* 2010;15:8534-42.
- Meyer AS, Heinonen M, Frankel EN. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chem.* 1998; 61(1-2):71-5.
- Miyazaki Y, Kusano S, Doi H, Aki O, Effects on immune response of antidiabetic ingredients from whiteskinned sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Nutrition.* 2005;21(3):358-62.
- Pavlak MCM, Abreu-Lima TL, Carreiro SC, Paulillo SCL. Estudo da fermentação do hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. *Quím Nova.* 2011;34(1):82-86.

- Peixoto-Sobrinho TJS, Castro VTNA, Saraiva AM, Almeida DM, Tavares EA, Amorim ELC. Phenolic content and antioxidant capacity of four Cnidioscolus species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga, Brazil Afr J Pharm Pharmacol. 2011;5(20):2310-2316.
- Peixoto-Sobrinho TJS, Gomes TLB, Cardoso KCM, Amorim, ELC. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de Bauhinia cheilantha (Bongard) Steudel. Quim Nova. 2010; 33(2):288-91.
- Peixoto-Sobrinho TJS, Silva CHTP, Nascimento JE, Monteiro JM, Albuquerque UP, Amorim ELC. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de Bauhinia cheilantha (Bongard) Steudel. Rev Bras Cienc Farm. 2008;44 (4):683-9.
- Rodrigues PO, Gonçalves TC, Silva WB. Influência de Diferentes Sistemas de Solventes no Processo de Extração de Calendula officinalis L. (Asteraceae). Acta Farm Bonaer. 2004;23(1):27-31.
- Rufino, MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto FD. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 4p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 125) Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=202>.
- Sanchez M, Lodi F, Vera R, Villar IC, Cogolludo A, Jimenez R, Moreno L, Romero M, Tamargo J, Perez-Vizcaino F, Duarte J. Quercetin and Isorhamnetin Prevent Endothelial Dysfunction, Superoxide Production, and Overexpression of p47phox Induced by Angiotensin II in Rat Aorta. J Nutr. 2007;137:910-5.
- Sandes ARR, Di-Blasi G. Biodiversidade e diversidade química e genética. Biotecnol Ciênc Desenv. 2000;13:28-32.
- Santos RI. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: Simões CMO, Schenel EP, Gosmann G, Mell JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFSC/UFRGS; 2003. p.403-34.
- Shohaib T, Shafique M, Dhanya N, Divakar MC. Importance of flavonoides in therapeutics. H J D Med. 2011;3(1):1-18.
- Silva CHTP, Peixoto-Sobrinho TJS, Castro VTNA, Lima DCA, Amorim ELC. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Caesalpinia pyramidalis Tul. and Sapium glandulosum (L.) Morong from Northeastern Brazil. Molecules. 2011;16(6):4728-39.
- Silva-Jr IF, Raimondi M, Zacchino S, Cechinel-Filho V, Noldin VF, Rao VS, Lima JCS, Martins DTO. Evaluation of the antifungal activity and mode of action of Lajoensia pacari A. St.-Hil., Lythraceae, stem-bark extracts, fractions and ellagic acid Rev Bras Farmacogn. 2010;20(3):422-8.
- Silveira MA, Dias LED, Alvim TC, Tavares IB, Santana WR, Souza RS. A Cultura da Batata-doce como Fonte de Matéria Prima para Etanol: Boletim técnico. Palmas: UFT; 2008.
- Simões CMO, Schenel EP, Gosmann G, Mell JCP, Mentz LA, Petrovick PR, Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFSC/UFRGS; 2003.
- Song J, Li D, Liu C, Zhang Y, Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity. Food Sci Emerg Technol. 2011;12(3):1-6.
- Sousa et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais Quím Nova. 2007;30(2):351-5.
- Sun L, Zhang J, LU X, Zhang L, Zhang Y. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (Diospyros kaki L.) leaves. Food Chem Toxicol. 2011;49(10):2689-96.
- Tamashiro-Filho P, Olaitana BS, Almeida DAT, Lima JCS, Marson-Ascencio PG, Ascencio SD, Rios-Santos F, Martins DTO. Evaluation of antiulcer activity and mechanism of action of methanol stem bark extract of Lajoensia pacari A. St.-Hil. (Lythraceae) in experimental animals. J Ethnopharmacol. 2012;144(3):497-505.
- Triola MF. Introdução à estatística experimental. 10ª. ed. Rio de Janeiro: LTC; 2008.
- Udem SC, Asogwa O. Effects on hematological and biochemical parameters in albino mice fed *Ipomoea batatas* leaf aqueous extract. Comp Clin Pathol. 2011;20(5):475-9.
- Woolfe JA. Sweet Potato: An Untapped Food Resource. Cambridge: Cambridge University Press; 1992.
- 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. J Food Comp Anal. 2010;23(6):599-604.
- Yang, RY, Lin S, Kuo G. Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. Asia Pac. J Clin Nutr 2008;17(1):275-9.
- Zuanazzi, JAS, Montanha JA. Flavonoides. In: Simões CMO, Schenel EP, Gosmann G, Mell JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFSC/UFRGS; 2003. p.557-614.

Recebido em 16 de outubro de 2013

Aceito em 26 de novembro de 2013