

UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA

DISSERTAÇÃO

**Aspectos Químicos e Biotecnológicos das Folhas de
Três Cultivares de *Ipomoea batatas* L. Lam.
(Convolvulaceae) Potencialmente Úteis Em
Fitocosmética Capilar**

LUCIANA SANTOS DE OLIVEIRA

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGIA E FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**ASPECTOS QUÍMICOS E BIOTECNOLÓGICOS DAS FOLHAS DE
TRÊS CULTIVARES DE *Ipomoea batatas* L. LAM.
(CONVOLVULACEAE) POTENCIALMENTE ÚTEIS EM
FITOCOSMÉTICA CAPILAR**

LUCIANA SANTOS DE OLIVEIRA

Sob a Orientação do Professor
Celso Luiz Salgueiro Lage

e Co-orientação da Professora
Sônia Soares Costa

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração em Biotecnologia Aplicada.

Seropédica, RJ
Maio de 2011

635.22

O48a

T

Oliveira, Luciana Santos de, 1965-

Aspectos químicos e biotecnológicos das folhas de três cultivares de *Ipomoea batatas* L. Lam. (Convolvulaceae) potencialmente úteis em fitocosmética capilar / Luciana Santos de Oliveira - 2011.

86 f.: il.

Orientador: Celso Luiz Salgueiro Lage.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada.

Bibliografia: f. 63-73.

1. Batata-doce - Composição - Teses. 2. Batata-doce - Cultivo - Teses. 3. Folhas - Experiências - Teses. 4. Cosméticos - Teses. I. Lage, Celso Luiz Salgueiro, 1961-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGIA E FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

LUCIANA SANTOS DE OLIVEIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração em Biotecnologia Aplicada.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/05/2011

BANCA EXAMINADORA:

Celso Luiz Salgueiro Lage (Dr.) UFRJ
(Orientador)

Eurípedes Barsanulfo Menezes (Dr.) UFRRJ

Mirian Ribeiro Leite Moura (Dr.^a) UFRJ

Sônia Soares Costa (Dr.^a) UFRJ

Francisco Racca Filho (Dr.) UFRRJ

DEDICATÓRIA

A Deus, por ter me dado força, coragem e por estar ao meu lado nas horas mais difíceis desta caminhada, não me deixando nunca desistir dos meus objetivos.

À minha mãe Luciene, aos meus irmãos Jorge e Silvana e aos meus sobrinhos Gabriel e Samara por estarem sempre ao meu lado, pela dedicação e pelos esforços em me ajudar. A todos vocês minha enorme gratidão.

À minha amada e sempre querida avó Glicerina, por todo amor, carinho e por todos os esforços para que pudesse ter um futuro melhor. *In memoriam*.

Aos meus orientadores Dr. Celso Lage e Dra. Sônia Costa, por toda dedicação, atenção, profissionalismo, ética e por seus preciosos ensinamentos que sempre serão de suma importância para o meu futuro profissional. Muito obrigado por tudo.

À minha grande amiga Mônica, por acreditar no meu trabalho e pela força durante toda esta jornada.

À minha grande amiga Dra. Michelle Frazão Muzitano, por todo apoio, amizade, companheirismo, orientação, ensinamentos e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Elen Menezes, pela dedicação, apoio, colaboração, compreensão, durante todo este processo de finalização de dissertação.

À Dra. Daniela Barros de Oliveira, por todo apoio, colaboração, orientação durante o desenvolvimento dos experimentos no laboratório de alimentos da UENF.

À Dra. Angélica Ribeiro, pela colaboração, parceria, apoio e orientação durante os experimentos realizados na central analítica do NUPEM-UFRJ.

Ao Dr. Raul de Lucena da Fazendinha, por toda dedicação, colaboração, durante todo processo de adaptação dos clones no solo. Muito obrigado por tudo.

Ao Dr. José Guilherme da EMBRAPA, por toda atenção, colaboração, durante o processo de adaptação dos clones no solo.

À Engenheira Ivana de Almeida da Fazendinha, por toda dedicação, atenção, por conceder as matrizes utilizadas neste trabalho.

Ao Juarez da Fazendinha, por todos os cuidados dedicados aos clones em fase de aclimatização.

À doutoranda Natalia Ribeiro UENF, pela colaboração, apoio, durante os testes de atividade antioxidante.

À doutoranda Fernanda Lacerda NUPEM-UFRJ, por toda atenção, dedicação, apoio, durante as análises de CLAE.

À aluna de iniciação científica Maíra UENF, pelo apoio, dedicação, colaboração, durante os testes de toxicidade.

A todos os docentes, pela contribuição através de seus ensinamentos para um crescimento profissional.

A toda equipe do DPPGFBA, pela atenção e toda colaboração ao longo do mestrado.

A todos os colegas de classe do mestrado, pela amizade, união e companheirismo.

Aos meus colegas Brenda, Luiz e Gabriel, por todo companheirismo, amizade e união durante todos os períodos do nosso curso.

À doutoranda Marcela Coutinho, pela amizade, carinho e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os meus colegas de laboratório do NPPN-UFRJ Luiza, Douglas, Maria Fernanda, Fernanda José, Isabel Cristina, Fábio, Jaqueline, Natália e todos os alunos de iniciação científica, por todos os bons momentos vividos, toda amizade, por toda solidariedade e companheirismo.

À aluna de graduação Lívia USS, pela atenção e colaboração no desenvolvimento das estruturas moleculares deste trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

RESUMO

OLIVEIRA; Luciana Santos de. **Aspectos químicos e biotecnológicos das folhas de três cultivares de *Ipomoea batatas* L. Lam. (Convolvulaceae) potencialmente úteis em fitocosmética capilar.** Seropédica: UFRRJ, 2011. 86p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada). Instituto de Biologia, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Ipomoea batatas (L.) Lam. conhecida como batata-doce, pertence à família Convolvulaceae. O gênero *Ipomoea* é o mais importante em expressão econômica na agricultura e compreende aproximadamente 700 espécies. A batata doce está entre as culturas de maior importância do mundo. Ela ocupa o quinto lugar em produção anual (mais de 133 milhões de toneladas), sendo superada pelo arroz, trigo, milho e mandioca. É a quarta hortaliça mais consumida no Brasil. As folhas de batata doce são largamente utilizadas pela comunidade de Nova Iguaçu – RJ e Itaboraí – RJ, sob a forma de xampu contra queda de cabelo (anti-queda). Tendo em vista o potencial de *I. batatas* como fitocosmético, esta dissertação tem como objetivo estudar as técnicas para propagação *in vitro* da espécie *I. batatas*, avaliar seu perfil químico por cromatografia de alta eficiência acoplada à espectrometria de ultravioleta (CLAE-UV), a atividade antioxidante e toxicidade de suas folhas. Para o desenvolvimento dos experimentos foram utilizados extratos alcoólicos e hidroalcoólicos de folhas frescas e secas. Na propagação vegetativa *in vitro* foram utilizadas como doadoras de explante as cultivares Rosinha de Verdan, Cenoura (IAPAR 69) e Capivara. O perfil químico dos extratos foi determinado com base na técnica de CLAE-UV. Foi possível avaliar e comparar o perfil químico dos extratos de folhas frescas e secas das plantas doadoras de explante e clones de *I. batatas*. Utilizou-se para a avaliação da atividade antioxidante de matrizes e clones o método fotocolorimétrico que emprega o radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilidrazila (DPPH). A avaliação de toxicidade de extrato de folhas de matrizes e clones foi realizada em células RAW 264.7 com amostras liofilizadas e ressuscitadas em dimetilsulfóxido. O xampu piloto foi desenvolvido a partir de extrato de folhas frescas da cultivar Rosinha. Neste estudo o extrato hidroalcoólico (folhas frescas), foi o que apresentou melhores resultados. O clone da cultivar Rosinha apresentou melhor resultado na aclimação em campo. A espécie em estudo apresentou grande potencial antioxidante em média e alta concentração. Os ácidos caféico e clorogênico foram identificados por CLAE, confirmando brevíssimos relatos de ocorrência desses ácidos fenólicos em folhas de batata-doce. O extrato da cultivar Rosinha (folhas frescas) utilizado no preparo do xampu anti-queda não apresentou citotoxicidade na concentração de 20 µg/mL. O xampu apresentou resultados positivos nos voluntários. Este estudo permitiu concluir que a espécie em estudo possui potencial e deve ser alvo de futuras pesquisas visando o desenvolvimento de um produto fitocosmético capilar.

Palavras-chave: Batata-doce, clones, CLAE, compostos fenólicos, queda de cabelo, xampu.

ABSTRACT

OLIVEIRA; Luciana Santos de. **Chemical and biotechnological aspects of leaves from three cultivars of *Ipomoea batatas* L. Lam. (Convolvulaceae) potentially useful in capillary phytocosmetic.** Seropédica: UFRRJ, 2011. 86p. (Dissertation, Master Science in Phytosanitary and Applied Biotechnology). Instituto de Biologia, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Ipomoea batatas (L.) Lam., known as sweet potato, belongs to the Convolvulaceae family. The genus *Ipomoea*, with its nearly 700 species, harbors an important economic impact in the commodities market. Sweet potato is one of the worldwide important crops. It ranks fourth most consumed Brazilian vegetable crop and fifth annual production (over 133 million tons), being overtaken only by rice, wheat, maize and cassava. Sweet potato leaves are widely used as a shampoo that prevents hair loss (anti-baldness) by the community of Nova Iguaçu - RJ and Itaboraí – RJ. Given the potential of *I. batatas* phytocosmetic compounds, this study aimed at optimize techniques for *in vitro* propagation of *I. batatas*, and evaluate their chemical profile by High Performance Liquid Chromatography coupled to Ultraviolet spectrophotometry (HPLC-UV) analysis in search of both antioxidant and toxic compounds present in alcoholic and hydroalcoholic extracts from fresh and dried leaves. Vegetative *in vitro* propagation was performed with explant donors from cultivars ‘Rosinha do Verdan’, ‘Cenoura’ (IAPAR 69) and ‘Capivara’. It was possible to evaluate and compare the chemical profile of extracts from fresh and dried leaves from explants of both native and genetic clones donor plants of *I. batatas*. The antioxidant activity found in mother plants and clones was evaluated by a photolorimetric method based on the activation of the stable free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). The evaluation of toxicity of leaf extracts from mother plants and clones was performed by exposing RAW 264.7 cells to lyophilized leaves powder samples resuspended in dimethyl sulfoxide. The pilot shampoo formula was developed from extracts of fresh leaves of the cultivar ‘Rosinha do Verdan’. Formulas made from hydroalcoholic extracts (made of fresh leaves) achieved the best results in preliminary tests with volunteers. Moreover, clones of the cultivar ‘Rosinha’ exhibited better results under field acclimation. This species has a great antioxidant potential at medium and high concentration. Caffeic and chlorogenic acids were identified by HPLC, confirming previous reports on the occurrence of these phenolic acids in sweet potato leaves extracts. The extract from cultivar ‘Rosinha’ (made of fresh leaves) used to prepare the anti-baldness shampoo formula showed no cytotoxicity at a concentration of 20 micrograms per milliliter. The shampoo showed positive preliminary results in healthy volunteers. This study showed that the species under study has a phytocosmetic potential and should be targeted for future research aimed at developing a commercial phytocosmetic product.

Key words: Sweet potato, clones, HPLC, phenolic compounds, hair loss, shampoo.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Raiz tuberosa com emissão de brotações a partir da extremidade	4
Figura 2: Abundância de raízes absorventes de batata-doce	4
Figura 3: Mini usina produtora de etanol, a partir da batata-doce, instalada na Estação Experimental da Universidade Federal do Tocantins	11
Figura 4: Compostos químicos das folhas de <i>Ipomoea batatas</i>	12
Figura 5: Compostos fenólicos e estruturas representativas pertencentes aos ácidos benzóico, ácido hidroxicinâmicos, flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonoides, flavonóis, antocianinas e taninos	13
Figura 6: Estrutura química do ácido benzóico	14
Figura 7: Derivados de ácido benzóico de ocorrência natural	15
Figura 8: Estrutura química do ácido cinâmico	15
Figura 9: Estrutura química da cumarina	16
Figura 10: Estrutura geral de um flavonoide com os anéis A, B e C e sistema de numeração para diferenciação das posições dos carbonos	17
Figura 11: Estrutura da quercetina, e suas características estruturais relacionadas à capacidade antioxidante	17
Figura 12: Estrutura do cátion flavílico	18
Figura 13: Estrutura da cianidina 3-glicosídeo ($R_1=OH$, $R_2=H$)	19
Figura 14: Transferência de um elétron não emparelhado para um composto aromático	20
Figura 15: Vista aérea da Fazendinha Agrobiológica Km 47	23
Figura 16: Variedades de <i>Ipomoea batatas</i> L. (Lam.) coletadas na Fazendinha Agrobiológica	24
Figura 17: A. Fragmentação manual das folhas. B. Filtragem dos extratos. C. Extratos obtidos de cor verde escuro. D. Extratos em evaporação em banho-maria para redução de volume	25
Figura 18: A. Brotação da IB Cenoura. B. Brotação da IB Rosinha. C. Brotação da IB Capivara. D. Casa de vegetação do departamento de entomologia e fitopatologia da UFRRJ	28
Figura 19: A. Ramas de <i>Ipomoea batatas</i> L. (Lam.). B. Fluxo laminar preparado para desinfestação e explante das plantas. C. Tubo de ensaio com 1 explante de cada variedade. D. Sala de crescimento das plantas sob luminosidade	29
Figura 20: Rendimento dos diferentes extratos das matrizes de <i>Ipomoea batatas</i>	35
Figura 21: Rendimento dos diferentes extratos dos clones de <i>Ipomoea batatas</i> (Coleta 1 – após 2 meses de cultivo)	36
Figura 22: Rendimento dos diferentes extratos dos clones de <i>I. batatas</i> (Coleta 2 – após 5 meses de cultivo)	37
Figura 23: Matrizes doadoras de explante em casa de vegetação após período de brotação das raízes tuberosas	37
Figura 24: A. Cultivar Rosinha com 14 dias em meio MSØ em sala de vegetação. B. Cultivar Cenoura com 14 dias em meio MSØ em sala de vegetação	38
Figura 25: Contaminação por fungos no meio MSØ nas cultivares IB Rosinha e IB Cenoura	39
Figura 26: Explante da cultivar IB Capivara com 4 dias em meio MSØ na sala de vegetação apresentando contaminação por fungos em todas as amostras	39
Figura 27: Cultivares Rosinha e Cenoura em vidro contendo meio MSØ e posteriormente transferidas para potes de plásticos contendo terra adubada	40

Figura 28: A. Clone IB Rosinha com 15 dias no solo. B. Clone IB Cenoura com 15 dias no solo. C. Canteiro com ambos os clones com 2 meses no solo da Fazendinha	41
Figura 29: Coleta dos tubérculos do clone de IB Rosinha com 5 meses no solo da Fazendinha da UFRRJ	41
Figura 30: Cromatograma Comparativo do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca das 3 cultivares de <i>Ipomoea batatas</i> - 254 nm. Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL. Cultivar Rosinha (preto), Cenoura (rosa), Capivara (azul).	42
Figura 31: Cromatograma Comparativo do Extrato Alcoólico Folha Fresca de <i>Ipomoea batatas</i> – 254 nm. Concentração da amostra 10 mg/mL, volume Injetado 20 µL. Cultivar Capivara (preto), Cenoura (rosa) e Rosinha (azul).	43
Figura 32: Espectro de Ultravioleta dos Picos do Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico das Folhas Frescas de <i>Ipomoea batatas</i> cultivar Rosinha.	46
Figura 33: Estrutura básica de flavonoide e suas porções que geram as bandas de absorção características no UV	47
Figura 34: Cromatograma do extrato hidroalcoólico folhas frescas da cultivar Rosinha	48
Figura 35: Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca do clone de <i>Ipomoea batatas</i> cultivar ROSINHA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL	49
Figura 36: Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Seca do clone de <i>Ipomoea batatas</i> cultivar ROSINHA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL	50
Figura 37: Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca do clone de <i>Ipomoea batatas</i> cultivar CENOURA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL	50
Figura 38: Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Seca do clone de <i>Ipomoea batatas</i> cultivar CENOURA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20µL	50
Figura 39: Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca do clone de <i>Ipomoea batatas</i> cultivar ROSINHA – 254 nm (segunda coleta, 5 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL	51
Figura 40: Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca do clone de <i>Ipomoea batatas</i> cultivar CENOURA – 254 nm (segunda coleta, 5 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL	52
Figura 41: Percentuais de área nos cromatogramas dos extratos da cultivar Rosinha para os picos correspondentes ao flavonoide majoritário, ácido caféico e ácido clorogênico	53
Figura 42: Atividade antioxidante dos extratos de <i>I. batatas</i> cultivar Rosinha no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico)	54
Figura 43: Atividade antioxidante dos extratos de <i>I. batatas</i> cultivar Cenoura no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico)	54
Figura 44: Atividade antioxidante dos extratos de <i>I. batatas</i> cultivar Capivara no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico)	55

Figura 45: Atividade antioxidante das substâncias naturais quercetina, rutina e ácido ascórbico usadas como controle na comparação com os extratos de <i>I. batatas</i> no ensaio com o radical livre DPPH	55
Figura 46: Atividade antioxidante dos extratos de <i>I. batatas</i> cultivar rosinha e cenoura, primeira coleta, no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico)	56
Figura 47: Atividade antioxidante dos extratos de <i>I. batatas</i> cultivar Rosinha e Cenoura, segunda coleta (5 meses de aclimatização), no ensaio com o radical livre DPPH	56
Figura 48: Atividade antioxidante das substâncias identificadas nos extratos de <i>I. batatas</i> estudados, cianidina, ácido clorogênico e ácido cafeico, no ensaio com o radical livre DPPH	57
Figura 49: Citotoxicidade dos extratos das matrizes de <i>I. batatas</i> a 20 µg/mL em cultura de células de murinos	58
Figura 50: Citotoxicidade dos extratos dos clones de <i>I. batatas</i> em cultura de células de mamífero	59
Figura 51: Efeito do shampoo contendo extrato de <i>I. batatas</i> no voluntário 1	60
Figura 52: Efeito do shampoo contendo extrato de <i>I. batatas</i> no voluntário 2	61
Figura 53: Efeito do shampoo contendo extrato de <i>I. batatas</i> no voluntário 3	61

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Preparo dos extratos alcoólicos das folhas frescas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas	26
Esquema 2: Preparo e maceração dos extratos hidroalcoólicos das folhas frescas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas	26
Esquema 3: Preparo dos extratos alcoólicos das folhas secas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas	27
Esquema 4: Preparo dos extratos hidroalcoólicos das folhas secas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas	27
Esquema 5: Preparo e maceração dos extratos hidroalcoólicos das folhas frescas dos clones IB Rosinha e IB Cenoura e suas respectivas massas	31
Esquema 6: Preparo dos extratos hidroalcoólicos das folhas secas dos clones de IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas	32

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Área plantada, produção total e produtividade de batata-doce em 2006 no mundo e nos principais produtores	05
Tabela 2: Produção agrícola de alguns Estados brasileiros em relação à cultura da batata-doce	06
Tabela 3: Composição nutricional de 100g de raiz de batata-doce crua (102 kcal)	08
Tabela 4: Estrutura dos principais ácidos hidroxibenzóicos	14
Tabela 5: Estrutura dos principais hidroxicinâmicos	16
Tabela 6: Gradiente de solventes utilizado nas análises por CLAE-UV das amostras obtida	32
Tabela 7: Contaminação por microorganismos nas cultivares Rosinha e Cenoura em sala de vegetação	39
Tabela 8: Área Percentual dos Picos do Cromatograma dos Extratos das Matrizes	49
Tabela 9: Área Percentual dos Picos do Cromatograma dos Extratos dos Clones	52

LISTA DE ABREVIATURAS

μL	microlitro
μm	micromêtro
BHA	butil-hidroxi-anisol
BHT	2,6-di-(tert-butil)-4-metilfenol
cm	centímetro
CEASAs	Centrais de Abastecimentos
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DAD	Diode Array Detector
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxiribonucleico
DPPH	1,1-difenil-2-picrilidrazila
I.	Ipomoea
IB	<i>Ipomoea batatas</i>
g	grama
kg ha^{-1}	quilograma por hectare
Km	kilometro
LDH	Lactato desidrogenase
m	metro
mg	miligrama
ml	mililitro
mm	milímetro
MTT	3,4,5-dimetil tiazol-2,5-difenil brometo de tetrazol
nm	nanômetro
MSØ	meio de cultura Murashige & Skoog (1962)
RL	Radicais Livres
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SPCFV	<i>Sweet potato chlorotic fleck virus</i>
SPFMV	<i>Sweet potato feathery mottle virus</i>
SPLV	<i>Sweet potato latent virus</i>
SPMMV	<i>Sweet potato mild mottle virus</i>
t/ha^{-1}	tonelada por hectare
T_r	Tempo de retenção
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 Taxonomia da batata-doce	03
2.2 Cultura da batata-doce	04
2.2.1 Sistema de produção de batata-doce pela Embrapa	07
2.2.2 Batata-doce na alimentação	07
2.2.3 Produção de farinha de batata-doce	09
2.2.4 Cultura de tecidos em batata-doce	09
2.2.5 Produção de etanol de batata-doce	10
2.2.6 Metabólitos secundários presentes na batata-doce	11
2.3 Compostos Fenólicos	12
2.3.1 Flavonoides	16
2.3.2 Antocianinas	18
2.4 Formação dos radicais livres (RL) X Antioxidantes	19
2.5 Fitocosmética Capilar	21
2.5.1 Alopecia	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 - Material Vegetal	23
3.1.2 Preparo dos Extratos por Maceração	24
3.1.3 Folhas Frescas – Matrizes	24
3.1.4 Folhas Secas – Matrizes	26
3.2 Brotações das Raízes Tuberosas de <i>Ipomoea batatas</i> L. (Lam.)	28
3.3 Propagação Vegetativa <i>in vitro</i>	29
3.3.1 Avaliação das culturas <i>in vitro</i>	30
3.3.2 Cultura de Segmentos Nodais	30
3.3.3 Aclimatização	30
3.3.4 Cultivo em Campo	30
3.4 Preparo dos Extratos por Maceração – Clones	31
3.4.1 Folhas Frescas – Clones	31
3.4.2 Folhas Secas – Clones	31
3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-UV)	32
3.6 Avaliação da Atividade Antioxidante	33
3.7 Avaliação da Toxicidade	33
3.7.1 Preparo dos Extratos – Toxicidade	33
3.7.2 Cultivo das Células RAW 264.7	34
3.7.3 Teste de Citotoxicidade dos Extratos em Células da Linhagem Raw 264.7	34
3.8 Estudo do Efeito do Shampoo de <i>Ipomoea batatas</i> em Voluntários Humanos	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Rendimento das extrações	35
4.1.1 Matrizes	35
4.1.2 Clones	36
4.2 Brotações das raízes tuberosas	37
4.3 Propagação Vegetativa <i>in vitro</i>	38
4.3.1 Cultura de Segmentos Nodais	38
4.3.2 Crescimento das Cultivares Rosinha de Verdão e Cenoura (IAPAR 69)	38

4.3.3 Aclimatização	40
4.3.4 Cultivo em Campo	40
4.4 Perfil Cromatográfico dos Extratos	42
4.4.1 Perfil Cromatográfico dos Extratos das Matrizes	42
4.5 Atividade Antioxidante	54
4.5.1 Atividade Antioxidante das Matrizes das Diferentes Variedades Estudadas	54
4.5.1.2 Atividade Antioxidante dos Clones das Diferentes Variedades Estudadas	56
4.5.2 Citotoxicidade em Cultura Celular	57
4.5.2.1 Citotoxicidade em Cultura Celular dos Extratos das Matrizes de <i>I. batatas</i>	58
4.5.2.2 Citotoxicidade em Cultura Celular dos Extratos dos Clones de <i>I. batatas</i>	59
4.5.3 Efeito do Shampoo contendo extrato de <i>I. batatas</i> em voluntários humanos	60
5 CONCLUSÕES	62
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS	74

1 INTRODUÇÃO

Ipomoea batatas (L.) Lamarck, conhecida popularmente como batata-doce, pertence à família Convolvulaceae. A família Convolvulaceae abrange cerca de 50 gêneros e tem descritas mais de 1.200 espécies. O gênero *Ipomoea* é o mais importante em expressão econômica e compreende aproximadamente 700 espécies, a qual pertence *Ipomoea batatas* (MEIRA *et al.*, 2008).

Acredita-se que esta espécie seja originária das Américas Central e do Sul, podendo ser encontrada desde a Península de Yucatam, no México, até a Colômbia. A sua utilização remonta há mais de dez mil anos, segundo análises de batatas secas encontradas em cavernas localizadas no vale de Chilca Canyon, no Peru e escritos arqueológicos encontrados em região ocupada pelos Maias, na América Central (EMBRAPA, 2004). Entretanto, de acordo com alguns autores, existe controvérsia sobre a origem da batata-doce. Segundo Barrera (1986), esta foi domesticada pelos indígenas da América do Sul (incas, maias e astecas), pois quando os europeus entraram em contato com os indígenas latino-americanos estes já plantavam e se alimentavam de batata-doce. Mas segundo o autor, também há indícios que a origem seja africana e que a batata-doce fora trazida para as terras americanas, antes da chegada dos europeus. Segundo o mesmo autor, outra possível origem da batata-doce é a Ásia, onde provavelmente foi domesticada e de onde teria alcançado a África e depois as Américas.

De cultura rústica e, fácil, a batata-doce apresenta tolerância à seca, possui ampla adaptação, baixo custo de produção, raiz tuberosa que pode se classificada segundo o tamanho, cor interna, doçura, precocidade, cor das folhas e flores. (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A batata doce está entre as culturas de maior importância do mundo. Ela ocupa o quinto lugar em produção anual (mais de 133 milhões de toneladas), sendo superada pelo arroz, trigo, milho e mandioca (BRASIL, 2009).

Os produtos olerícolas possuem cadeia de comercialização diferente, com vários componentes do mercado interno envolvidos, tais como: produtores, intermediários, atacadistas, CEASAs (Centrais de Abastecimentos), feirantes e varejistas (supermercados, quitandas, varejões e outros). Existem diversas formas de comercialização interna, entre as quais: a venda direta do produtor ao consumidor, sem nenhum intermediário; do produtor ao varejista; do produtor ao atacadista de destino, com instalações próximas do centro de abastecimento e do produtor ao atacadista de origem, localizado junto à zona de produção. O produtor pode escolher uma destas alternativas que melhor se adapte às suas condições (FAGUNDES; YAMANISHI, 2001).

As famílias rurais da Região Nordeste do País e outras regiões, cultivam a batata doce de maneira empírica. Cultivada em conjunto com diversas outras culturas, visa à alimentação das famílias, principalmente na primeira refeição diária, sendo utilizada na forma de raízes cozidas, assadas ou fritas (SILVA *et al.*, 2004).

Segundo Niederwieser (2004), ela pode ser usada como forrageira na alimentação animal, na alimentação humana e como matéria prima na indústria para a produção de sucos, pães, doces e outros derivados.

A literatura etnofarmacológica relata o uso do chá das folhas e ramos jovens da batata-doce para aumentar a lactação (LORENZI & MATOS, 2002), no tratamento de afecções da pele, feridas, furúnculos, abscessos dentários, gengiva inflamada (VENDRUSCULO & MENTZ, 2006), edemas da face (ITF, 2008) e dor de dente (BORBA & MARCEDO, 2006). As folhas de batata doce são largamente utilizadas pela comunidade de Nova Iguaçu – RJ e Itaboraí – RJ, em forma de xampu contra queda de cabelo. Em consulta aos bancos de dados científicos, constatou-se não existir nenhum estudo que comprove o uso desta espécie para finalidade cosmética capilar.

Vários trabalhos de etnobotânica com plantas medicinais realizados em diversos estados do Brasil, dentre as plantas repertoriadas pelos entrevistados, citam a utilização das folhas de batata-doce para o trato de afecções bucais (PILLA *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Tendo em vista o potencial de *Ipomoea batatas* como fitocosmético, este estudo tem como objetivo geral:

- ✓ Estudar as técnicas para propagação *in vitro* da espécie *Ipomoea batatas*;
- ✓ Avaliar seu perfil químico por cromatografia de alta eficiência;
- ✓ Atividade antioxidante;
- ✓ Toxicidades de suas folhas.

Objetivos específicos:

- ✓ Estudar e comparar as técnicas de propagação vegetativa *in vitro* de três cultivares de *Ipomoea batatas* L. de potencial interesse para desenvolvimento de produtos cosméticos: CAPIVARA, ROSINHA DE VERDAN e CENOURA (IAPAR 69).
- ✓ Avaliar o perfil químico de diferentes extratos obtidos a partir das três cultivares de *Ipomoea batatas*, comparando, além dos diferentes extratos, plantas propagadas com as plantas doadoras de explante.
- ✓ Analisar atividade antioxidante e a toxicidade dos extratos de *Ipomoea batatas*.
- ✓ Avaliar o efeito dos extratos em diferentes estágios de calvície em indivíduos adultos de ambos os sexos

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Taxonomia da batata-doce

Família Convolvulaceae Juss.

Trepadeiras volúveis, ervas, subarbustos, arvoretas ou árvores, raro aclorofiladas e parasitas. Às vezes latescentes, glabras ou com indumento variável, tricoma simples, estrelados ou glandulosos. **Feixes vasculares** na maioria dos representantes, com organização biclateral, isto é, floema para dentro e para fora do xilema. **Folhas** alternas, pecioladas ou sésseis, simples ou compostas, sem estípulas ou com pseudoestípulas (ramos atrofiados de entrenós muito curtos), com lâminas de formas e tamanhos muito variáveis, palma ou pinatinérveas. **Inflorescências** geralmente cimosas e axilares, raramente racemosas ou terminais. **Flores** pentâmeras, bissexuais ou unissexuais, actinomorfas ou zigomorfas. **Cálice** constituído por sépalas livres ou soldadas apenas na base, iguais ou desiguais entre si. **Corola** gamopétala, formando limbo inteiro, lobulado ou partido, tubulosa. **Androceu** isostêmone, estames alternipétalos, epipétalos, anteras oblongas, com a base sagitada ou auriculada. **Gineceu** com ovário súpero, globoso a ovóide, 2-3 carpelos unidos, 1-4 lóculos, estigma globoso, oblongo. **Fruto** cápsula de deiscência valvar, transversal ou irregular. **Sementes** em igual número de rudimentos seminiais ou menos por aborto, glabras ou pubescentes, às vezes com longos tricomas no ápice e nas laterais (FERREIRA, 2009).

Etimologia: *convolvere*: torcer, em referência ao hábito da maioria dos representantes (BARROSO, 1991).

As raízes desta cultura são de dois tipos: de reserva ou tuberosa, parte de principal interesse comercial, e a raiz responsável pela absorção de água e extração de nutrientes do solo. A formação das raízes tuberosas (**Figura 1**) ocorre desde o início do desenvolvimento da planta, sendo facilmente identificadas pela maior espessura, pela pouca presença de raízes secundárias e por se originarem dos “nós”, são envoltas com película externa de coloração variada e com formatos distintos variando com o tipo de solo, podendo se obter formas alongadas e até mesmo formas arredondadas. A coloração da polpa pode variar entre as cores branca, amarela, avermelhada e até roxa. As raízes absorventes (**Figura 2**) se formam a partir do meristema cambial, tanto nos “nós”, quanto nos entrenós. São abundantes e altamente ramificadas o que favorece a absorção de nutrientes. A maioria das raízes se desenvolve nos primeiros 10 cm de profundidade do solo, no entanto, a raiz pivotante pode atingir até 1,30 m (MIRANDA, 1987).



Figura 1: Raiz tuberosa com emissão de brotações a partir da extremidade.
Fonte: aprendadetudo.com.br



Figura 2: Abundância de raízes absorventes de batata-doce.
Fonte: EMBRAPA,2008.

Três fases fisiológicas são identificadas durante o crescimento da planta: a primeira predomina o desenvolvimento da parte aérea, nesta fase são formadas as raízes absorventes e as aptas a tuberização; na segunda, crescimento radical (tuberização) e vegetativo, e na terceira prevalece a tuberização. A determinação do crescimento da planta ocorre a partir de caracteres fisiológicos como massa seca das plantas (raízes, caules, folhas) e área foliar. Esta cultura possui hábito de crescimento indeterminado, ciclo perene e tuberização contínua, ocorrendo à morte da planta somente através de fatores climáticos muito severos, como geada e seca muito prolongada (QUEIROGA *et al.*, 2007).

2.2 Cultura da batata-doce

O maior produtor mundial de batata-doce é a China, com uma produção total de 100.222.120 toneladas, com mais de 4,7 milhões de hectares cultivados e com produtividade média de 21,3 t/ha⁻¹ de raízes. As áreas de produção estão localizadas principalmente nas províncias de Sichuan (16% da produção total em 2003), Shandong (13%), Chong Quing (8%), Guangdong (7%), Anhui (7%), Henan (6%), Fujian (6%) e Hubei (4%), (**Tabela 1**) (FAO, 2009; WU *et al.*, 2008).

Tabela 1: Área plantada, produção total e produtividade de batata-doce em 2006 no mundo e nos principais produtores.

País	Área Plantada ha	Produção Total t	Produtividade de Raízes Kg ha ⁻¹
China	4.708.503	100.222.120	21,3
África	2.559.223	11.326.628	4,4
Nigéria	1.021.000	3.462.000	3,4
Cuba	47.123	303.000	6,4
Japão	40.800	988.900	24,2
Estados Unidos da América	35.130	737.000	21,0
Mundo	8.661.288	127.228.146	14,7

Fonte: FAO, 2009.

O Brasil em 2007 ocupava o 15º lugar na produção mundial de batata doce, com aproximadamente 500.000 t ano⁻¹, em uma área plantada de 48.000 ha, com produtividade média de 11.219 kg ha⁻¹ (FAO, 2007; Massaroto *et al.*, 2010). É a quarta hortaliça mais consumida. É tipicamente tropical, rústica, de constituição herbácea, rastejante, verde ou arroxeadada, de fácil manutenção, boa resistência contra seca e ampla adaptação. Os custos de produções são relativamente baixos, os investimentos são mínimos e o retorno bem elevado se comparado a outras espécies (Melo *et al.*, 2009). A batata-doce é uma das plantas alimentares mais antiga do Brasil (Roesler *et al.* 2008). Sua presença é maior nas regiões Sul e Nordeste, notadamente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Pernambuco e Paraíba. Cultivada em 111 países, aproximadamente 90% na Ásia, 5% na África e 5% no restante do mundo. Apenas 2% da produção estão em países industrializados como os Estados Unidos e Japão (BORBA, 2005).

A região Sul é a principal produtora de batata-doce, responsável por 50,44% da produção, seguida pelo Nordeste, com 33,60% e pela Região Sudeste, com 15,16%. No Rio Grande do Sul, em 2006 a produção de batata-doce foi de 155.377 toneladas (**Tabela 2**). Os municípios do RS com maior produção de batata-doce são Mariana Pimentel (6.915

toneladas), São Lourenço do Sul (4.800 toneladas), Vale do Sol (4.373 toneladas) e Canguçu (4.000 toneladas), (EMBRAPA, 2008).

Tabela 2: Produção agrícola de alguns Estados brasileiros em relação à cultura da batata-doce

Estado	Quantidade produzida (tonelada)	Valor da produção (reais)	Área plantada (hectare)	Área colhida (hectare)	Rendimento médio (Kg / hectare)
São Paulo	44.372	16.663,00	3.144	3.144	14.113
Rio Grande do Sul	155.327	94.316,00	12.894	12.894	12.046
Santa Catarina	44.931	15.006,00	2.877	2.877	15.617
Paraná	49.755	22.597,00	2.997	2.997	16.601

Fonte: EMBRAPA, 2008.

A cultura da batata-doce possui ampla adaptação a distintas condições ambientais, resistência a pragas e grande número de formas de aproveitamento. Estes fatores contribuem para a sua aclimatização em diversas partes do mundo (ROESLER *et al.*, 2008).

O cultivo desta hortaliça possui grande importância social na região do Nordeste, por auxiliar na geração de emprego e renda, e por ser fonte de alimento energético. Em 2006, no Estado da Paraíba foram utilizados 6.641 hectares com a cultura da batata-doce, que produziram 59.971 toneladas/ano e rendimento médio 9.030 kg ha⁻¹, o que corresponde a 33% da área plantada no Nordeste (IBGE, 2009). A batata-doce é mais cultivada e difundida nas regiões próximas aos grandes centros consumidores, especialmente no litoral paraibano. Esse estado é considerado o maior produtor nordestino e o quarto produtor brasileiro (SOARES *et al.*, 2002).

Esta hortaliça representa uma parte significativa do volume total e valor econômico da horticultura produzida em todo o mundo, sendo considerada a sétima cultura alimentícia mais importante, devido à sua versatilidade e adaptabilidade (DINI *et al.*, 2009).

A batata-doce apresenta boa perspectiva de abrangência de mercado, mas devido à falta de investimento em desenvolvimento e tecnologia por se tratar de uma cultura de subsistência, tendo a sua maior parcela de produção em nível nacional, proveniente da agricultura familiar. Fica evidenciada a carência de orientação profissional do conhecimento técnico-científico até o agricultor e com isto uma baixa lucratividade do produto. A comercialização sofre restrições por parte do mercado, tanto por parte dos atacadistas, com redução de preços, quanto por parte dos consumidores ao refugar parte do produto exposto à venda, por apresentar um produto de baixa qualidade (MONTES *et al.*, 2006).

Não existe uma norma oficial de padronização da comercialização da batata-doce no Brasil. Entretanto, nos principais mercados brasileiros (Rio de Janeiro e São Paulo) há normas não oficiais de padronização de tamanho, onde extra A está entre 301 a 400 g, extra B entre 201 a 300 g, especial entre 151 a 200 g e diversos entre 80 a 150 g ou maiores que 400 g (SILVA *et al.*, 2002).

2.2.1 Sistema de produção de batata-doce pela Embrapa

Preparo do Solo

É recomendável que, após a escolha do local de plantio, seja realizada uma análise do solo em laboratório especializado, adotando medidas de conservação do solo, relacionadas à declividade do terreno e índice pluviométrico. Em terrenos que necessitem correção, a calagem deve ser realizada cerca de 90 dias antes do plantio, após a lavração e antes da gradagem. A adubação deve ser feita 50-60 dias após a calagem.

Espaçamento e Plantio

Os espaçamentos mais utilizados para produção de raízes são de 0,80 a 1,00 m entre as leiras e 0,25 a 0,50 m entre as plantas. Cultivares que produzam raízes grandes devem ser plantadas com espaçamento menores.

Irrigação

Em épocas secas, as irrigações devem ser feitas duas vezes por semana até os 20 dias e uma vez por semana, dos 20 aos 40 dias. A partir desse período pode ser realizada uma irrigação em intervalos de 15 dias. O excesso de água provoca desenvolvimento da parte aérea e diminuição da produção de batatas.

Como a batata-doce se constitui em uma raiz, não ocorre maturação, o que não resulta em modificações drásticas na parte aérea das plantas. A colheita é realizada quando as raízes estão no tamanho desejado, normalmente entre 110 e 160 dias após o plantio, entre os meses de fevereiro a março, podendo ser mecanizada ou manual. Logo após a colheita, as raízes devem ser selecionadas e classificadas. Chama-se seleção e classificação o ato de separar as raízes segundo a sua forma, aspecto e dimensão. Este processo pode-se iniciar na colheita, quando devem ser separadas ou descartadas as raízes esverdeadas, manchadas, muito pequenas, na chamada colheita seletiva. Entretanto, é no galpão de classificação é que esta operação deve ser realizada.

2.2.2 Batata-doce na alimentação

As raízes tuberosas podem ser utilizadas na alimentação humana na forma *in natura*, cozidas, fritas e assadas, assim como para produção de doces, biscoitos e bolos, podendo ainda ser industrializadas para produção de farinhas, féculas, açúcares e xaropes. As folhas e os pecíolos frescos também são consumidos como qualquer outra hortaliça em saladas ou cozidos, devido ao elevado teor de proteínas (23 a 25% em massa seca) (ISHIDA *et al.*, 2000; TAMIR, 2010).

A ingestão dessa planta é capaz de fornecer grande parte dos nutrientes necessários à alimentação humana, uma vez que suas raízes são consideradas ótima fonte de carboidratos (amido principalmente), com teores de 13,4 a 29,2%, açúcares redutores de 4,8 a 7,8 fornecidos a cada 100 gramas, 110 a 125 calorias. Contém ainda boa quantidade de vitamina A (na forma de β -caroteno), além de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e ácido nicotínico), vitamina C, manganês, fibras alimentares, potássio, ferro e água (59,1 a 77,7%). Apresenta baixos teores de proteínas (2,0 a 2,9%) e de gorduras (0,3 a 0,8%). Enquanto suas

partes aéreas (folhas e caules) são ricas em vitamina B, β -carotenos, ferro, cálcio, zinco e alta porcentagem de proteína bruta e digestibilidade, possuindo componentes nutritivos adicionais em concentrações mais elevadas que muitos outros vegetais comerciais (**Tabela 3**) (DINI *et al.*, 2009; ISLAM, 2006; ANTIA *et al.*, 2006; AHMED, 2006; SOUZA, 2000; RIBEIRO *et al.*, 2009).

Tabela 3: Composição nutricional de 100g de raiz de batata-doce crua (102 kcal)

Componentes	Quantidade
Água	75,8 g
Fibras digeríveis	1,1 g
Potássio	295 mg
Sódio	43 mg
Magnésio	10 mg
Zinco	0,35 mg
Cobre	0,28 mg
Vitamina A – Retinol	0,2 mg
Vitamina B – Tiamina	300 mg
Vitamina B2 – Riboflavina	96 mg
Vitamina C – Ácido ascórbico	55 mg
Vitamina B5 - Niacina	30 mg

Fonte: Luengo *et al.*, 2000.

Esta hortaliça é um importante complemento alimentar para famílias de baixa renda, por apresentar em sua composição suplemento de vitaminas, principalmente as do grupo A e B. Algumas variedades (como a IAPAR 69) são mais ricas em carotenóides, comparando-se às melhores cenouras e são transformadas no organismo humano em vitamina A, que é a vitamina de maior carência no Brasil (IAPAR, 1993; FONSECA *et al.*, 2008).

Devido ao seu alto teor nutritivo de sua composição e potencialidade agrícola, a batata-doce poderia ser utilizada como matéria-prima para diversos produtos alimentícios. No entanto, no Brasil, a cultura da batata-doce é restrita ao consumo direto. O seu produto mais conhecido é o doce em pasta “marrom glacê”, porém sua industrialização é incipiente (FIGUEIRA, 2000).

Ainda de acordo com Silva *et al.*, (2004), a principal utilização da batata-doce é a fabricação de doce em pasta ou cristalizado, na indústria de alimentos. Estes são confeccionados basicamente com polpa de batata-doce, açúcar e geleificante. Entretanto a indústria de doces não é uma grande consumidora da matéria prima, pois com um quilograma de polpa são produzidos dois quilogramas de doce. Desta forma, a produção de um hectare da cultura pode ser transformada em cerca de quarenta toneladas de doce.

A batata-doce constitui um alimento altamente energético, sendo o amido considerado seu principal componente, seguido dos açúcares mais simples, sacarose, glicose, frutose, maltose. O amido é utilizado na indústria de alimentos para melhorar as propriedades funcionais, sendo empregado em sopas, molhos de carne, como formador de gel em balas e pudins, estabilizante em molhos de salada, na elaboração de compostos farmacêuticos, na produção de resinas naturais e na elaboração de materiais termoplásticos biodegradáveis (CEREDA *et al.*, 2001).

Segundo Monteiro *et al.*, (2007) e Ramos (2004), as ramas batata-doce podem ser utilizadas na alimentação animal na forma de forragem verde ou de silagem. As ramas são ricas em proteínas enquanto as raízes tuberosas possuem baixa quantidade, podem-se combinar as duas partes da planta, obtendo uma mistura equilibrada. As raízes apresentam por seu valor nutritivo utilização na ração de bovinos, suínos, aves e outros animais domésticos, cruas, cozidas ou desidratadas na forma de raspa.

Trabalho realizado em Mariana Pimentel – RS, com resíduo de batata-doce descartado ou na forma de aproveitamento total das raízes, apresentou excelente resultado para a composição de rações nutricionalmente adequadas para aves de corte (conhecidas comumente no Brasil como aves coloniais). Estas rações contribuem para um aumento significativo da parcela da agricultura familiar no Brasil (ZABALETA *et al.*, 2009).

2.2.3 Produção de farinha de batata-doce

De acordo com o Sistema Brasileiro de Respostas Técnica – SBRT (2006), a obtenção das farinhas de batata-doce pode ser através de secagem natural ou artificial, através das cultivares existente. Podem ser utilizadas em panificação, produtos dietéticos e alimentos infantis por serem rica fonte de amido e sais minerais. Para a obtenção de um produto de boa qualidade vários fatores são essenciais, tais como: matéria-prima de boa qualidade, controle no método de secagem, técnicas de procedimentos e forma de armazenamento.

A farinha de batata-doce, em base natural, apresenta 3,87% de proteína bruta, 62,90% de amido, 3% de matéria mineral, 3875 kcal/kg de energia bruta, 2706 kcal/kg de energia metabolizável para aves e 8,80 de fibra (ROSTAGNO, 2005).

A Embrapa Hortaliças e Embrapa Agroindústria de Alimentos através de projeto piloto nas escolas utilizam a farinha de batata-doce na produção de bolos, pães e biscoitos como fonte de vitamina A. Apesar da importância socioeconômica e nutricional, a utilização da farinha de batata-doce ainda é de forma diminuta, pouco divulgada e muito pouco conhecida. O produto é destinado às pequenas indústrias artesanais (EMBRAPA, 2007).

2.2.4 Cultura de tecidos em batata-doce

O cultivo de plantas *in vitro* ou cultura de tecidos vegetais diz respeito ao cultivo em um ambiente artificial sob condições assépticas e controladas, de células vegetais isoladas, ou de tecidos ou órgãos que podem dar origem a plantas inteiras, diretamente do explante ou indiretamente através de calos. Esta técnica está baseada no fato de que qualquer célula vegetal contém toda a informação necessária para regenerar uma planta completa através de processos de diferenciação (LAKSHMANAN *et al.*, 2005; TORRES *et al.*, 1998).

O principio da cultura em tecidos se baseia na teoria da totipotência onde os seres vivos têm a capacidade de regenerar organismos inteiros, idênticos à matriz doadora, a partir de células únicas. Esta teoria foi formulada por Schleiden & Schwann, em 1838, e constitui um dos primeiros fundamentos da cultura *in vitro* (ROSA, 2009).

A cultura de tecidos vegetais tem atraído a atenção dos pesquisadores desde o início do século XX. Gottlieb Haberlandt, em 1902, foi o primeiro a cultivar células de tecidos somáticos de várias espécies de plantas em solução nutritiva. Atualmente a biotecnologia, que compreende vários métodos de propagação vegetal em laboratório, vem sendo amplamente utilizada como ferramenta para o estudo do metabolismo, fisiologia, desenvolvimento e reprodução de plantas com propriedades desejáveis, tais como resistência a pragas e acúmulo de substâncias ativas de interesse comercial (ANDRADE, 2002; COSTA, 2006).

Como mencionado anteriormente, a batata-doce é uma hortaliça de fácil cultivo, rústica e pouco exigente. Por esta razão, são raros os investimentos em tecnologia para o seu cultivo. Conseqüentemente, no processo de propagação vegetativa (ramos ou hastes) pode ocorrer o acúmulo de doenças no material de propagação. Esta cultura pode apresentar diversos problemas fitossanitários, podendo destacar os de etiologia viral. Os vírus comumente encontrados na cultura da batata-doce são: SPFMV- (*Sweet potato feathery mottle virus*), mais descrito na literatura em todo o mundo, SPMMV- (*Sweet potato mild mottle virus*), mosqueado leve, SPCFV (*Sweet potato chlorotic fleck virus*), manchas cloróticas e SPLV (*Sweet potato latent virus*), vírus latente. As viroses causam danos significativos na cultura da batata-doce, como redução no rendimento, queda na produção e perda da qualidade do produto (KROTH *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2008; CASSANA, 2007).

Esses danos podem ser contornados utilizando-se, no plantio, material de propagação livre de vírus. Tal conduta resulta em ganhos reais significativos na produção, além da produção de mudas com alta qualidade fitossanitária (MAGALHÃES *et al.*, 2006).

2.2.5 Produção de etanol de batata-doce

Atualmente a sociedade busca alternativas viáveis para a diminuição de impactos ambientais, como a poluição da atmosfera. O etanol é o mais adequado substituto para os combustíveis derivados do petróleo, sendo diversas fontes para sua obtenção. Qualquer matéria prima que possua um alto conteúdo de açúcar, ou de ingredientes que se convertam em açúcares como o amido ou celulose, pode ser utilizada para produção de etanol. Entre as fontes amiláceas destaca-se a batata-doce (*Ipomoea batatas* L.). A Universidade Federal do Tocantins vem realizando diversos trabalhos para a produção de etanol de batata-doce (**Figura 3**), com uma produtividade variando de 120 a 199 litros de etanol por tonelada de raiz (SILVEIRA, 2008 & PAVLAK, 2010).

A batata-doce é atualmente foco das cadeias de agroenergia (produção de álcool combustível), além de ser uma cultura promissora para o abastecimento mundial de distintas formas (Silva, 2010). Além do foco ambiental, o etanol ocasiona impactos econômico-sociais de primeira grandeza, como a melhoria da renda rural; geração de empregos em larga escala; redução de dependência externa de petróleo e melhoria da balança comercial. Esses impactos são causados em países como Brasil, entre outros (NEGRÃO & URBAN, 2005).



Figura 3: Mini usina produtora de etanol, a partir da batata-doce, instalada na Estação Experimental da Universidade Federal do Tocantins - Tocantins, 2007. Fonte: CNI, 2008.

2.2.6 Metabólitos secundários presentes na batata-doce

Recentemente, os estudos fitoquímicos relacionado à batata doce têm se destacado principalmente em três áreas: atividade antioxidante, devido aos conteúdos de β -caroteno, antocianinas e derivados de ácidos cafeoilquínicos; propriedades antidiabéticas, associadas às flavonas e proteínas; e atividade antiviral, devido aos derivados de ácido cafeoilquínicos. Além disso, outros metabólitos secundários também foram identificados, como saponinas e esteróides (DINI *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2007).

A composição química da raiz da batata-doce pode variar de acordo com a cultivar, condições climáticas, época de colheita, tratos culturais, condições e duração de armazenamento. Estudos comprovam que a batata-doce de polpa alaranjada apresenta maior teor de carotenóides totais em relação à de polpa amarela produzidas em Taiwan (LIU *et al.*, 2009).

Os carotenóides são pigmentos que conferem as cores laranja, vermelha e amarela aos vegetais. Nas raízes de batata-doce pode-se destacar o β -caroteno, que é o mais potente precursor de vitamina A. O β -caroteno ao ser ingerido pelo organismo humano se transforma em vitamina A, importante para o desenvolvimento dos órgãos da visão, formação da epiderme e crescimento do corpo (MELO *et al.*, 2010).

A batata-doce de polpa roxa acumula grande quantidade de antocianinas em suas raízes tuberosas (Bridgers *et al.*, 2010). As antocianinas de batata-doce roxa são mais estáveis do que as do morango, repolho roxo dentre outros. Muitas pesquisas relatam que esses flavonóides poderiam seqüestrar radicais livres, atenuar disfunção hepática, aumentar a função de memória, inibir a mutagenicidade, reduzir açúcar no sangue e abaixar a pressão arterial elevada. Com base nestas propriedades, a batata-doce se torna uma alternativa viável como fonte de antioxidante. (SUDA *et al.*, 2002; KANO *et al.*, 2005; SAIGUSA *et al.*, 2005; HAN *et al.*, 2007; CHO *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2008; YOSHIMOTO *et al.*, 1999; MATSUI *et al.*, 2002; MATSUI *et al.*, 2004; RUMBAOA *et al.*, 2009; TRUONG *et al.*, 2010).

Vários trabalhos relatam a presença de substâncias bioativas encontradas nas folhas e raízes de batata-doce, como ácido caféico, ácido 5-cafeoilquínico, ácido clorogênico e outras subclasses de flavonoides. (ISLAM *et al.*, 2002; KONCZAK *et al.*, 2004; TAMAKI *et al.*, 2007; TEOW *et al.*, 2007; ZHENG & CLIFFORD, 2008; XU *et al.*, 2010).

Silva (2009), realizou um estudo sobre a composição química das folhas de *Ipomoea batatas* na busca de seus metabólitos secundários responsáveis pela atividade nociva comprovada em formigas cortadeiras. Este estudo químico levou, até o momento, ao

isolamento e identificação estrutural de um flavonoide (I), uma flavanona (II), do esteróide sitosterol (III) e do triterpeno lupeol (IV), (Figura 4).

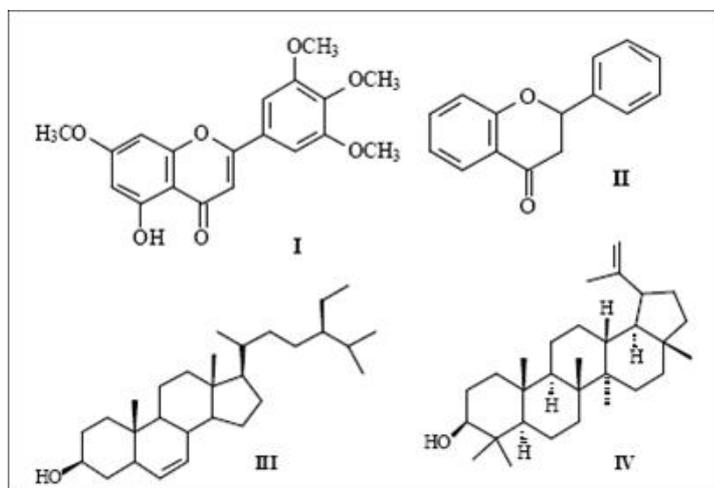


Figura 4: Compostos químicos das folhas de *Ipomoea batatas* Fonte: SILVA, 2009

Segundo Wang *et al.*, (2010), foram identificados 34 óleos essenciais nas folhas de batata-doce de duas cultivares produzidas na China (Shuiguo e Xiangshu-17). Os constituintes principais da Shuiguo foram o germacreno D (21,83%), germacreno B (15,17%), cariofileno (12,44%) e ácido N-hexadecanóico (11,24%). Cariofileno (28,73%), c muurolene (13,07%) e β -cariofileno epóxido (9,04%) foram os principais componentes de Xiangshu-17.

2.3 Compostos Fenólicos

São compostos que apresentam uma grande diversidade de estruturas, contando com pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Sua estrutura química pode ter forma simples ou de polímeros. Em alimentos de origem vegetal podem apresentar-se na forma livre ou conjugados a açúcares e proteínas e são um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina (CARVALHO *et al.*, 2007).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos é devido à grande variedade de combinações que ocorre na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. Os polifenóis são divididos em várias classes (Figura 5), ou seja, ácidos fenólicos (ácido hidroxibenzóico e ácidos hidroxicinâmicos), flavonoides (flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas, proantocianidinas), estilbenos, lignanas entre outros, que são distribuídos em plantas e alimentos de origem vegetal (GHARRAS, 2009; MUDNIC *et al.*, 2010).

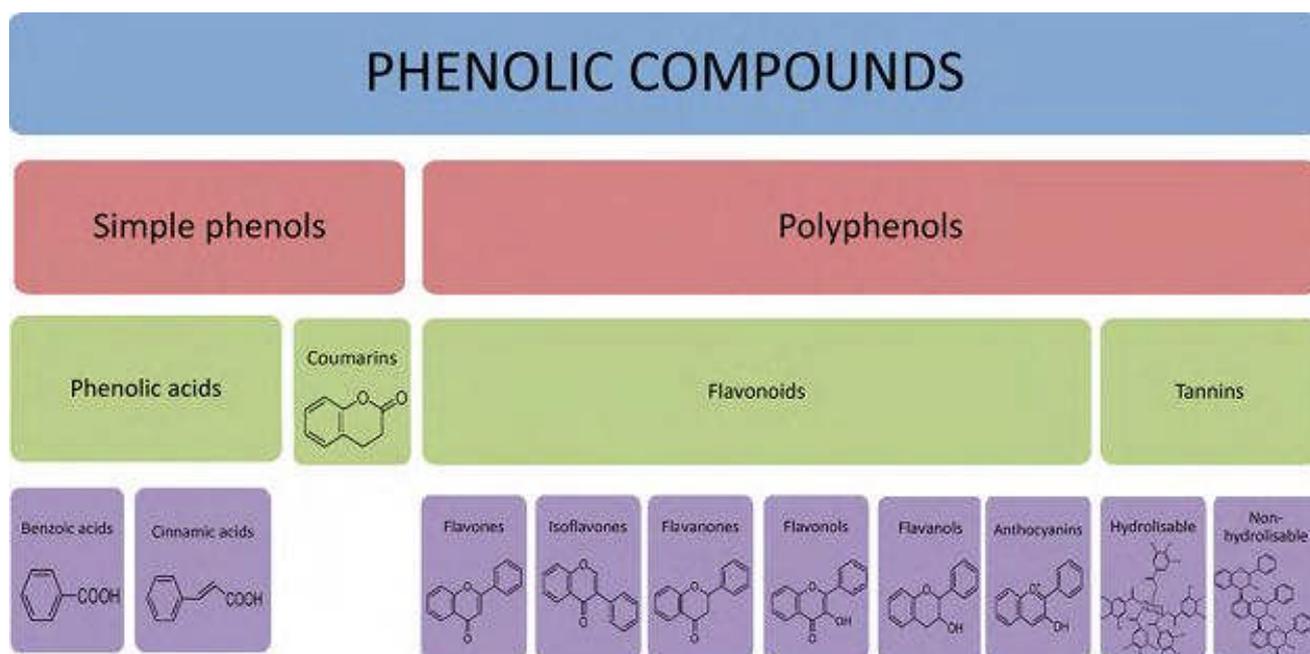


Figura 5: Compostos fenólicos e estruturas representativas pertencentes aos ácidos benzóico, ácido hidroxicinâmicos, flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonoides, flavonóis, antocianinas e taninos. Somente os esqueletos de base, dos quais derivam os compostos fenólicos de origem vegetal. Fonte: Hurtado-Fernández *et al.*, 2010.

Os compostos fenólicos de origem vegetal são provenientes do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para seu crescimento e reprodução, além de exercerem variadas funções como proteção contra agentes patogênicos, radicais livres, raios UV, atração para agentes polinizadores, pigmentação dentre outras. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK & SHAHIDI, 2004).

O interesse por esses compostos naturais vem aumentando principalmente nas últimas décadas, devido a vários estudos associarem compostos fenólicos com ações benéficas à saúde humana. Substâncias fenólicas presentes nos alimentos agem no balanceamento do estresse oxidativo, portanto, possuem propriedades antimutagênicas e antibacterianas. Agem favoravelmente em patologias como diabetes e as doenças cardiovasculares (KAUR & KAPOOR, 2001; WEN *et al.*, 2005; MAZZA *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2010).

Compostos fenólicos tais como resveratrol, quercetina, ácido caféico e flavonóis, podem inibir cânceres de cólon, esôfago, pulmão, fígado, mama e pele (ANGELO & JORGE, 2007).

Os ácidos fenólicos são metabólitos aromáticos secundários de plantas. Referem-se a um grupo distinto de ácidos orgânicos, que se caracterizam pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, que conferem propriedades antioxidantes. São divididos em três grupos: o primeiro é composto pelos ácidos benzóicos (**Figura 6**), que possuem sete átomos de carbono (C₆ - C₁), embora o esqueleto básico seja o mesmo, os números e posições das hidroxilas no anel aromático favorecem a variedade desses compostos de acordo com a **Tabela 4 (Figura 7)** (SOARES, 2002; LIANDA, 2009).

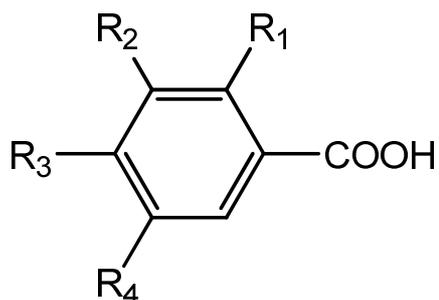


Figura 6: Estrutura química do ácido benzóico Fonte: SOARES, 2002; LIANDA, 2009

Tabela 4: Estrutura dos principais ácidos hidroxibenzoicos

NOME	R1	R2	R3	R4
Ácido salicílico	OH	H	H	H
Ácido gentísico	OH	H	H	OH
Ácido p-hidroxibenzoico	H	H	OH	H
Ácido protocatequínico	H	OH	OH	H
Ácido vanílico	H	OCH ₃	OH	H
Ácido gálico	H	OH	OH	OH
Ácido sirínico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Fonte: SOARES, 2002; LIANDA, 2009

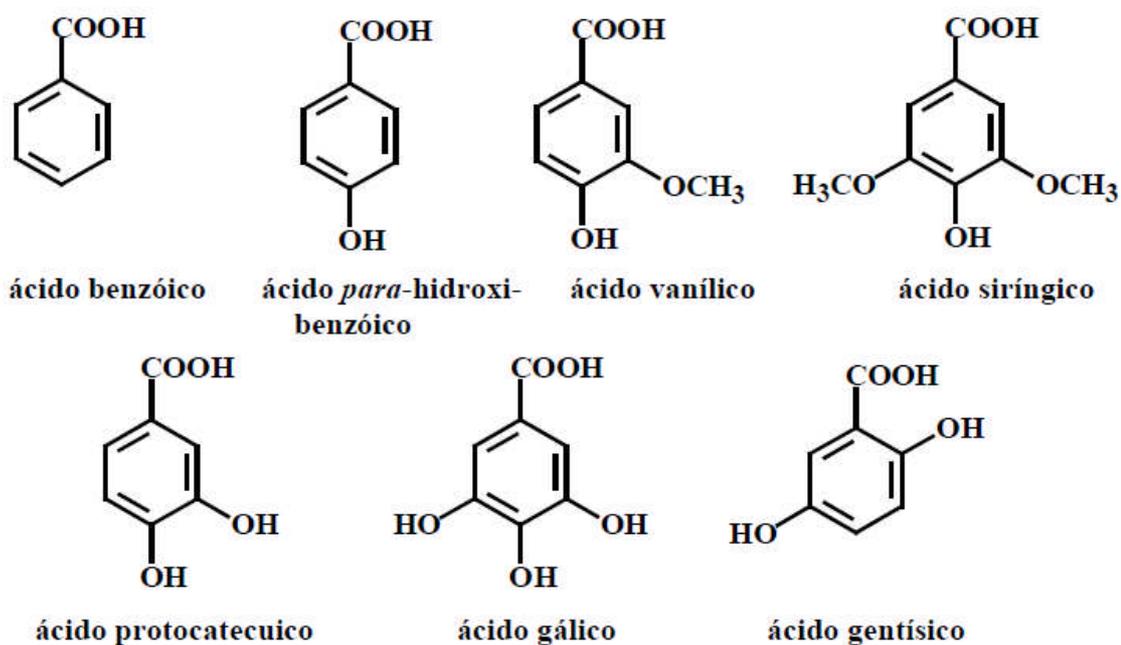


Figura 7: Derivados de ácido benzóico de ocorrência natural
 Fonte: SOARES, 2002; LIANDA, 2009

O segundo grupo é formado pelos ácidos cinâmicos (**Figura 8**), que possuem nove átomos de carbono ($C_6 - C_3$), sendo sete os mais comumente encontrados no reino vegetal (**Tabela 5**). As cumarinas são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico (**Figura 9**).

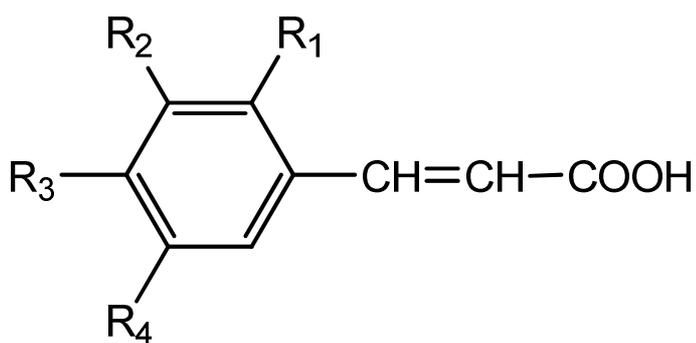


Figura 8: Estrutura química do ácido cinâmico
 Fonte: SOARES, 2002; LIANDA, 2009

Tabela 5: Estrutura dos principais hidroxicinâmicos

NOME	R1	R2	R3	R4
Ácido cinâmico	H	H	H	H
Ácido o-cumárico	OH	H	H	H
Ácido m-cumárico	H	OH	H	H
Ácido p-cumárico	H	H	OH	H
Ácido caféico	H	OH	OH	H
Ácido ferúlico	H	OCH ₃	OH	H
Ácido sinápico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Fonte: SOARES, 2002; LIANDA, 2009

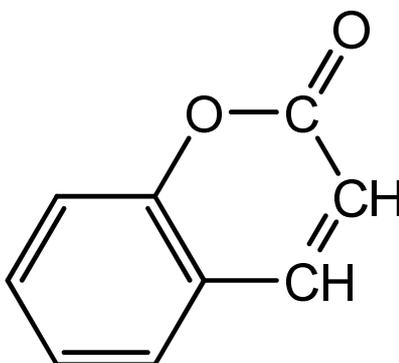


Figura 9: Estrutura química da cumarina

Fonte: SOARES, 2002; LIANDA, 2009

O ácido cafeico é largamente distribuído nas plantas superiores na forma de seu éster com o ácido quínico. Este éster é conhecido como ácido clorogênico (ácido 3-o-cafeoilquínico, atualmente conhecido como ácido 5-cafeoilquínico). Tanto o ácido caféico como o ácido clorogênico já foram descritos em folhas de batata-doce (DE MARIA & MOREIRA, 2004; CARVALHO *et al.*, 2010).

As variações nos teores de compostos fenólicos presentes em clones de batata-doce podem estar relacionadas a diversos fatores, principalmente, devido os clones possuírem polpas de coloração diferentes (VIANA, 2009).

2.3.1 Flavonoides

Os flavonoides são compostos fenólicos largamente distribuídos no reino vegetal, comumente encontrados em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas. Estes compostos possuem 15 átomos de carbono representados por uma estrutura fenilbenzopirona (C₆C₃C₆), composta por dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um anel heterocíclico oxigenado (γ pirano), denominado anel C (**Figura 10**). O grau de oxidação e o padrão de substituição nos anéis A e B definem especificamente cada composto. Estas substituições

podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfatação (BALASUNDRAM, SUNDRAM, SAMMAN, 2006).

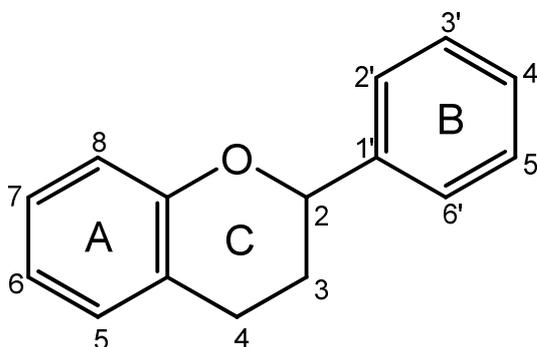


Figura 10: Estrutura geral de um flavonoide com os anéis A, B e C e sistema de numeração para diferenciação das posições dos carbonos Fonte: BALASUNDRAM, SUNDRAM, SAMMAN, 2006

De acordo com suas características químicas e biossintéticas, e em função das substituições que ocorrem no anel C, os flavonóides são separados em diversas classes: Flavanóis, Flavonóis, Flavonas, Antocianidinas, Isoflavonoides, Flavanonas, Auronas, Catequinas (MARTÍNEZ *et al.*, 2002; YILMAZ & STALIKAS, 2007).

Os flavonoides destacam-se por apresentarem vários efeitos biológicos contra várias doenças incluindo antibacteriano, antiinflamatório, antialérgico, hepatoprotetor, antitrombótico, antiviral, anticarcinogênico e vasodilatador. Muitas destas atividades podem estar associadas à sua atividade antioxidante (WILLIAMS, SPENCER, RICE-EVANS, 2004; SOOBRAATTEE *et al.*, 2005).

A atividade antioxidante dos flavonóides é devida sua habilidade de seqüestrar radicais livres, atuando como doadores de hidrogênio, e quelar metais, reduzindo o potencial de doenças crônico-degenerativas (GONZALO & ALONSO, 2002).

Segundo Ratty (1998), a quercetina (**Figura 11**) é um flavonol que combina todas essas características, é um dos mais potentes antioxidantes naturais. As folhas de batata-doce possuem grande capacidade antioxidante e são ricas em polifenóis (260 mg/100 g), quercetina (90 mg/100 g) e β -caroteno (13 mg/100 g) comprovando sua atividade antioxidante nos alimentos (LAKO *et al.*, 2007).

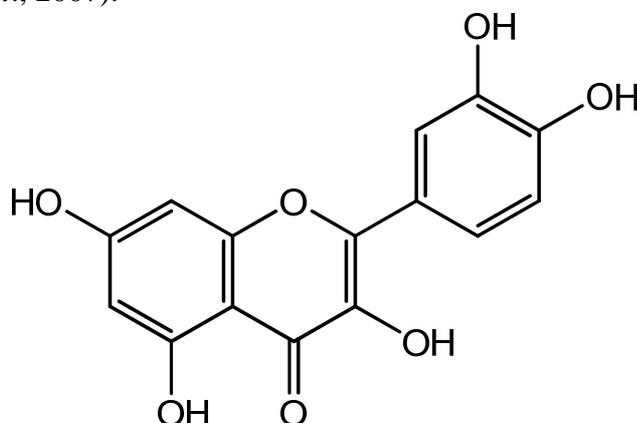


Figura 11: Estrutura da quercetina, e suas características estruturais relacionadas à capacidade antioxidante Fonte: RATTY, 1998

2.3.2 Antocianinas

Pigmentos da classe dos flavonoides, responsáveis pelas cores: laranja, rosa, violeta, vermelho e cores azul de flores e frutas. O termo antocianina derivado do grego *anthos* (= flor) e *kianos* (= azul), foi criado em 1853 por Marquat para se referir aos pigmentos azuis encontrados em flores. Esses pigmentos são os mais importantes das plantas vasculares e, se encontram dispersos nos vacúolos celulares. São de fácil incorporação em meio aquoso, atraindo grande interesse das indústrias de alimento na utilização de corantes naturais solúveis em água (PAZMIÑO-DURÁN *et al.*, 2001; MARTÍNEZ *et al.*, 2002; KUSKOSKI *et al.*, 2004).

Antocianinas são compostos derivados das antocianidinas. As antocianidinas não possuem unidades de carboidrato na estrutura (agliconas) e a maioria possui hidroxilas nas posições 3, 5 e 7, são polihidroxi e/ou polimetoxi derivados do 2-fenilbenzopirilium ou, cátion flavilium (**Figura 12**). Já nas antocianinas, uma ou mais destas hidroxilas estão ligadas a açúcares, sendo os mais comuns glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, aos quais podem estar ligados a ácidos fenólicos (MALACRIDA & MOTTA, 2006; TERCI & ROSSI, 2002).

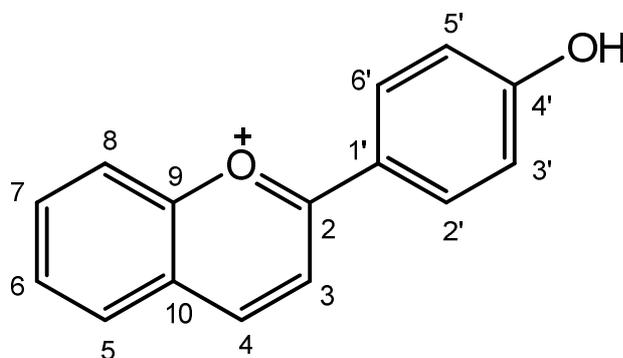


Figura 12: Estrutura do cátion flavílico

Fonte: MALACRIDA & MOTTA, 2006

Nos alimentos as antocianinas são derivadas das agliconas pertencentes aos seguintes pigmentos básicos: malvidina, delphinidina, petunidina, peonidina, cianidina e pelargonidina, as quais diferem entre si quanto ao número de hidroxilas e metoxilas presentes no anel B (Lima *et al.*, 2006). A presença de grupos metoxilas e a formação de glicosídeos conferem, em geral, cor mais avermelhada e maior estabilidade à oxidação e ao calor do que o aumento das hidroxilações que, por sua vez, proporcionam predomínio das cores rosa e azul (BELITZ, GROSCH, SCHIEBERLE, 2004).

A forma livre, aglicona, é rara no reino vegetal. A glicosilação pode ocorrer em várias posições, mas com maior frequência na posição 3 do esqueleto. O segundo açúcar, quando presente na molécula, encontra-se na posição 5, também podendo ocorrer glicosilações nas posições 7, 3', 4' e 5' (BROUILLARD, 1982).

Outra propriedade importante das antocianinas é suas propriedades antioxidantes atividade, que desempenha um papel vital na prevenção de neuronal e as doenças cardiovasculares, câncer e diabetes, entre outras (KONCZAK & ZHANG, 2004). A **Figura 13** é um exemplo de estrutura de antocianina presente na maioria dos vegetais, a cianidina 3-glicosídeo.

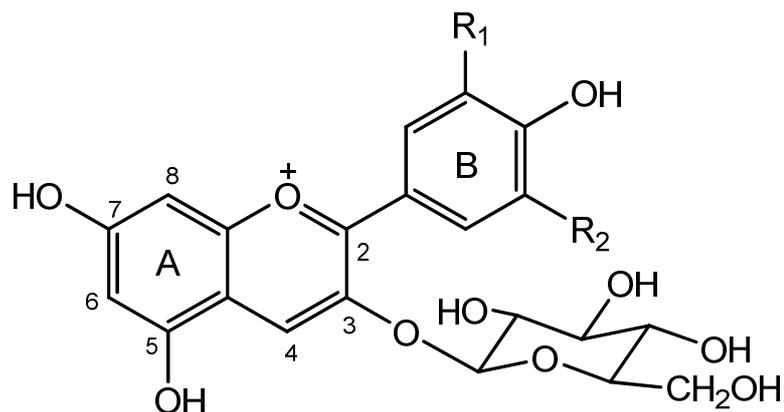


Figura 13: Estrutura da cianidina 3-glicosídeo ($R_1=OH$, $R_2=H$).
 Fonte: MALACRIDA & MOTTA, 2006.

Diversos trabalhos comprovam a presença de antocianinas em cultura de batata-doce tanto no tubérculo quanto nas folhas. Essa classe de metabólitos secundários tem comprovadas atividades mutagênicas e antioxidantes, assim como uso de corante em alimentos (CHOI *et al.*, 2011; TAKAHATA *et al.*, 2011; ISLAM *et al.*, 2002).

2.4 Formação dos radicais livres (RL) X Antioxidantes

Os radicais livres (RL) são moléculas orgânicas e inorgânicas, que possuem átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente (Schneider & Oliveira, 2004). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas.

Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com várias doenças, incluindo doenças degenerativas, tais como as cardiopatias, aterosclerose e envelhecimento precoce. Os danos no DNA também desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (ALVES *et al.*, 2010).

A oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à ação dos radicais livres no organismo. Elas podem ser geradas por fontes endógenas, que se originam de processos biológicos que ocorrem no organismo como: redução de flavinas e tióis; resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases ou fontes exógenas como tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações (FERNANDEZ-PANCHOL *et al.*, 2008).

Espécies reativas de oxigênio (ROS) formadas *in vivo* tais, como ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio, são altamente reativas e potencialmente prejudiciais. Estes radicais são continuamente produzidos no corpo humano, pois são essenciais para o custo energético, desintoxicação, sinalização química, e função imunológica (Ali *et al.*, 2007; Schneider & Oliveira, 2004). Devido ao excesso de produção de espécies reativas, induzida pela exposição a substâncias oxidantes externas ou uma falha nos mecanismos de defesa, o dano para as estruturas de células, DNA, lipídios e proteínas pode aumentar o risco de doenças (Ali *et al.*, 2007). Nos processos biológicos há formação de uma variedade de radicais livres, destacando os radicais do oxigênio como o íon superóxido (O_2^-) e do nitrogênio como o óxido nítrico (NO) (VICENTINO & MENEZES, 2007).

Radicais livres como OH^\cdot causam quebra e modificações nas bases de DNA levando a alterações na expressão genética, mutação e apoptose celular, alterações de cadeias protéicas e peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica produzida nas paredes do endotélio vascular contribui para a aterosclerose, risco de acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio (HALLIWELL, 2009; DEGÁSPARI, 2004; SCHENEIDER & OLIVEIRA, 2004).

O uso de substâncias antioxidantes em concentrações ideais com relação aos substratos oxidáveis inibe, ou retarda os processos oxidativos (ALI *et al.*, 2009; VICENTINO & MENEZES, 2007).

Estas podem ser naturais ou artificiais, o primeiro grupo encontra-se principalmente em plantas e pertencem a diferentes classes químicas tais como flavonoides, ácidos fenólicos, alcoóis fenólicos, estilbenos, tocoferóis, tocotrienóis, ácido ascórbico e carotenóides. Para o grupo dos antioxidantes artificiais podem ser citados butil-hidroxi-tolueno (BHT) e butil-hidroxi-anisol (BHA) (ALI *et al.*, 2009; MARIOD *et al.*, 2009, FANG & LIU, 2002).

Os flavonoides apresentam efeito protetor nos sistemas biológicos, qual é atribuído à sua capacidade de transferência de elétrons dos radicais livres. Também ativam as enzimas antioxidantes e inibem as oxidases (Heim, 2002). De acordo com Ross & Kasum (2002), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é determinada pela sua estrutura, em especial com a facilidade com que um átomo de hidrogênio a partir de uma hidroxila do anel aromático pode ser doado para um radical livre. E a capacidade de um composto aromático em estabilizar um elétron não emparelhado (**Figura 14**).

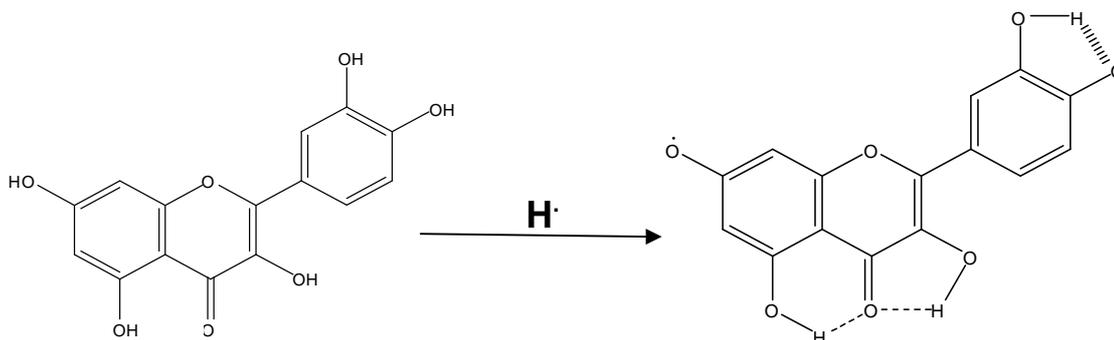


Figura 14: Transferência de um elétron não emparelhado para um composto aromático

2.5 Fitocosmética Capilar

A fitocosmética pode ser definida como o segmento da ciência cosmetológica que se dedica ao estudo e à aplicação de substâncias bioativas extraídas de vegetais, seja um extrato, óleo ou óleo essencial, cuja ação define a atividade do produto em proveito da higiene, da estética, da correção e da manutenção do estado sadio da pele (ARAÚJO *et al.*, 2010).

Um produto fitocosmético deve passar por todas as etapas de pesquisa antes de sua comercialização. Estas etapas incluem a proposição, criação e desenvolvimento, assim como os testes de estabilidade, para assegurar a atividade durante toda a vida útil (VILEGAS & CARDOSO, 2007).

Em diversas preparações cosméticas podem ser incorporados os extratos vegetais e os seus componentes ativos podem pertencer a diferentes classes químicas. Os extratos vegetais são preparações concentradas, de consistência líquida, sólida ou intermediária, obtidos a partir de material vegetal (Archondo, 2003; Farmacopéia Brasileira, 2001), usando como solvente etanol, água ou mistura entre eles ou, ainda outro líquido extrator que seja apropriado ao uso (SCHULZ *et al.*, 2002).

Segundo Isaac *et al.*, (2008), padronização de um extrato é um fator de grande importância no desenvolvimento de um produto fitocosmético. Padronizar significa estabelecer a relação ideal entre droga vegetal x extrato e a relação extrato x marcador. Diversos extratos são comercializados com objetivo de preparar formulações fitocosméticas sem ao menos apresentar a concentração das substâncias bioativas. A utilização de extratos padronizados pode assegurar a eficácia de um fitocosmético, garantindo segurança e qualidade.

Diversas afecções capilares são tratadas com medicações de uso tópico na forma de shampoo, loções capilares ou cremes (Formariz *et al.*, 2005). Ao se desenvolver um shampoo para tratamento capilar, deve-se atentar para diversos fatores, dentre eles a segurança dermatológica. O produto não deve irritar a pele e os olhos. Dessa forma, as formulações devem apresentar baixa irritabilidade, favorecendo o uso diário ou garantindo segurança aos indivíduos com sensibilidade dérmica e ocular (WILKINSON *et al.*, 1982; LEONARDI, 2004; FERREIRA, 2008).

Com o crescimento da população pela procura de produtos naturais, existe uma tendência mundial de incorporação, em shampoo e demais formulações cosméticas, de extratos vegetais, que devem ser padronizados, exigindo rigoroso estudo da composição da planta ou das plantas que o compõem originando assim os fitocosméticos (FENNER *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, tem se evidenciado o aumento no estudo de plantas preconizadas pela medicina popular. Tal fato ocasionou um crescimento na procura de informações comprovadas cientificamente sobre a sua segurança e eficácia terapêutica. As formulações de shampoo estão cada vez mais sendo utilizadas em combinações com extratos vegetais com a finalidade de se obter fórmulas que possam atender as necessidades de pessoas que procuram, na natureza, uma alternativa menos agressiva e mais efetiva. Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal no trato da queda de cabelo, caspa, seborréia encontram-se o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lamarck), jaborandi (*Pilocarpus jaborandi* Holmes), babosa (*Aloe vera* L.), vetiver (*Vetiveria zizanioides* L. Nash), capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), guaxuma (*Sida rhombifolia* L.), entre outras espécies utilizadas para o trato de diversas afecções capilar (FENNER *et al.*, 2006; RITTER *et al.*, 2002; ALENCAR *et al.*, 2005; EMBRAPA, 2007).

2.5.1 Alopecia

A alopecia, conhecida popularmente por calvície, pode ser entendida como um conjunto de desordens que gera falta de cabelos ou pêlos em locais próprios do corpo humanos. São inúmeros fatores desencadeantes da alopecia desde distúrbios hormonais, nutricionais, estresse emocionais, drogas quimioterápicas, fatores genéticos, contaminação microbiana capilar ou mesmo pelo uso excessivo de produtos químicos (YAZIGI *et al.*, 2009; SILVESTRE *et al.*, 2009; SILVA & MULLER, 2007).

Existem diversos tipos de alopecia, cada qual com seu tratamento específico, mediante a causa que a motivou (por ex.: androgênica, traumática, por ação de produtos químicos) (SOUZA, 2004; RIVITTI, 2005).

A queda normal de cabelos é diretamente proporcional ao número de fios, pode variar de pessoa para pessoa. A perda diária, superior a 100 fios, com queda generalizada e constante, durante a lavagem ou escovação é um indício importante de alopecia. Se a queda não se repetir freqüentemente, haverá um crescimento espontâneo em poucos meses (KEDE & SABATOVICH, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Material Vegetal

O material vegetal empregado como fonte de explantes foi obtido de espécimes de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lamark.), cedidas pelo Sistema Integrado de Pesquisa em Produção Agroecológica (SIPA), conhecido como Fazendinha Agroecológica Km 47 Seropédica-Rj. O SIPA foi implantado em 1993, através de parceria entre a Embrapa (Embrapa Agrobiologia/Solos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e Pesagro Rio (Estação Experimental de Seropédica) (**Figura 15**).



Figura 15: Vista aérea da Fazendinha Agrobiológica Km 47 – Seropédica – RJ

Fonte: www.google.images.com.br

Para a realização deste estudo foram coletadas em janeiro de 2009 as cultivares CAPIVARA, ROSINHA DE VERDAN E CENOURA (IAPAR 69), cultivar cedida pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) para Fazendinha Agroecológica (**Figura 16**), cujas exsiccatas foram depositadas no Herbário do Departamento de Botânica, no Instituto de Biologia (RFA), na UFRJ, sob os registros Capivara (nº36555), Rosinha de Verdán (nº36554) e Cenoura (nº36553).

CENOURA



ROSINHA DE VERDAN



CAPIVARA



Figura 16: Variedades de *Ipomoea batatas* L. (Lam.) coletadas na Fazendinha Agrobiológica - Seropédica
- Seropédica Fonte: Luciana Oliveira, 2009

3.1.2 Preparo dos Extratos por Maceração

3.1.3 Folhas Frescas – Matrizes

Para cada cultivar foram preparados 4 extratos, extrato alcoólico folhas frescas e secas e extrato hidroalcoólico (70% etanol v/v) folhas frescas e secas, totalizando 12 extratos. As folhas frescas das cultivares foram fragmentadas manualmente (**Figura 17 A**) e pesados 50 g de cada cultivar. Os extratos foram preparados em uma concentração de 20 % p/v (20 g de folhas para 100 ml de etanol/etanol e água), obtendo um volume total para cada extrato de 250 ml. Os extratos ficaram em maceração por 20 dias sem incidência de luz. Optou-se por realizar extratos macerados alcoólicos e hidroalcoólicos de forma a mimetizar o uso popular (EMBRAPA, 2007; RIGOTTI, 2010; MATOS, 2002).

Os extratos foram filtrados em papel de filtro qualitativo (Qualy - 14 µm), obtendo-se um líquido verde escuro (**Figura 17 B e C**). Os extratos foram denominados IB Rosinha FF ALC (IB Rosinha Folha Fresca Alcoólico), IB Rosinha FF HID (IB Rosinha Folha Fresca Hidroalcoólico), IB Rosinha FS ALC (IB Rosinha Folha Seca Alcoólico), IB Rosinha FS HID (IB Rosinha Folha Seca Alcoólico), IB Cenoura FF ALC (IB Cenoura Folha Fresca Alcoólico), IB Cenoura FF HID (IB Cenoura Folha Fresca Hidroalcoólico), IB Cenoura FS

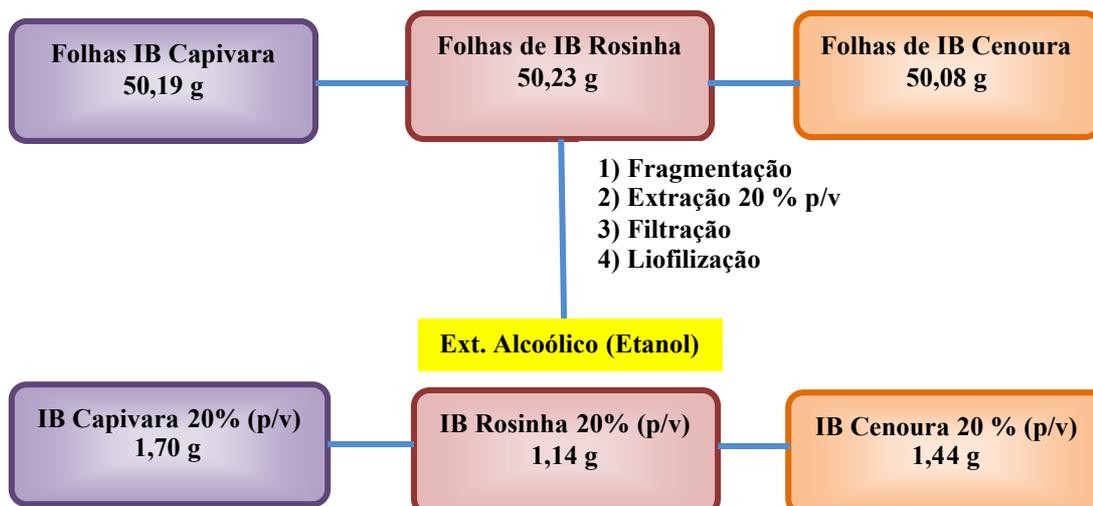
ALC (IB Cenoura Folha Seca Alcoólico), IB Cenoura FS HIDRO (IB Cenoura Folha Seca Hidroalcoólico), IB Capivara FF ALC (IB Capivara Folha Fresca Alcoólico), IB Capivara FF HID (IB Capivara Folha Fresca Hidroalcoólico), IB Capivara FS ALC (IB Capivara Folha Seca Alcoólico) e IB Capivara FS HID (IB Capivara Folha Seca Hidroalcoólico). Uma vez filtrados, foram reduzidos à secura total por evaporação em banho-maria, e retirada de cada extrato uma alíquota de 10% do volume total para posterior liofilização (**Figura 17 D**).



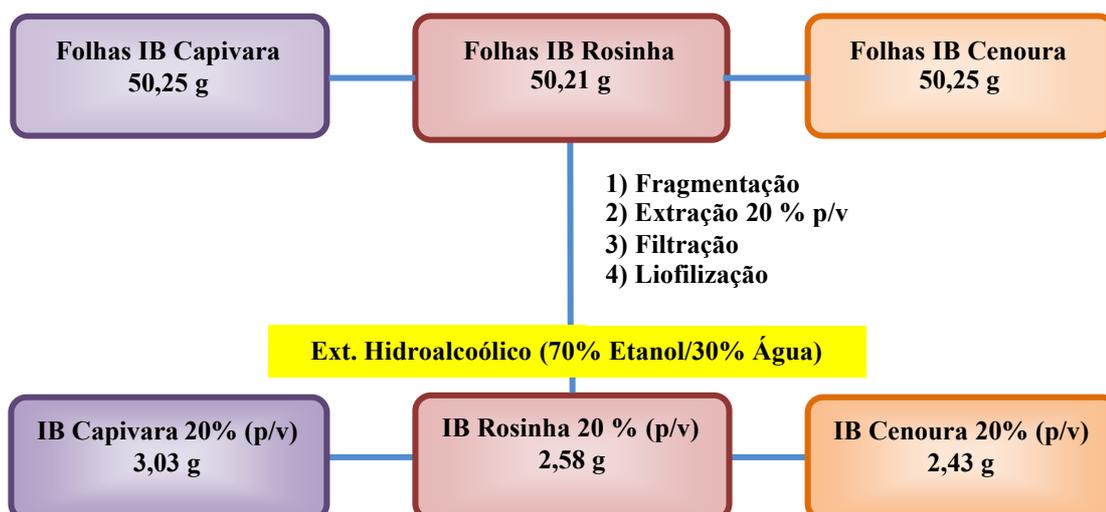
Figura 17: A. Fragmentação manual das folhas. B. Filtragem dos extratos. C. Extratos obtidos de cor verde escuro. D. Extratos em evaporação em banho-maria para redução de volume.

Fonte: Luciana Oliveira, 2009

Após liofilização, foi retirada uma pequena alíquota de cada material para a realização das análises da capacidade antioxidante, da toxicidade e do perfil fenólico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os **Esquemas 1 e 2** mostram o processo de maceração realizado desde o material vegetal fresco até as respectivas massas obtidas dos extratos brutos alcoólicos e hidroalcoólicos.



Esquema 1: Preparo dos extratos alcoólicos das folhas frescas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas.



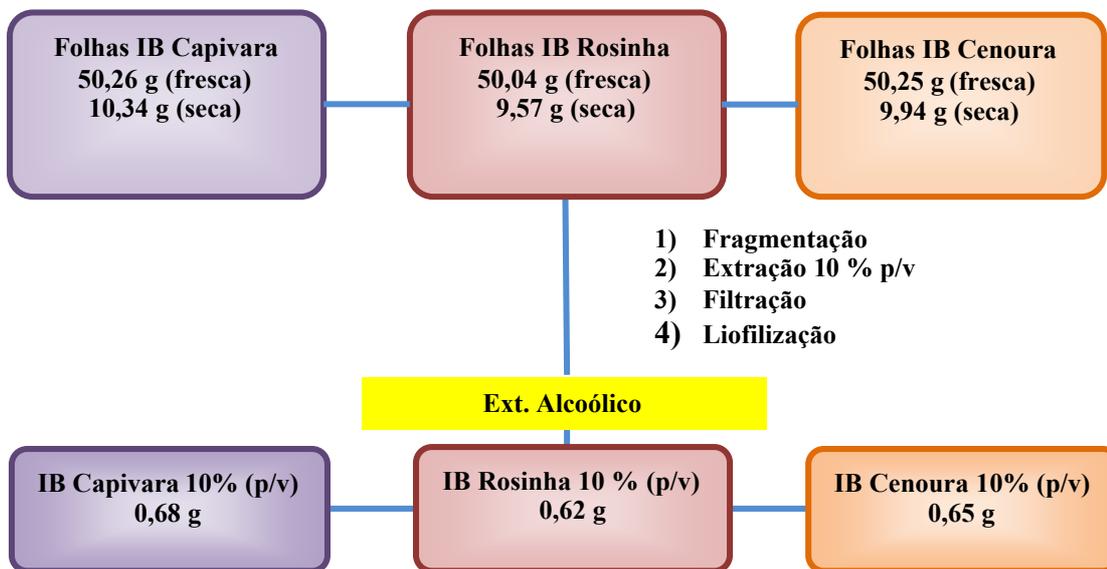
Esquema 2: Preparo e maceração dos extratos hidroalcoólicos das folhas frescas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas.

3.1.4 Folhas Secas – Matrizes

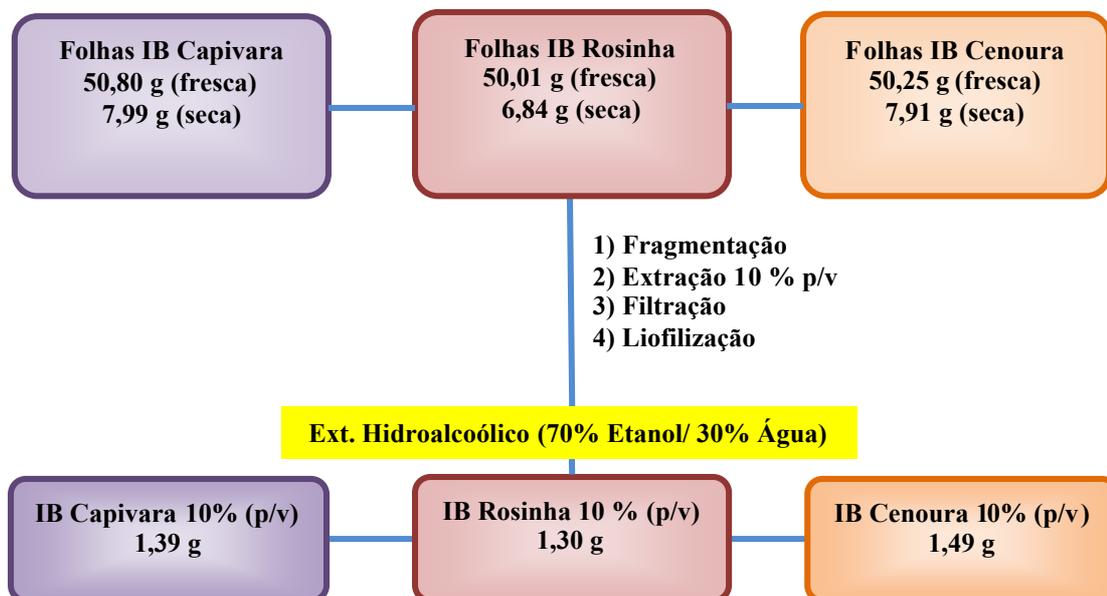
Os extratos de folhas secas foram preparados com o material vegetal correspondente a, 50 g de folhas frescas, conforme o procedimento descrito anteriormente. Sendo assim, amostras de folhas frescas foram secas no laboratório em temperatura ambiente de $\pm 23^{\circ}\text{C}$, mantida com o uso de ar condicionado e sem ventilação. O peso seco foi aferido para verificação do rendimento da extração.

As folhas secas foram fragmentadas manualmente e submetidas à extração alcoólica e hidroalcoólica (70 % etanol/ 30% água) utilizando como solvente o álcool etílico PA, em uma concentração de 10 % p/v (10 g de folhas para 100 ml de etanol/etanol e água). Os extratos ficaram em maceração por 20 dias sem incidência de luz. O volume total dos extratos foi calculado de acordo com o peso obtido de cada matéria seca. As etapas seguintes seguem a mesma metodologia do item anterior 3.1.3. Os **Esquemas 3** e **4** mostram o processo de

maceração realizado desde o material vegetal seco até as respectivas massas obtidas dos extratos brutos alcoólicos e hidroalcoólicos.



Esquema 3: Preparo dos extratos alcoólicos das folhas secas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas.



Esquema 4: Preparo dos extratos hidroalcoólicos das folhas secas de IB Capivara, IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas.

3.2 Brotações das Raízes Tuberosas de *Ipomoea batatas* L. (Lam.)

As raízes tuberosas das cultivares em estudo foram coletadas na Fazendinha em janeiro de 2009, junto com as ramas doadoras de explantes. As ramas foram transportadas para o laboratório de Produtos Naturais no NPPN – UFRJ, sob a orientação da Prof^a Sônia Soares Costa, para serem preparadas para o processo de brotação.

Os tubérculos ao chegarem ao laboratório foram lavados em água corrente para retirada de sujidades, sendo em seguida rinçadas com água destilada. As raízes tuberosas pesavam entre 50 a 200g e mediam entre 10 a 15 cm. Os tubérculos foram colocados em potes de plásticos imersos em água (**Figura 18 A, B e C**) e a cada 24 horas eram trocadas as águas de imersão. Os tubérculos permaneceram neste processo em torno de 30 dias e após o período de brotação (ramas medindo cerca de 30 cm) foram transportadas para casa de vegetação do Departamento de Entomologia e Fitopatologia da UFRRJ (**Figura 18 D**), ali permanecendo por todo o período do desenvolvimento deste trabalho. Este processo foi realizado para manter as plantas doadoras de explante em caso de qualquer necessidade durante a realização das análises.

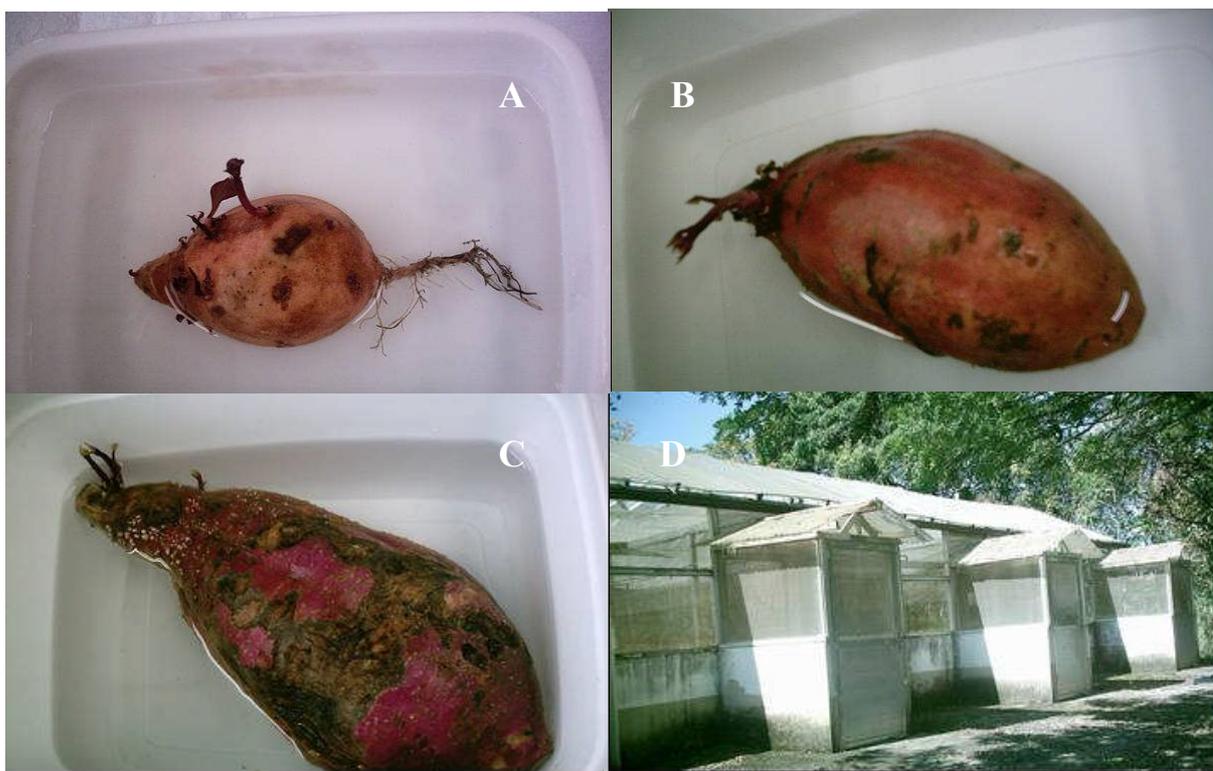


Figura 18: A. Brotação da IB Cenoura. B. Brotação da IB Rosinha. C. Brotação da IB Capivara. D. Casa de vegetação do departamento de entomologia e fitopatologia da UFRRJ.
Fonte: Luciana Oliveira, 2009.

3.3 Propagação Vegetativa *in vitro*

As ramas de 30 a 50 cm de comprimento de plantas de campo e raízes tuberosas, de espécimes da Fazendinha, em ativo crescimento vegetativo, foram coletadas em maio de 2009 e transportadas para o laboratório de Fisiologia Vegetal, na UFRJ (**Figura 19 A**). No laboratório, as ramas (caule) fonte dos explantes, foram desfolhadas e seccionadas em segmentos de caule de cerca de 1 cm, com um a dois nós, com o auxílio de um bisturi e lavadas em água corrente, com detergente comercial neutro. Os segmentos nodais foram submetidos à imersão em água destilada com gotas de detergente comercial, sob agitação durante 20 minutos e, em seguida, lavados 3 vezes com água destilada. Dentro da câmara de fluxo laminar, os segmentos nodais foram desinfestados em álcool 70% por 5 minutos em uma única vez e posteriormente em hipoclorito de sódio (água sanitária comercial) a 20% por 10 minutos em uma única vez (**Figura 19 B**). Cada um destes tratamentos foi intercalado com 2 lavagens em água destilada estéril. Foram utilizados becker, pinça, placa de petri, lamparina, tubo de ensaio com álcool a 70% para flambar a pinça, tesoura pequena e filme sob, fluxo laminar para desinfestação de cada variedade. Os segmentos nodais foram transferidos para meio salino básico de Murashige & Skoog (1962), acrescido de 30g/L de sacarose, e vitaminas (1 ml/L tiamina; 1 ml/L piridoxina; 1 ml/L mio-inositol e 1 ml/L de ácido nicotínico), sem a adição de reguladores de crescimento, sendo assim chamado o meio de MSØ (M= MURASHIGE e S= SKOOG) . O pH do meio foi ajustado em 5,8 (NaOH) e o meio foi solidificado com 7,5 g/L de agar. Foram utilizados tubos de ensaio de 150 x 12,5mm, contendo $\pm 2,5$ mL de MSØ. A esterilização dos meios em autoclave realizou-se a 121°C durante 15 minutos, com 110 libras de pressão. Foi introduzido para cada tubo de ensaio 1 explante, no máximo 20 explantes por tratamento para cada variedade em estudo (**Figura 19 C**). Após introdução *in vitro*, as culturas foram mantidas em sala de crescimento (**Figura 19 D**) a $25\pm 2^\circ\text{C}$, sob intensidade luminosa de $23 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fornecidas por lâmpadas fluorescentes tubulares, subcategoria Duramax Universal (General Electric[®]) e fotoperíodo de 16/8h (dia/noite). A distância entre as prateleiras e as lâmpadas foi de 30 cm.

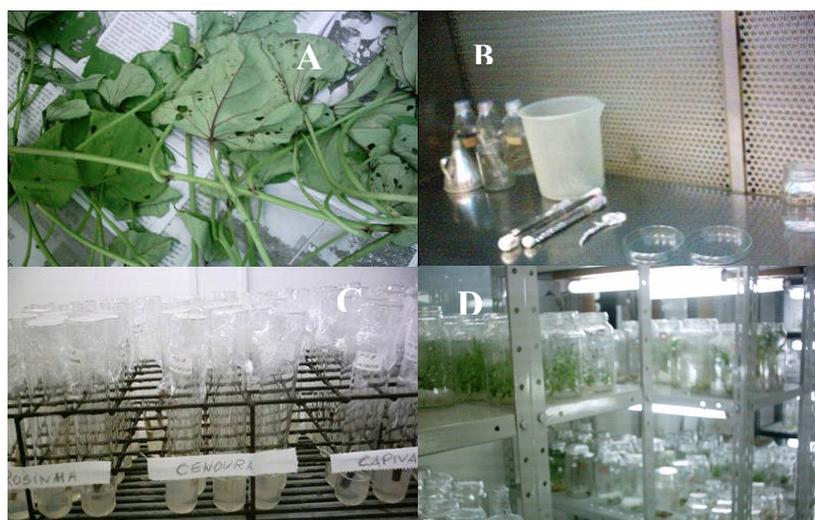


Figura 19: A. Ramas de *Ipomoea batatas* L. (Lam.). B. Fluxo laminar preparado para desinfestação e explante das plantas. C. Tubo de ensaio com 1 explante de cada variedade. D. Sala de crescimento das plantas sob luminosidade. Fonte: Luciana Oliveira, 2009

3.3.1 Avaliação das culturas *in vitro*

O desenvolvimento das plântulas germinadas *in vitro* foi avaliado a cada 7 dias no primeiro mês, considerando-se como parâmetro o alongamento dos brotos, números de folhas e presença ou ausência de raiz. Após o primeiro mês até completar os 4 meses, a avaliação foi a cada 15 dias. A cultivar Capivara ao quarto dia em meio MSØ apresentou contaminação por fungos em 100% das amostras. O processo foi repetido com uma segunda batelada e mais uma vez apresentou a mesma contaminação em 100% das amostras.

3.3.2 Cultura de Segmentos Nodais

Das plântulas germinadas *in vitro* da cultivar Cenoura e Rosinha foram selecionados os indivíduos com tamanho de 7 a 9 cm. As partes aéreas foram seccionadas com o auxílio de bisturi e, após a remoção das folhas e raízes, os segmentos nodais foram divididos. Os explantes foram introduzidos em vidros de maionese de tamanho médio com 40 ml de meio básico MSØ, e em cada vidro foram colocados de 3 a 4 explantes. As culturas obtidas destes explantes foram acompanhadas através de avaliações quinzenais durante 3 meses. A cada avaliação quinzenal eram realizados os explantes das plântulas que já tinham atingindo o tamanho ideal. Após este período foram selecionados 3 vidros de cada cultura em que as plantas mediam ± 10 a 12 cm. As plantas foram transferidas dos vidros para potes de plástico. O restante dos vidros com as culturas *in vitro* permaneceu na sala de crescimento do laboratório durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho.

3.3.3 Aclimatização

As plantas *in vitro*, após 5 meses em laboratório foram aclimatizadas em potes de plástico contendo terra adubada, mantidas em ambiente arejado e com pouca incidência de luz solar. As plantas foram mantidas em uma tenda por plástico cristal (transparente) montada de forma artesanal, permanecendo por um período de 30 dias em casa de vegetação no Departamento de Entomologia e Fitopatologia da UFRRJ, a irrigação ocorria 3 vezes ao dia para manter a umidade da tenda e circulação de ar. Após este período o plástico foi retirado e as plantas foram levadas para campo.

3.3.4 Cultivo em Campo

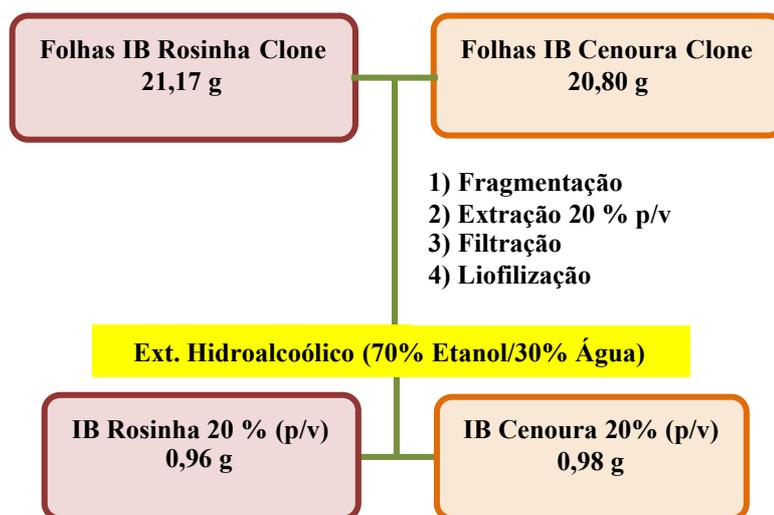
Após os 30 dias, as plantas foram transportadas (janeiro/2010) para Fazendinha, Seropédica, RJ. As plantas permaneceram por mais 10 dias em local sombreado para melhor aclimatização ao local. Após este período os clones foram plantados em solo e permaneceram sob observação até o período de coleta. A coleta foi realizada após 2 meses em solo. Para fins de comparação de perfil cromatográfico, foi realizada uma segunda coleta após 5 meses em solo.

3.4 Preparo dos Extratos por Maceração - Clones

3.4.1 Folhas Frescas – Clones

As folhas frescas dos clones das cultivares IB Rosinha e IB Cenoura foram coletadas em março de 2010, após 2 meses de transferência ao solo. A cultivar IB Capivara como já foi mencionado anteriormente foi eliminada das análises por apresentar contaminação por fungos durante a realização da cultura em tecidos *in vitro*. Os métodos utilizados para os clones seguem aqueles descritos nos itens anteriores para as plantas doadoras de explantes (matrizes).

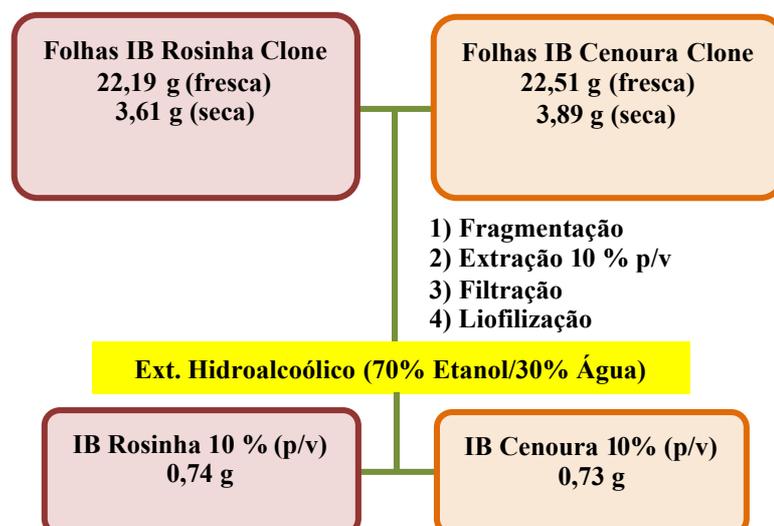
Devido não haver tempo hábil para o preparo de todos os extratos de maneira análoga ao realizados com as matrizes, optou-se por preparar o extrato hidroalcoólico das folhas frescas e secas dos clones para análise comparativa com as plantas doadoras de explantes. Para tal 20 g de folhas frescas dos clones foram pesados para todos os extratos levando em consideração as análises posteriores. O **Esquemas 5** mostra o processo de maceração realizado desde o material vegetal fresco até as respectivas massas obtidas do extratos brutos hidroalcoólicos dos clones.



Esquema 5: Preparo e maceração dos extratos hidroalcoólicos das folhas frescas dos clones IB Rosinha e IB Cenoura e suas respectivas massas.

3.4.2 Folhas Secas – Clones

Para a preparação dos extratos hidroalcoólicos das folhas secas dos clones, padronizou-se o peso de 20 g de folhas frescas, as quais, após secagem, foram extraídas na concentração de 10% p/v (10 g de folhas para 100 ml de etanol/etanol e água). Utilizou-se o método empregado nos itens anteriores, referentes às plantas doadoras de explantes (matrizes). O **Esquema 6** mostra o processo de maceração realizado desde o material vegetal seco até as respectivas massas obtidas dos extratos brutos hidroalcoólicos dos clones.



Esquema 6: Preparo dos extratos hidroalcoólicos das folhas secas dos clones de IB Rosinha e IB Cenoura por maceração e suas respectivas massas.

3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-UV)

De forma a avaliar o perfil químico dos extratos foram realizadas análises qualitativas utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de ultravioleta (CLAE-UV). Através das análises foi possível avaliar e comparar o perfil químico dos extratos das folhas frescas e secas das plantas doadoras de explante e clones de *Ipomoea batatas* L. (Lam.).

Os experimentos foram realizados no Laboratório da Central Analítica – NUPEM – UFRJ (Macaé).

A análise foi realizada utilizando aparelho Shimadzu equipado com bomba LC-20AT, degaseificador DGU-20A5, CBM-20A e detector de rede de fotodiodo (Diode Array Detector - DAD) SPD-M20A. A separação foi feita em coluna de sílica de fase inversa C-18, Shimadzu VP-ODS 5 μm , 250 x 4,6 mm, fluxo de 1mL/min e 20 μL de injeção. A fase móvel foi composta por água deionizada, pH 3,5 ajustado com ácido fosfórico (solvente A) e acetonitrila (solvente B), conforme gradiente disposto na **Tabela 6**. As amostras foram preparadas solubilizando-se 10 mg dos extratos e 1 mg dos padrões em 1 ml de água destilada ou em 1 ml de solução de água/acetonitrila (1:1), para o caso de amostras menos polares.

Tabela 6: Gradiente de solventes utilizado nas análises por CLAE-UV das amostras obtidas

Tempo (minutos)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	100	0
10	80	20
20	78	22
35	75	25
40	70	30
45	0	100

Solvente A (ácido fosfórico) e Solvente B (acetonitrila).

3.6 Avaliação da Atividade Antioxidante

Dos extratos alcoólicos e hidroalcoólicos (após evaporação do etanol, ressuspensão em água destilada e liofilização) preparados no Laboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos – UFRJ foram retiradas 3 alíquotas de 2 mg de cada extrato. Estas amostras foram analisadas no Laboratório de Química de Alimentos – UENF. Utilizou-se para tal o método fotocolorimétrico que emprega o radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilidrazila (DPPH) obtido da Sigma.

Este método se baseia no seqüestro do radical DPPH pelas moléculas redutoras (antioxidantes), o que produz uma diminuição de absorção em 515 nm. Quando uma solução de DPPH é misturada com uma substância que pode doar um átomo de hidrogênio, a forma reduzida do radical gerado é acompanhada de perda de cor (ALI, *et al.*, 2009).

Essa técnica consiste em adicionar 1 ml do extrato em concentrações que variam de 0,1 – 1000 µg/ml. A este foi adicionado 1 ml de uma solução metanólica de DPPH (0,1 mM). A reação foi processada em 1h à temperatura ambiente. Imediatamente, a absorção do DPPH foi medida em 515 nm em um espectrofotômetro UV-Vis. O espectrofotômetro utilizado foi o UV-VIS Shimadzu Mini 1240. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

A atividade seqüestradora de radicais livres de cada extrato foi expressa pela relação da absorção de DPPH, baseado na solução de DPPH ausente do extrato (controle negativo) e uma solução de um padrão de substância aromática (controle positivo). Como controles positivos foram utilizados o 2,6-di-(tert-butil)-4-metilfenol (BHT), os flavonóides quercetina e rutina e o ácido ascórbico. Posteriormente, foi calculado o percentual seqüestrador (PS%) de radicais livres (Tait *et al.*, 1996; Koleva *et al.*, 2002). A capacidade de seqüestrar radical livre foi expressa como percentual de inibição de oxidação do radical e calculado conforme fórmula abaixo.

$$\% \text{Inibição} = ((A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Extr}}) / A_{\text{DPPH}}) * 100$$

Onde A_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH e A_{Extr} é a absorbância da amostra em solução. A_{Extr} foi calculado com base na diferença da absorbância da solução de amostra em teste com seu branco (ROESLER *et al.*, 2007).

3.7 Avaliação da Toxicidade

Amostras liofilizadas de extratos alcoólicos e hidroalcoólicos das plantas doadoras de explante e de clones preparados no Laboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos – UFRJ foram levadas para o Laboratório de Biologia do Reconhecer – LBR – UENF.

Nestas análises foi utilizado 1 mg de cada extrato alcoólico e hidroalcoólico das folhas frescas e secas.

3.7.1 Preparo dos Extratos – Toxicidade

Os extratos foram ressuspensos em dimetilsulfóxido, (DMSO, 99.5% para cultura celular, Sigma) na concentração de 20 mg/mL, concentração na qual este solvente não apresenta citotoxicidade para as células RAW 264.7.

3.7.2 Cultivo das Células RAW 264.7

Macrófagos murinos linhagem RAW 264.7 foram cultivados em garrafas (TPP, Biosystems) de plástico em meio DMEM F-12 (Gibco, BRL) suplementado com 10 % de soro fetal bovino em estufa de CO₂ a 5 %, a 37°C. Para realização dos experimentos, as células foram plaqueadas na concentração 5 x 10⁴ células/poço com meio DMEM-F12 contendo 10 % de SFB, em placas de 96 poços. Após remoção do sobrenadante e das células não aderidas, as substâncias para teste foram adicionadas em diferentes concentrações, diluídas em meio DMEM+2% SFB. As placas foram incubadas por 24 h a 37°C/5% CO₂. Células com meio DMEM+2% SFB+ 10 µl de Triton 10x 1% foram utilizadas como controle positivo e como controle negativo foram utilizadas células com meio DMEM+2% SFB.

3.7.3 Teste de Citotoxicidade dos Extratos em Células da Linhagem Raw 264.7

Após tratamento das células com os extratos das plantas como no item anterior a viabilidade celular foi determinada através do microensaio colorimétrico utilizando MTT [3(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]. As células foram incubadas por 24 h com extratos e após o tempo determinado foram adicionados 10 µL de MTT (Sigma, 5 mg/ml). As placas foram mantidas na estufa por duas horas. Após esse período foram retirados 100 µL do sobrenadante de cada poço e depois adicionados 100 µL de uma solução de HCl com isopropanol, seguido de homogeneização até a completa dissolução dos cristais de sal formados. A placa de 96 poços foi lida em espectrofotômetro (Asys, Expert Plus) no comprimento de onda de 570 nm. Os resultados foram analisados através da absorbância de cada poço. Os experimentos foram realizados em triplicatas.

3.8 Estudo do Efeito do Shampoo de *Ipomoea batatas* em Voluntários Humanos

Foi desenvolvido um shampoo piloto no Laboratório de Química de Produtos Naturais – NPPN - UFRJ durante a realização deste trabalho, utilizando o extrato hidroalcoólico de IB Rosinha folha fresca. Devido o produto estar em processo de depósito de patente não será possível descrever a formulação deste.

Foi utilizado inicialmente em 3 voluntários de ambos os sexos e com faixa etária de 30 a 70 anos, com a autorização do Conselho de Ética da Universidade Severino Sombra protocolo nº 0159/2010. Os voluntários foram orientados em utilizar o shampoo 3 vezes na semana durante aproximadamente 40 dias, aplicando sobre o couro cabeludo e deixando agir durante 10 minutos e logo depois o enxágue . Cada voluntário recebeu 1L de shampoo para o desenvolvimento deste teste.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento das extrações

Foram avaliados os rendimentos das extrações dos extratos preparados das ramas (matrizes) cedidas pela Fazendinha - UFRRJ e os clones coletados com 2 e 5 meses cultivado no solo.

4.1.1 Matrizes

Das matrizes foram preparados extratos de folhas frescas e secas por maceração em etanol (extrato alcoólico) e em mistura etanol/água (7:3) (extrato hidroalcoólico). Esses extratos foram preparados para as matrizes das 3 cultivares (Rosinha, Cenoura e Capivara), totalizando 12 extratos.

De forma a comparar a eficiência de cada extração o rendimento foi calculado para todos os extratos. Quando se tratou de folhas secas o rendimento do extrato foi calculado em relação a 100 g de folhas secas e 100 g de folhas frescas (massa anterior ao processo de secagem). Esse cálculo foi importante por permitir comparação direta entre o rendimento dos 12 extratos. Os resultados dos rendimentos em % p/p estão apresentados na **Figura 20**. Quando comparados os rendimentos dos extratos alcoólicos e hidroalcoólicos das folhas frescas é possível observar que o rendimento da extração hidroalcoólica é aproximadamente o dobro do obtido para a extração alcoólica para as 3 cultivares estudadas. Ao comparar a extração hidroalcoólica de folhas frescas e secas, o extrato hidroalcoólico preparado com as folhas frescas resultou em maior rendimento, chegando a ser próximo do dobro do rendimento como no caso das cultivares rosinha e capivara.

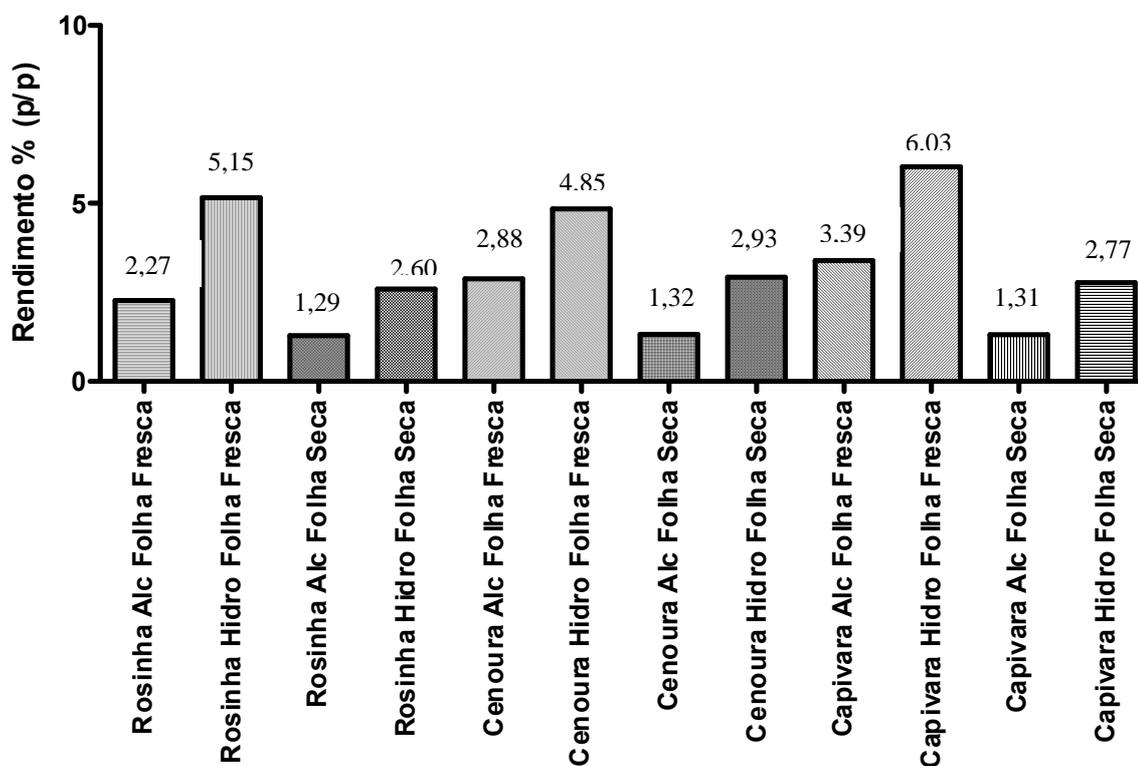


Figura 20: Rendimento dos diferentes extratos das matrizes de *Ipomoea batatas*

4.1.2 Clones

Após a coleta dos clones foram preparados os extratos das cultivares Rosinha e Cenoura, descritos anteriormente em materiais e métodos. Como já mencionado anteriormente, devido não haver tempo hábil para a preparação de todos os extratos como nas matrizes optou-se por preparar apenas os extratos hidroalcoólicos folha fresca e folha seca das cultivares Rosinha e Cenoura, totalizando 4 extratos.

Como pode ser observado no gráfico de rendimento dos clones **Figura 21**, os rendimentos dos extratos hidroalcoólicos de folhas frescas foram maiores, assim como para os extratos das matrizes.

De acordo com os resultados obtidos nas matrizes e clones, conclui-se que para cultivo em larga escala, podem-se utilizar as folhas frescas assim que atinjam o tamanho ideal para serem coletadas, sendo que o tempo para coleta das folhas pode variar de acordo com as condições do solo (**Figura 22**).

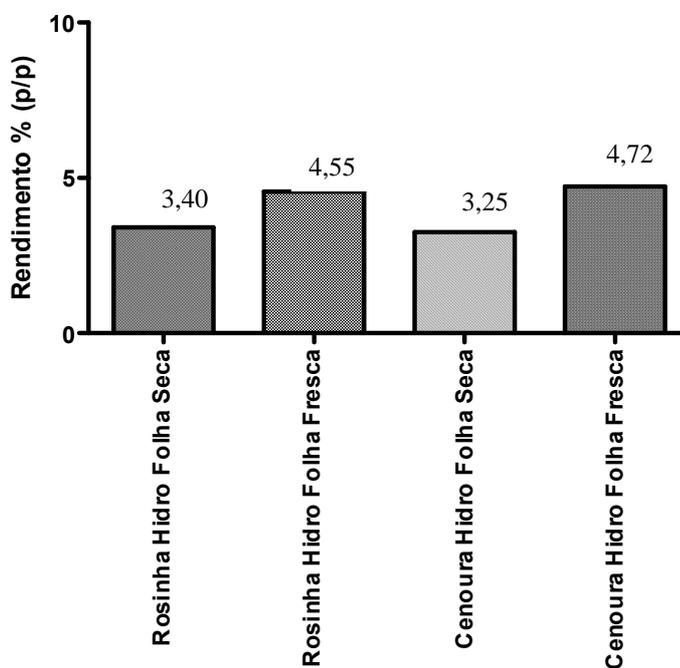


Figura 21: Rendimento dos diferentes extratos dos clones de *Ipomoea batatas* (Coleta 1 – após 2 meses de cultivo).

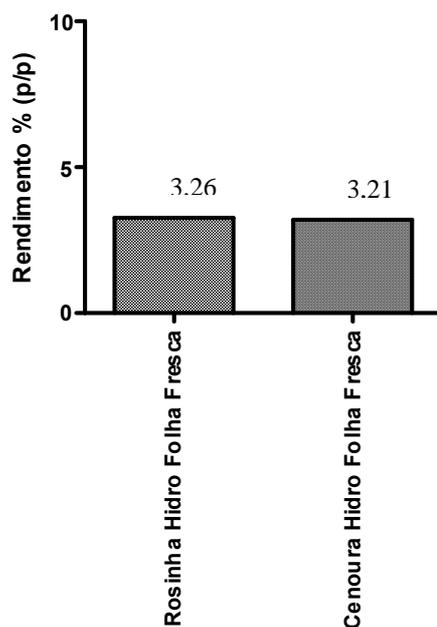


Figura 22: Rendimento dos diferentes extratos dos clones de *Ipomoea batatas* (Coleta 2 – após 5 meses de cultivo).

4.2 Brotações das raízes tuberosas

As raízes tuberosas das espécies doadoras de explante com ramas medindo em torno de 30 cm, ao chegarem à casa de vegetação do Departamento de Entomologia e Fitopatologia da UFRRJ, foram colocadas em vasos de plásticos com substrato orgânico e permaneceram sobre os cuidados dos funcionários do departamento. As ramas das cultivares apresentaram crescimento normal, suas folhas com aspectos viçosos sem a presença de pragas (**Figura 23**).



Figura 23: Matrizes doadoras de explante em casa de vegetação após período de brotação das raízes tuberosas. Fonte: Luciana Oliveira, 2009

4.3 Propagação Vegetativa *in vitro*

4.3.1 Cultura de Segmentos Nodais

De acordo com os objetivos propostos para os experimentos de cultura de tecidos *in vitro*, verificou-se que o estabelecimento das cultivares foi rápido e as plantas apresentaram crescimento contínuo, ou seja, as brotações ocorreram entorno de 30 a 40 dias em meio MSØ.

4.3.2 Crescimento das Cultivares Rosinha de Verdan e Cenoura (IAPAR 69)

Na propagação por cultura de segmentos de nós, a cultivar Rosinha apresentou melhor resultado em relação a cultivar Cenoura. Durante os 7 primeiros dias de observações *in vitro* em tubos de ensaio, as cultivares Rosinha e Cenoura não apresentaram nenhuma manifestação de contaminação por microorganismos nos explantes caulinares, assim como no meio.

A cultivar Rosinha com 14 dias em meio MSØ, apresentava um crescimento de 7 a 9 cm de altura, com brotações de folhas e enraizamento bem desenvolvido (**Figura 24 A**). Entretanto, a cultivar Cenoura no período de 14 dias não foram observados o mesmo crescimento e brotações quando comparado a cultivar Rosinha. O crescimento observado da cultivar Cenoura aos 14 dias em meio MSØ foi de 4 a 5 cm de altura (**Figura 24 B**), o que correspondendo a um resultado 50% menor em relação à Rosinha.

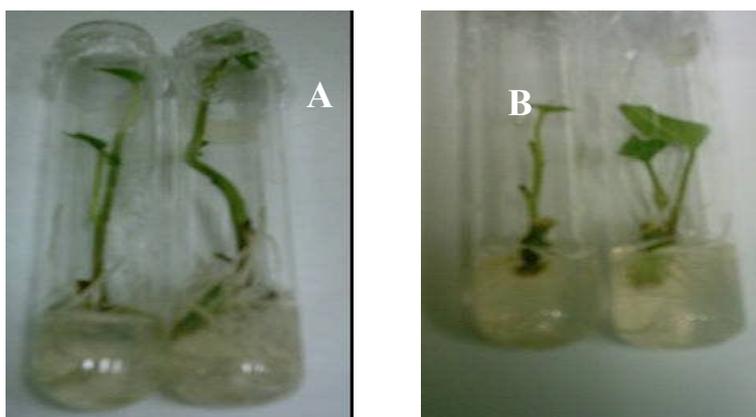


Figura 24: A. Cultivar Rosinha com 14 dias em meio MSØ em sala de vegetação. B. Cultivar Cenoura com 14 dias em meio MSØ em sala de vegetação. Fonte: Luciana Oliveira, 2010.

Com 20 dias em sala de vegetação, foi observado que as cultivares Rosinha e Cenoura apresentavam contaminação por fungos no meio MSØ em algumas amostras (**Figura 25**). A contaminação da cultivar Cenoura se mostrou mais intensa do que a observada para a cultivar Rosinha em um total de 20 amostras, conforme mostra a **Tabela 7**. As amostras contaminadas foram retiradas imediatamente da sala de vegetação para não haver o risco de contaminação das amostras sadias.



Figura 25: Contaminação por fungos no meio MSØ nas cultivares IB Rosinha e IB Cenoura
 Fonte: Luciana Oliveira, 2010.

Tabela 7: Contaminação por microorganismos nas cultivares Rosinha e Cenoura em sala de vegetação.

Quantidade de Amostras	Contaminadas	Sadias	Contaminação %
IB Rosinha 20	4	16	25,04
IB Cenoura 20	6	14	42,09

A cultivar IB Capivara em sala de vegetação apresentou com 4 dias em meio MSØ contaminação por fungos em todas as amostras que se encontravam nos tubos de ensaio (**Figura 26**).



Figura 26: Explante da cultivar IB Capivara com 4 dias em meio MSØ na sala de vegetação apresentando contaminação por fungos em todas as amostras.
 Fonte: Luciana Oliveira, 2010.

4.3.3 Aclimatização

Durante o período que as plantas ficaram na casa de vegetação algumas amostras morreram durante o processo de retirada das plantas do meio MSØ e transferência para os potes com terra adubada (**Figura 27**). As amostras que permaneceram vivas se adaptaram muito bem as condições do local durante o período de 30 dias até serem transportadas para o campo.



Figura 27: Cultivares Rosinha e Cenoura em vidro contendo meio MSØ e posteriormente transferidas para potes de plásticos contendo terra adubada. Fonte: Luciana Oliveira, 2010.

4.3.4 Cultivo em Campo

Em janeiro de 2010 os clones foram transportados da casa de vegetação para Fazendinha permanecendo por mais 10 dias em local sombreado para melhor adaptação ao local. Após este período eles foram locados no solo e permaneceram por 5 meses até a coleta.

Após 15 dias no solo os clones apresentaram resultados bem visíveis em relação ao crescimento. A IB Rosinha apresentou um crescimento bem mais desenvolvido em relação a IB Cenoura (**Figura 28 A e B**) em relação ao comprimento das ramas e desenvolvimento das folhas.

Com 2 meses no solo (março/2010), foi realizado a coleta das ramas dos clones para serem transportadas para o laboratório do NPPN – UFRJ para preparação dos extratos e posterior realização das análises. Os clones se apresentam em excelentes condições, folhas bem viçosa, sem presença de ataque de microorganismos e com crescimento bem desenvolvido (**Figura 28 C**).

Em junho de 2010 foi realizada a coleta dos tubérculos dos clones. A cultivar Rosinha apresentou melhor desenvolvimento em relação às ramas e condições das folhas. Com relação aos tubérculos, a cultivar Rosinha também apresentou melhor resultado. Seus tubérculos apresentaram excelentes resultados em relação ao tamanho, cor da casca e textura como pode ser observado na (**Figura 29**).



Figura 28: A. Clone IB Rosinha com 15 dias no solo. B. Clone IB Cenoura com 15 dias no solo. C. Canteiro com ambos os clones com 2 meses no solo da Fazendinha. Fonte: Luciana Oliveira, 2010.



Figura 29: Coleta dos tubérculos do clone de IB Rosinha com 5 meses no solo da Fazendinha da UFRRJ. Fonte: Dr. José Guilherme Marinho Guerra, 2010.

4.4 Perfil Cromatográfico dos Extratos

4.4.1 Perfil Cromatográfico dos Extratos das Matrizes

O perfil cromatográfico tem sido utilizado como ferramenta importante na caracterização de uma planta. Obter a impressão digital ou o “*fingerprint*” de um extrato é fundamental para garantir a qualidade do mesmo. A garantia da eficácia e segurança de um produto farmacêutico baseia-se no desenvolvimento de metodologias analíticas robustas que permitam a quantificação e identificação dos ativos isolados em suas matrizes. Dentre as técnicas analíticas atualmente disponíveis a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é o método mais usual empregado nos laboratórios de Controle de Qualidade, e descrito nos principais compêndios e farmacopéias, devido à rapidez, precisão e versatilidade em diversas matrizes. A composição química dos extratos obtidos foi avaliada por CLAE, para a identificação e quantificação dos constituintes químicos majoritários.

Neste trabalho, os 12 extratos das matrizes foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao detector de ultravioleta em feixe de diodos, de forma a conhecer as classes de metabólitos especiais presentes nas amostras. A análise do perfil químico por CLAE nos permitiu também tecer um paralelo entre as classes químicas presentes e as atividades biológicas observadas.

O perfil cromatográfico dos extratos analisados foi semelhante qualitativamente, havendo apenas diferenças quantitativas (**Tabelas 8 e 9**). Tendo em vista que o perfil cromatográfico se repeti foi escolhido o extrato hidroalcoólico das folhas frescas para apresentação dos cromatogramas das diferentes cultivares. Os cromatogramas se encontram no **Anexo C**. A **Figura 30** mostra comparativamente os cromatogramas do extrato hidroalcoólico das folhas frescas das 3 cultivares. E, a **Figura 31** mostra comparativamente os cromatogramas do extrato alcoólico das folhas frescas das 3 cultivares, confirmando que, realmente, o padrão qualitativo dos cromatogramas se repeti.

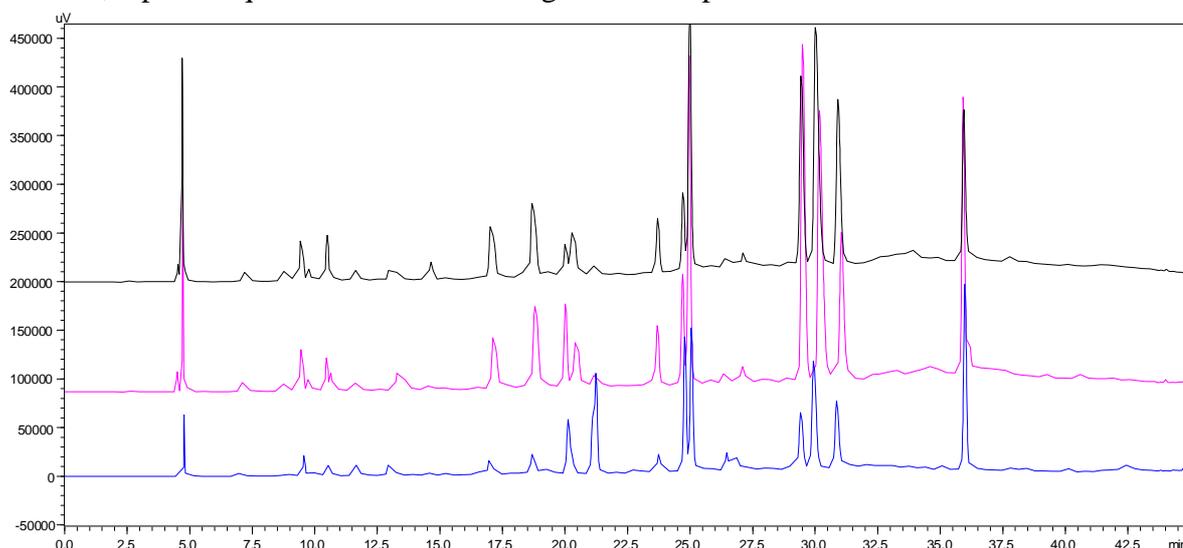


Figura 30: Cromatograma Comparativo do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca das 3 cultivares de *Ipomoea batatas* - 254 nm. Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL. Cultivar Rosinha (preto), Cenoura (rosa), Capivara (azul).

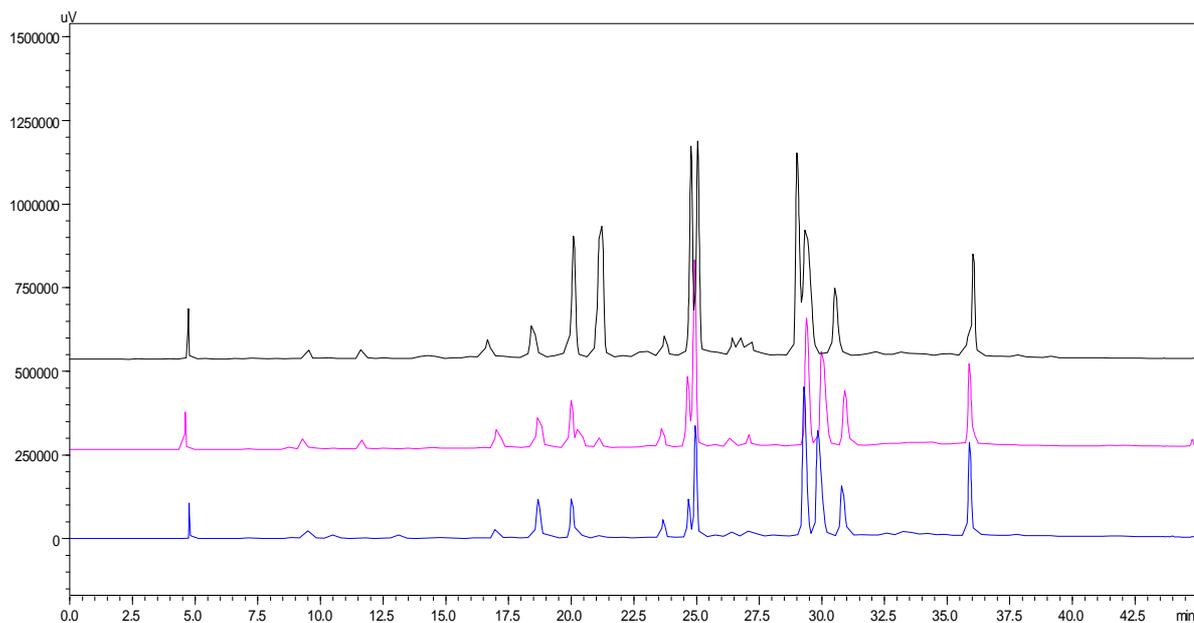
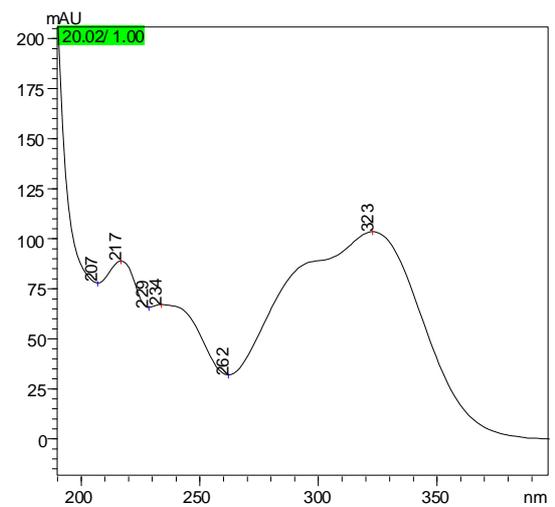
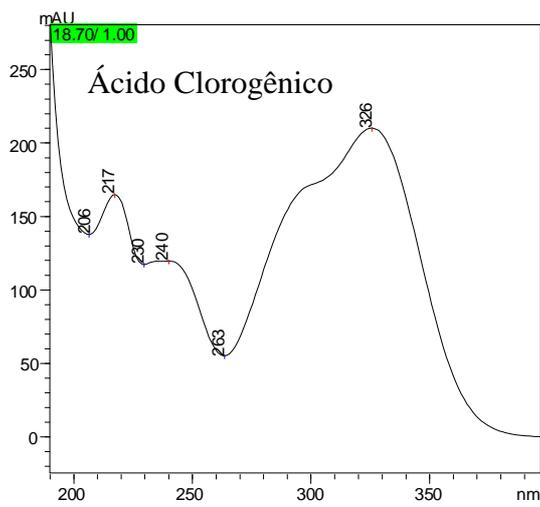
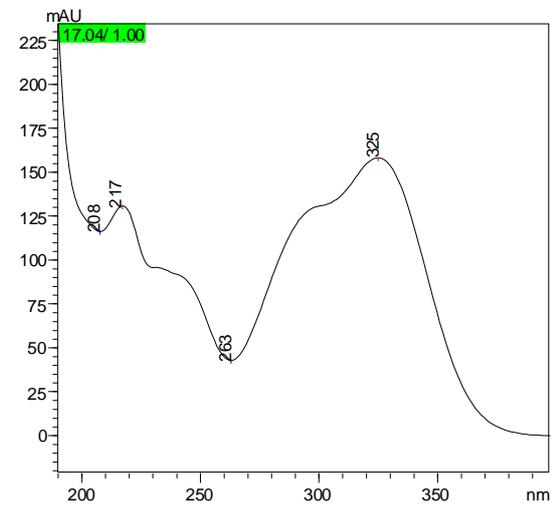
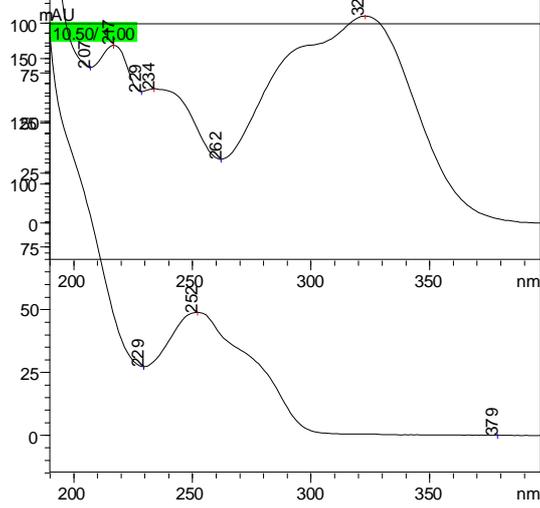
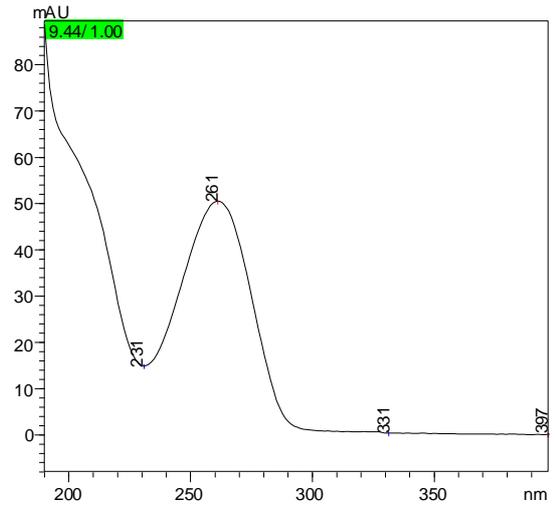
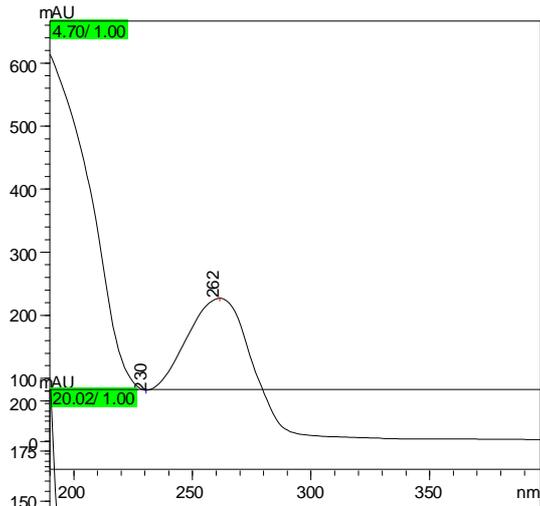
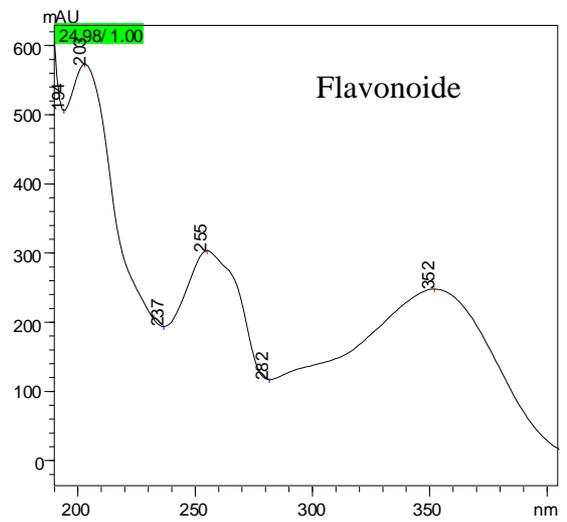
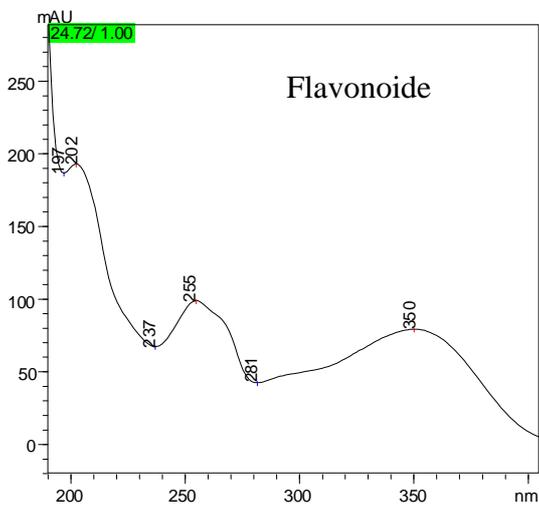
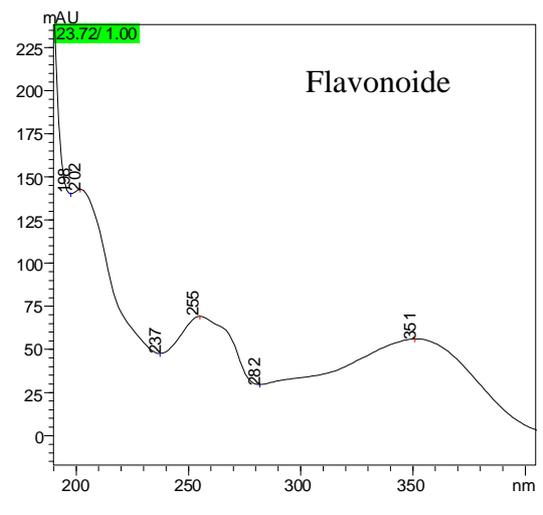
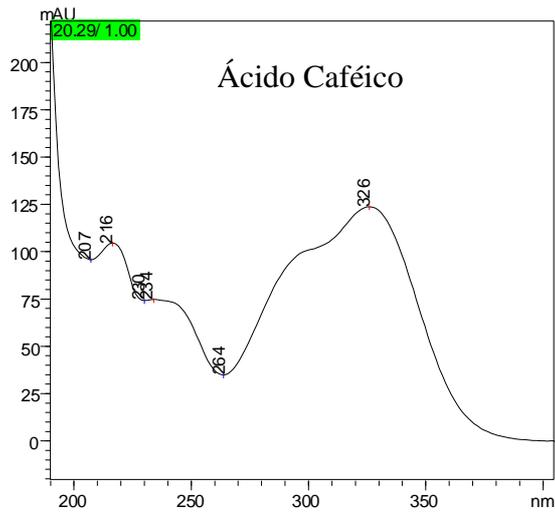


Figura 31: Cromatograma Comparativo do Extrato Alcoólico Folha Fresca de *Ipomoea batatas* – 254 nm. Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 μ L. Cultivar Capivara (preto), Cenoura (rosa) e Rosinha (azul).

Para identificar as classes químicas presentes nesses extratos, os espectros de ultravioleta obtidos pelo detector UV-DAD de cada pico foram analisados e comparados com os perfis obtidos para os padrões utilizados. Abaixo são mostrados os espectros de ultravioleta de todos os picos do extrato hidroalcoólico da cultivar Rosinha (**Figura 32**).

Os picos com tempo de retenção compreendidos entre 23 e 28 minutos apresentaram espectro característico para a presença de flavonoides (flavonas e flavonóis) com $\lambda_{\text{máx}}$ de 250 nm e 352 nm. Os espectros de flavonas e flavonóis exibem dois picos de absorção máxima na região entre 240 a 400 nm. A banda I, usualmente entre 300-380 nm, refere-se à porção do anel A, sistema benzil, e a banda II, usualmente entre 240-280 nm, refere-se à porção do anel B, sistema cinamoil (**Figura 33**) (MABRY *et al.*, 1970).





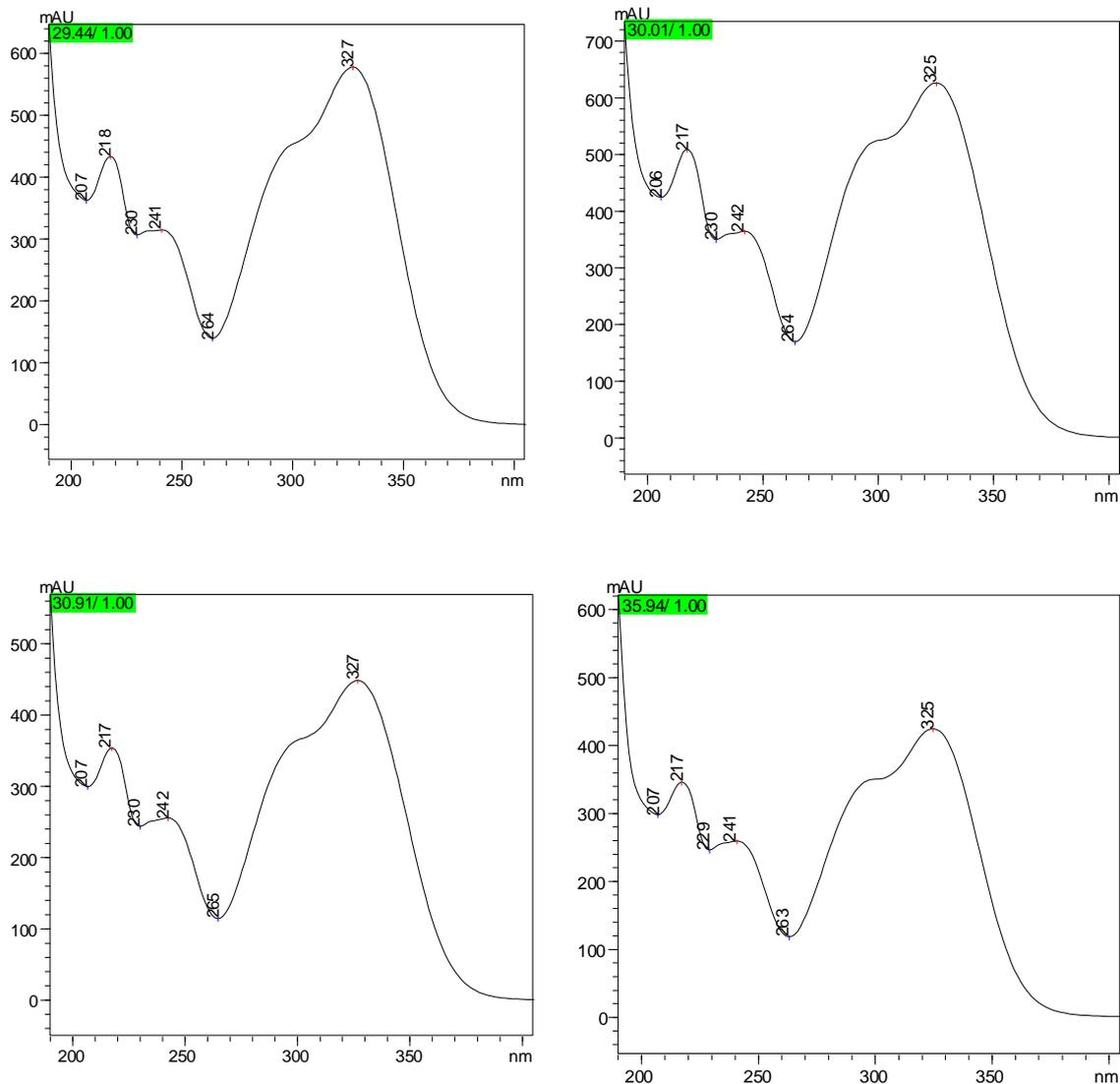


Figura 32: Espectro de Ultravioleta dos Picos do Cromatograma do Extrato Hidroalcolico das Folhas Frescas de *Ipomoea batatas* cultivar Rosinha.

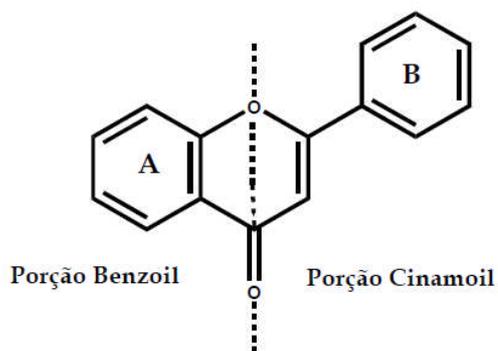


Figura 33: Estrutura básica de flavonoide e suas porções que geram as bandas de absorção características no UV (adaptado de MABRY *et al.*, 1970).

Alguns padrões de substâncias (procedência Sigma) previamente descritas para a espécie *I. batatas* foram utilizados para verificar a presença dessas substâncias e de outras de sua classe química nos extratos. São eles: ácido cafeico, ácido clorogênico, cianidina 3-glicosídeo e quercetina.

Os ácidos cafeico e clorogênico foram identificados em algumas amostras analisadas por comparação do tempo de retenção e do espectro de ultravioleta, como podemos observar o cromatograma do extrato hidroalcoólico folhas frescas da cultivar Rosinha (**Figura 34**). Alguns picos apresentaram padrão no ultravioleta compatível com a presença de flavonoides como dito anteriormente quando comparados ao padrão no ultravioleta da quercetina.

Os resultados das análises dos padrões utilizados para comparação de tempo de retenção e perfil no ultravioleta encontram-se no **Anexo D**.

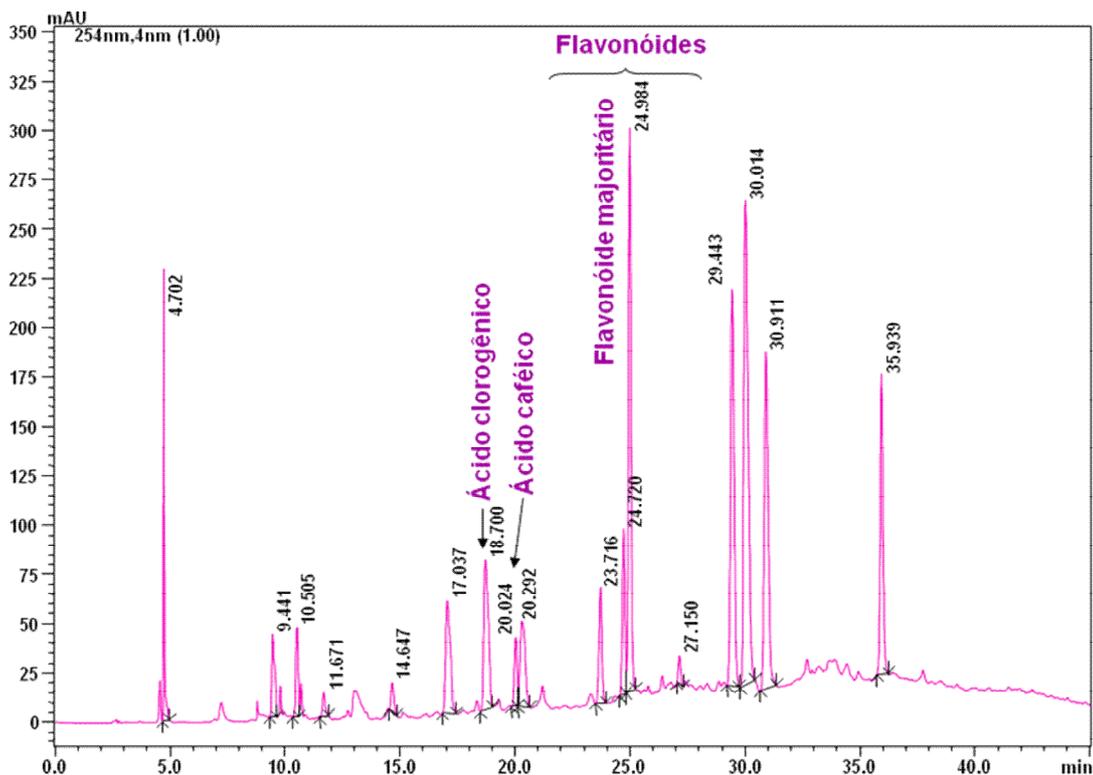


Figura 34: Cromatograma do extrato hidroalcoólico folhas frescas da cultivar Rosinha

A **Tabela 8** resume quantitativamente os dados encontrados para os 12 extratos das matrizes e mostra o percentual de área do ácido clorogênico e do ácido cafeico. As áreas de todos os picos compatíveis com a presença de flavonóides foram somadas, resultando nos dados abaixo. Ao somatório de picos indicativos de flavonoides foi dada a denominação de percentual de flavonoides totais. Além disso, o percentual referente ao flavonoide majoritário também foi ressaltado na tabela.

Das folhas frescas das cultivares Rosinha e Cenoura foram extraídas maiores quantidades de ácido clorogênico em relação às folhas secas. As cultivares Rosinha e Cenoura de maneira geral apresentaram maior quantidade de ácido clorogênico do que a cultivar Capivara. A cultivar Capivara apresentou maior quantidade de ácido caféico em extratos de folhas frescas. A cultivar Cenoura extrato alcoólico folha fresca e seca não apresentou variação em relação ao ácido caféico e clorogênico. O flavonoide majoritário foi detectado em todas as amostras analisadas e o percentual de flavonoides totais foi maior na cultivar Capivara.

Tabela 8 – Área Percentual dos Picos do Cromatograma dos Extratos das Matrizes

Amostra			%Ácido Clorogênico (T _R = 18,700 min)	%Ácido Cafeico (T _R = 20,024 min)	%Flavonóide Majoritário (T _R = 24,984 min)	%Flavonoides Totais
IB Rosinha	Hidro	F Fresca	6,32	1,86	13,52	21,21
		F Seca	3,18	1,68	18,74	30,46
	Alc	F Fresca	6,20	5,35	12,20	19,82
		F Seca	2,49	2,04	17,04	26,14
IB Cenoura	Hidro	F Fresca	5,57	3,49	12,14	19,01
		F Seca	3,96	3,61	21,38	33,21
	Alc	F Fresca	5,17	5,39	18,21	29,84
		F Seca	5,57	3,49	12,14	19,02
IB Capivara	Hidro	F Fresca	2,86	6,52	11,51	40,17
		F Seca	n.d.	n.d.	11,61	43,34
	Alc	F Fresca	3,04	9,17	11,69	42,46
		F Seca	2,33	1,10	13,55	39,55

n.d. - não detectado

Os extratos dos clones também foram analisados por CLAE e os cromatogramas estão abaixo apresentados. Para verificar uma eventual variação do perfil químico após um período maior de adaptação ao solo, foram analisadas as amostras da primeira coleta (2 meses no solo) (**Figura 35, 36, 37, 38**), as amostras utilizadas para os outros estudos, e as amostras de uma segunda coleta (5 meses no solo) (**Figura 39, 40**).

Primeira Coleta

Cultivar Rosinha

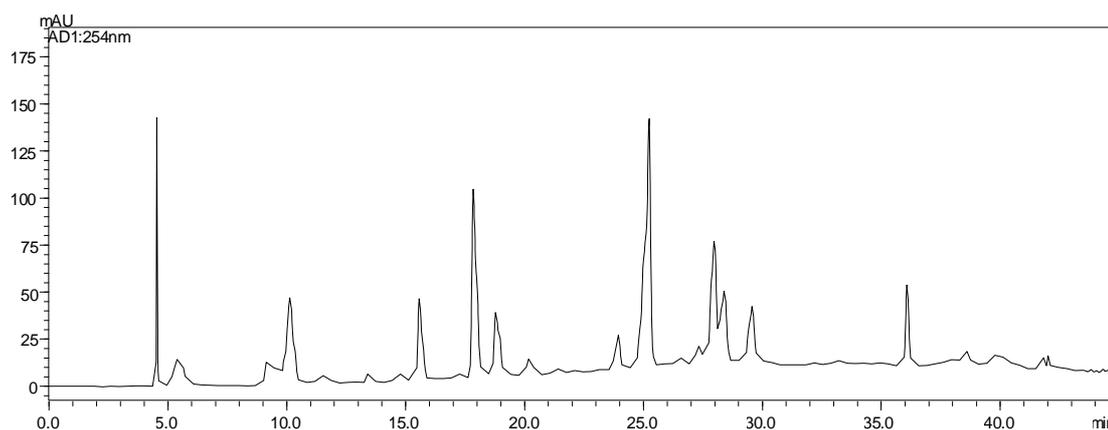


Figura 35: Cromatograma do Extrato Hidroalcolico Folha Fresca do clone de *Ipomoea batatas* cultivar ROSINHA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL.

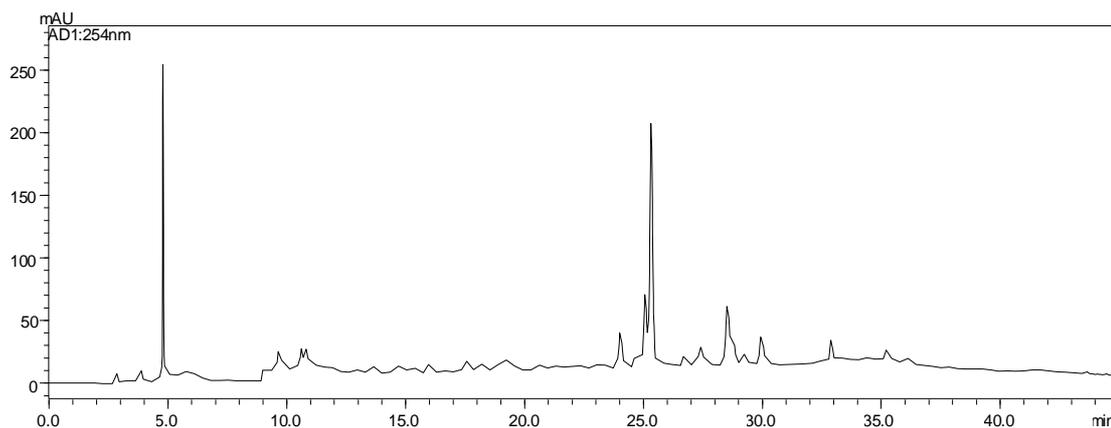


Figura 36: Cromatograma do Extrato Hidroalcolico Folha Seca do clone de *Ipomoea batatas* cultivar ROSINHA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 μ L.

Cultivar Cenoura

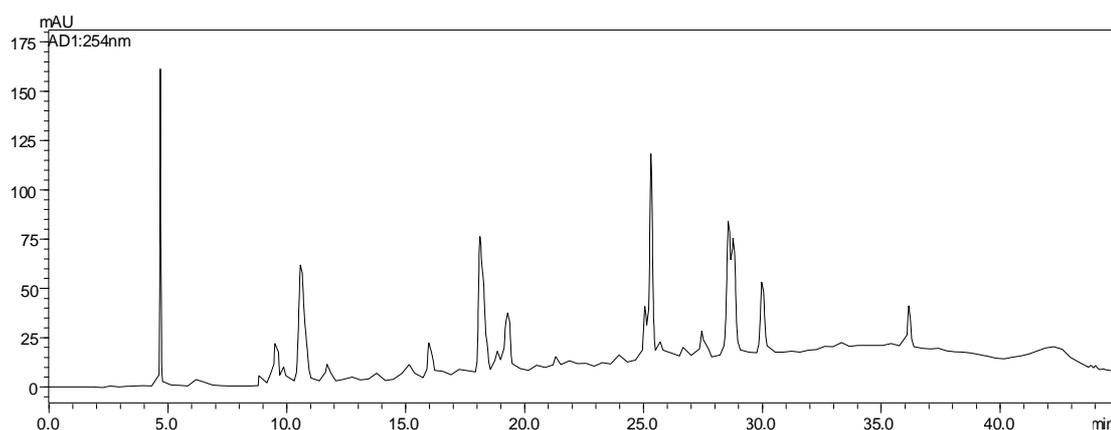


Figura 37: Cromatograma do Extrato Hidroalcolico Folha Fresca do clone de *Ipomoea batatas* cultivar CENOURA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 μ L.

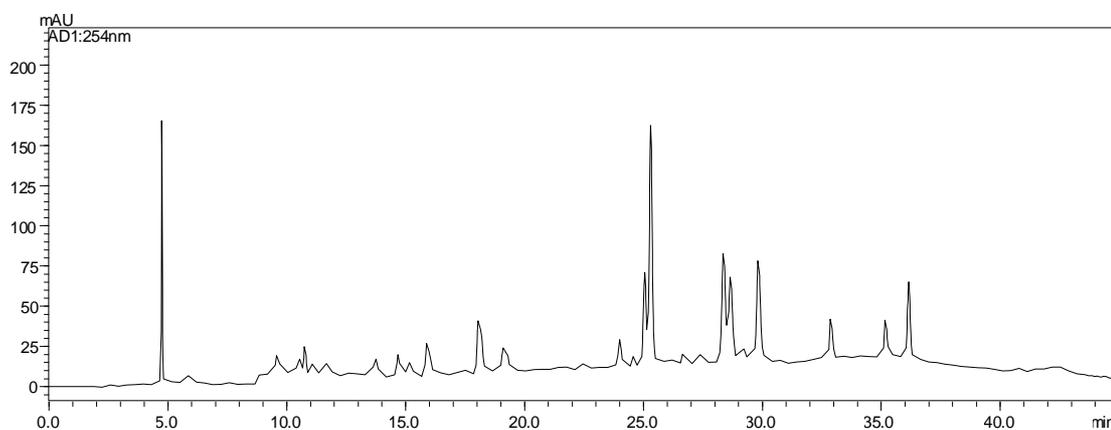


Figura 38: Cromatograma do Extrato Hidroalcolico Folha Seca do clone de *Ipomoea batatas* cultivar CENOURA – 254 nm (primeira coleta, 2 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 μ L.

Segunda Coleta

Cultivar Rosinha

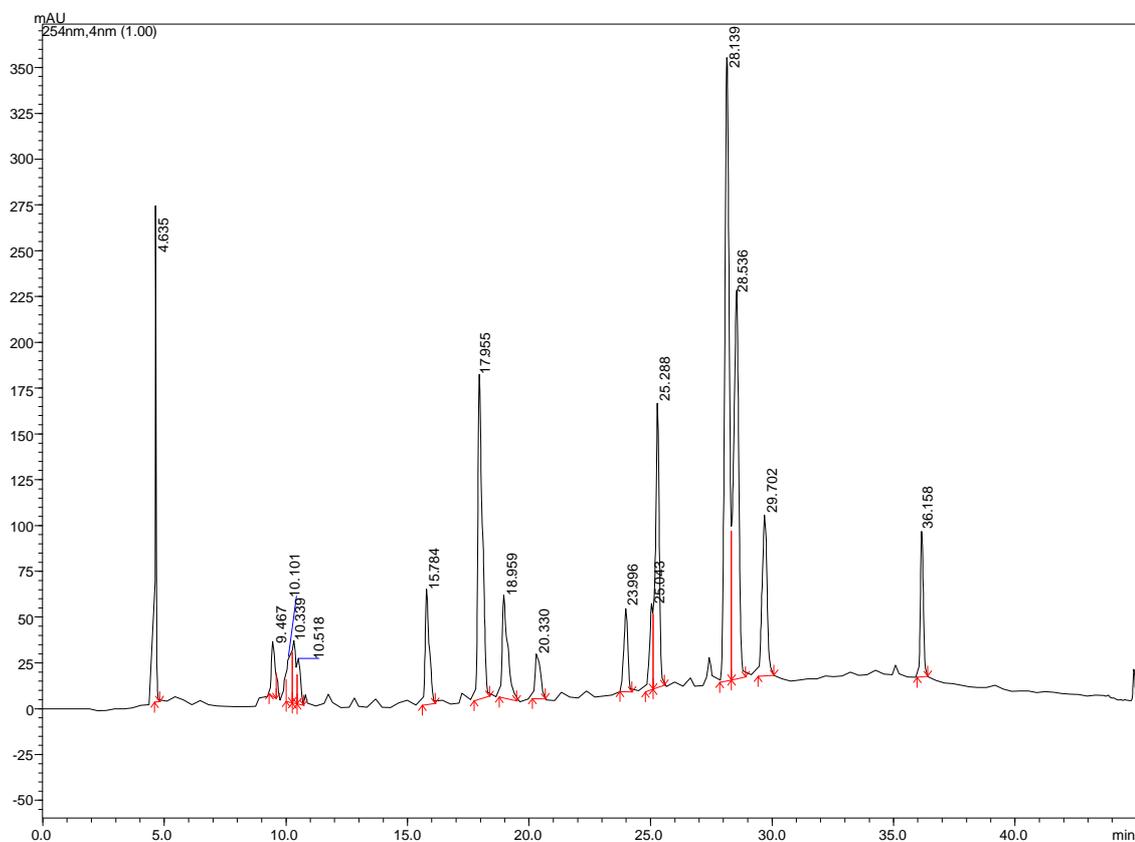


Figura 39: Cromatograma do Extrato Hidroalcolico Folha Fresca do clone de *Ipomoea batatas* cultivar ROSINHA – 254 nm (segunda coleta, 5 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 μ L.

Cultivar Cenoura

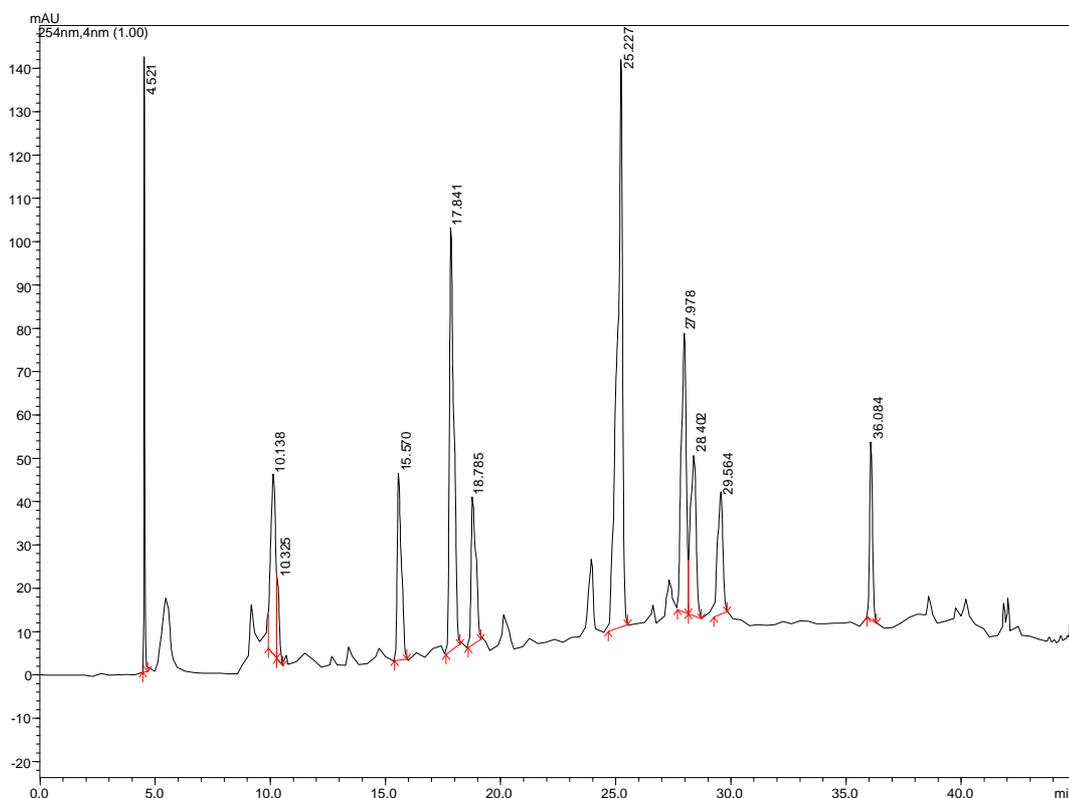


Figura 40: Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca do clone de *Ipomoea batatas* cultivar CENOURA – 254 nm (segunda coleta, 5 meses de aclimatização). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL.

Tabela 9 – Área Percentual dos Picos do Cromatograma dos Extratos dos Clones

Amostra				%Ácido Clorogênico	%Ácido Cafeico	%Flavonóide Majoritário	%Flavonóides Totais
IB Rosinha	Extrato Hidroalcoólico	Coleta 1	F Fresca	6,02	n.d.	26,87	26,87
			F Seca	n.d.	n.d.	37,09	54,97
		Coleta 2	F Fresca	4,64	2,04	9,22	14,67
			F Seca	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IB Cenoura	Extrato Hidroalcoólico	Coleta 1	F Fresca	7,84	n.d.	10,47	15,56
			F Seca	3,65	n.d.	21,56	31,68
		Coleta 2	F Fresca	6,33	n.d.	13,99	17,72
			F Seca	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. - não detectado

Como pode ser observado na **Tabela 9** o flavonoide majoritário foi detectado em todas as amostras, da primeira e da segunda coleta, em ambas as cultivares.

O ácido caféico só foi detectado no extrato das folhas frescas da cultivar Rosinha (segunda coleta) E o ácido clorogênico não foi detectado no extrato das folhas secas, primeira coleta. Os percentuais de flavonoides totais, que representam a proporção de flavonoides na amostra, para os clones na primeira coleta (2 meses de aclimatização) foram mais parecidos com os valores obtidos para as matrizes.

Comparando a intensidade dos picos da matriz da cultivar Rosinha com os clones da primeira e da segunda coleta é possível observar que na primeira coleta ocorre menor quantidade de metabólitos secundários, quando se compara com os teores na segunda coleta. Já para a cultivar Cenoura essa diferença na intensidade dos picos entre as duas coletas dos clones não é observada, sendo as intensidades maiores no cromatograma da matriz.

O gráfico abaixo compara o percentual em termos de área para todos os extratos hidroalcoólicos para a cultivar Rosinha, selecionada por ser a cultivar mais utilizada popularmente (**Figura 41**).

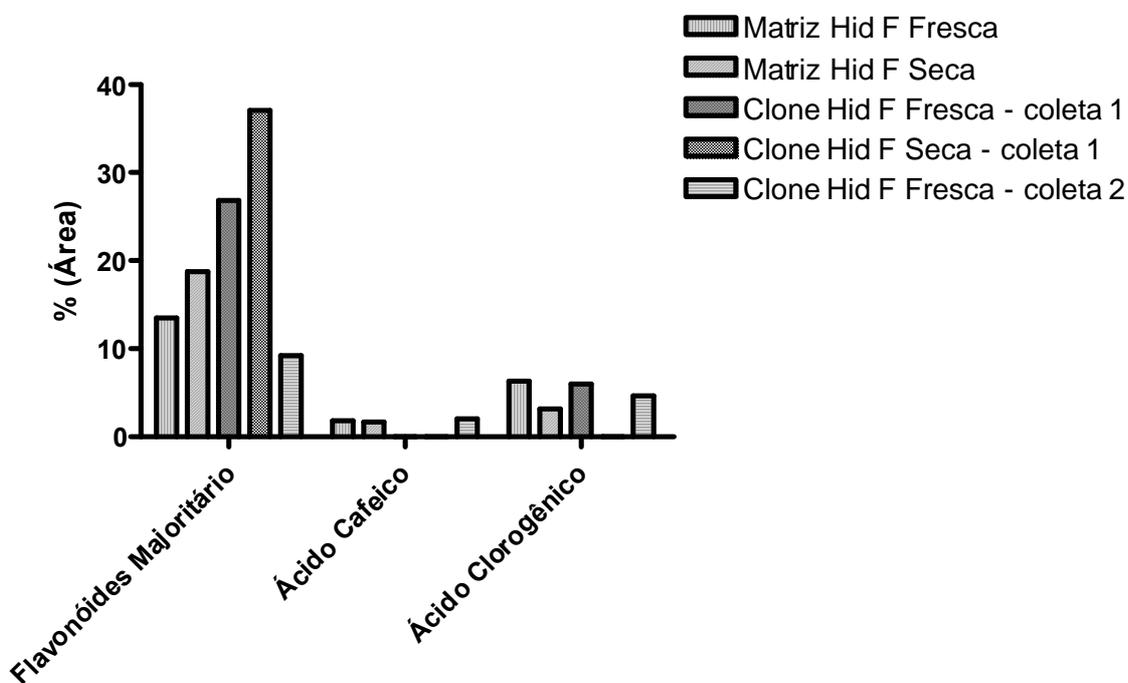


Figura 41: Percentuais de área nos cromatogramas dos extratos da cultivar Rosinha para os picos correspondentes ao flavonoide majoritário, ácido caféico e ácido clorogênico.

4.5 Atividade Antioxidante

4.5.1 Atividade Antioxidante das Matrizes das Diferentes Variedades Estudadas

Os resultados da atividade antioxidante das matrizes foram agrupados pelas cultivares, Rosinha, Cenoura e Capivara (Figura 42, 43, 44).

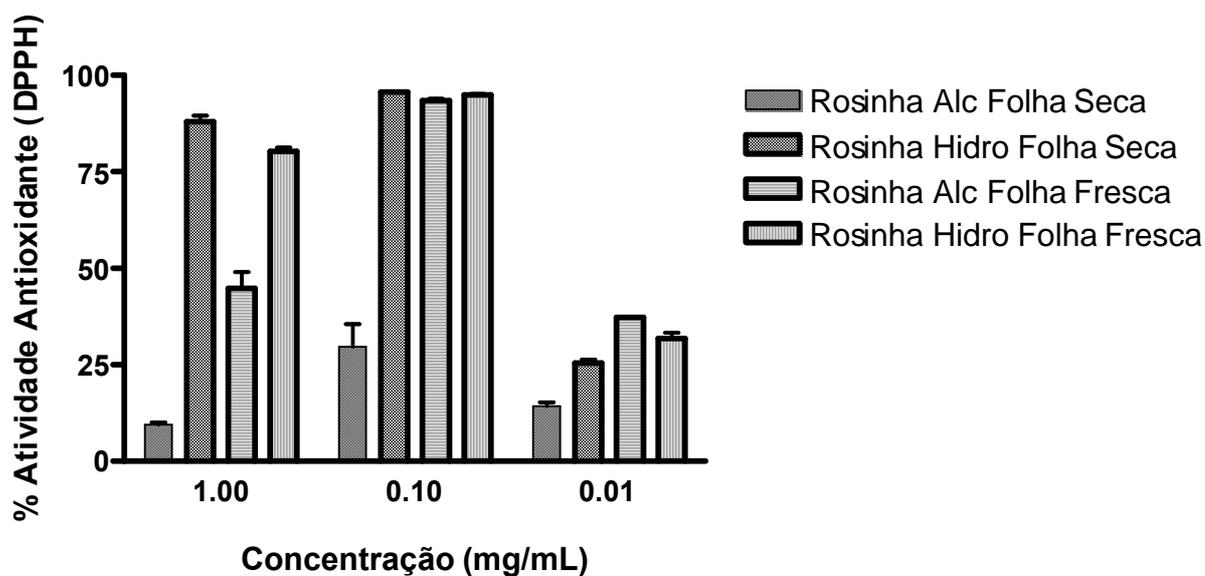


Figura 42: Atividade antioxidante dos extratos de *I. batatas* cultivar Rosinha no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico).

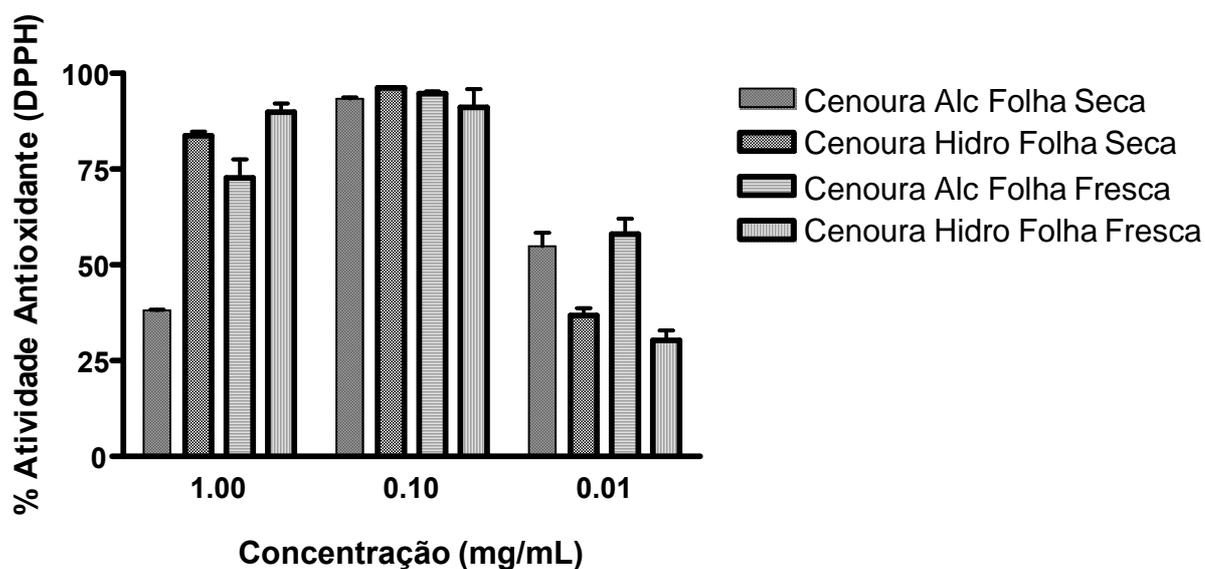


Figura 43: Atividade antioxidante dos extratos de *I. batatas* cultivar Cenoura no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico).

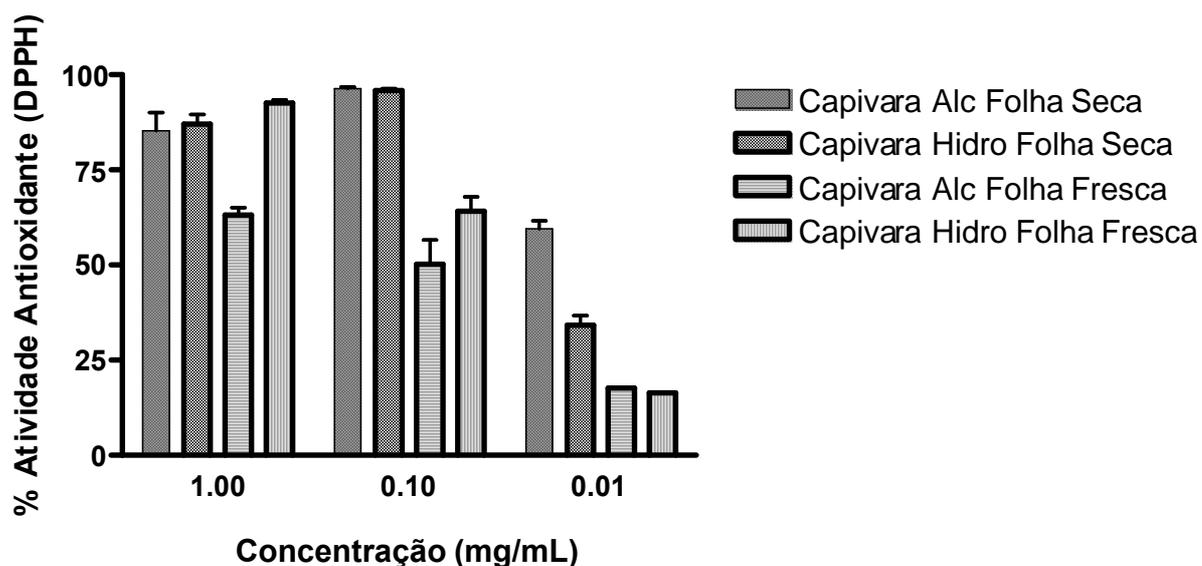


Figura 44: Atividade antioxidante dos extratos de *I. batatas* cultivar Capivara no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico).

Foram utilizadas as substâncias naturais quercetina, rutina e ácido ascórbico usadas como controle na comparação com os extratos de *I. batatas* no ensaio com o radical livre DPPH.

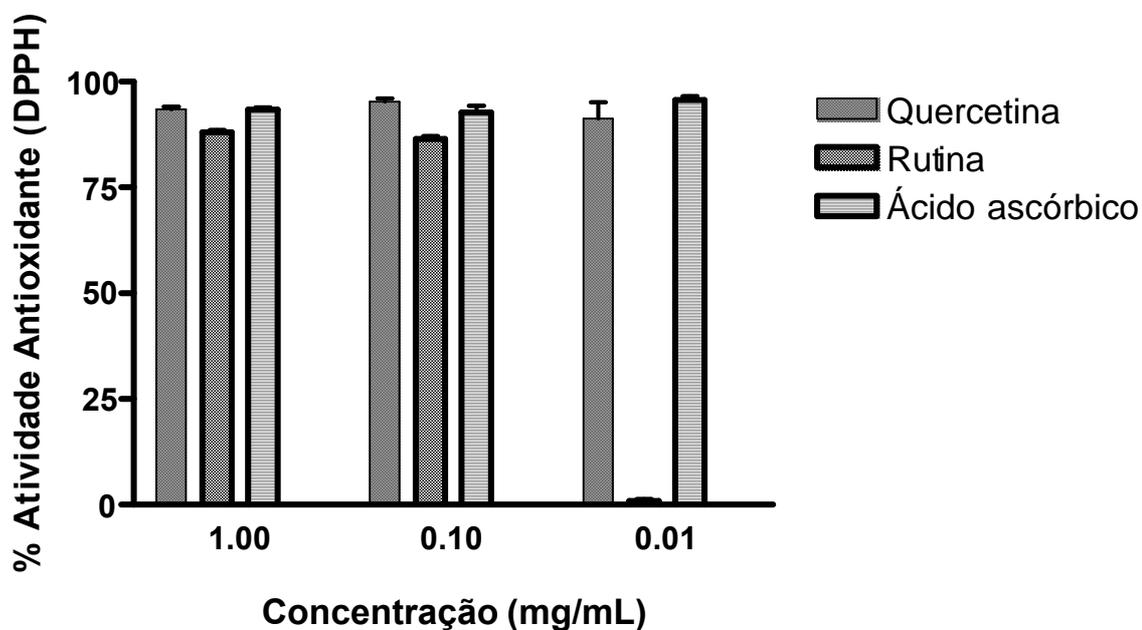


Figura 45: Atividade antioxidante das substâncias naturais quercetina, rutina e ácido ascórbico usadas como controle na comparação com os extratos de *I. batatas* no ensaio com o radical livre DPPH.

4.5.1.2 Atividade Antioxidante dos Clones das Diferentes Variedades Estudadas

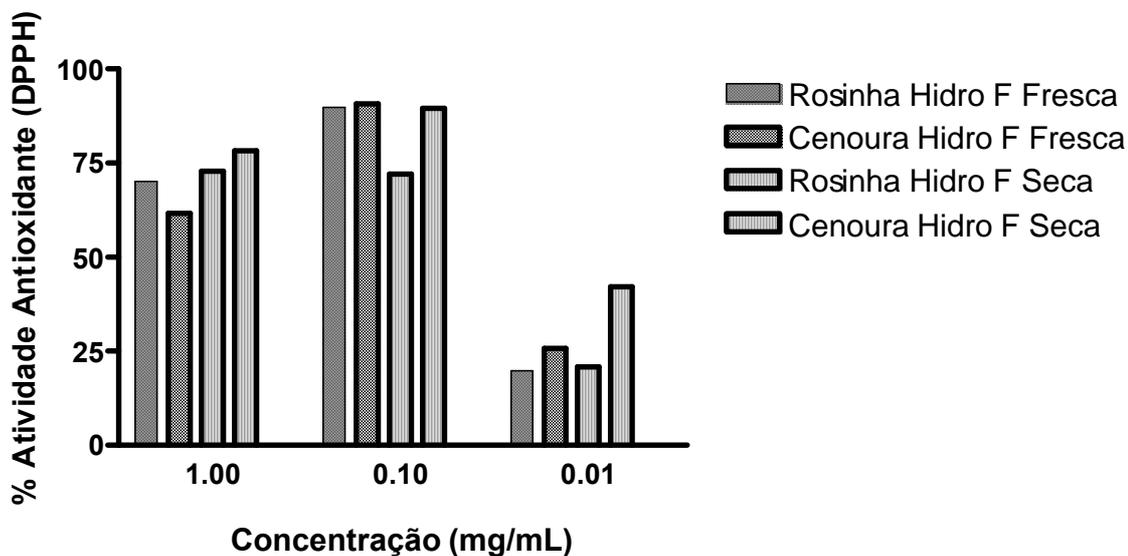


Figura 46: Atividade antioxidante dos extratos de *I. batatas* cultivar Rosinha e Cenoura, primeira coleta, no ensaio com o radical livre DPPH (Alc = alcoólico e Hidro = hidroalcoólico).

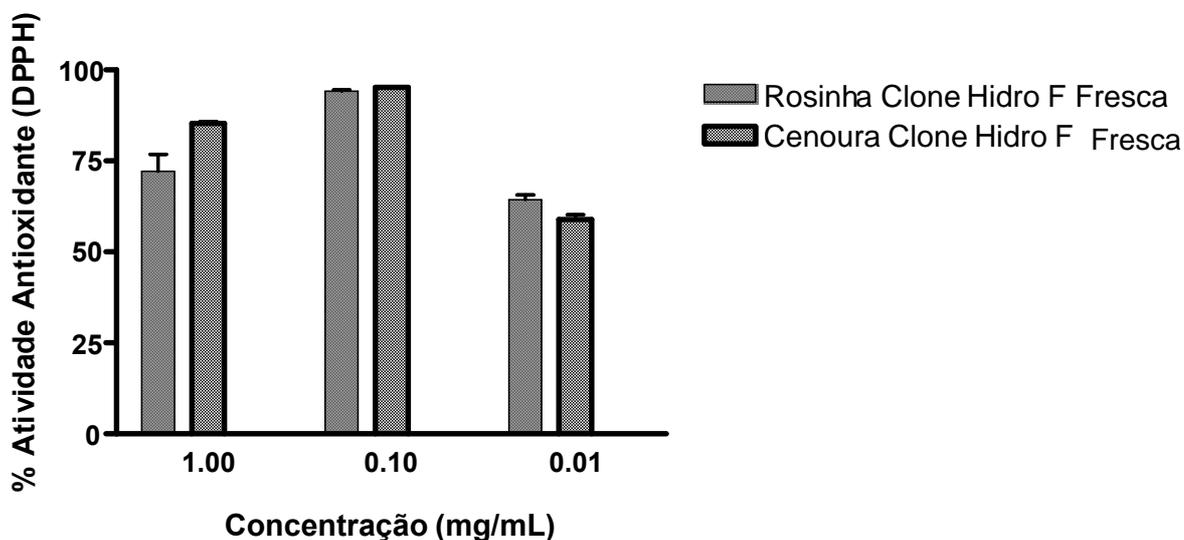


Figura 47: Atividade antioxidante dos extratos de *I. batatas* cultivar Rosinha e Cenoura, segunda coleta (5 meses de aclimatização), no ensaio com o radical livre DPPH.

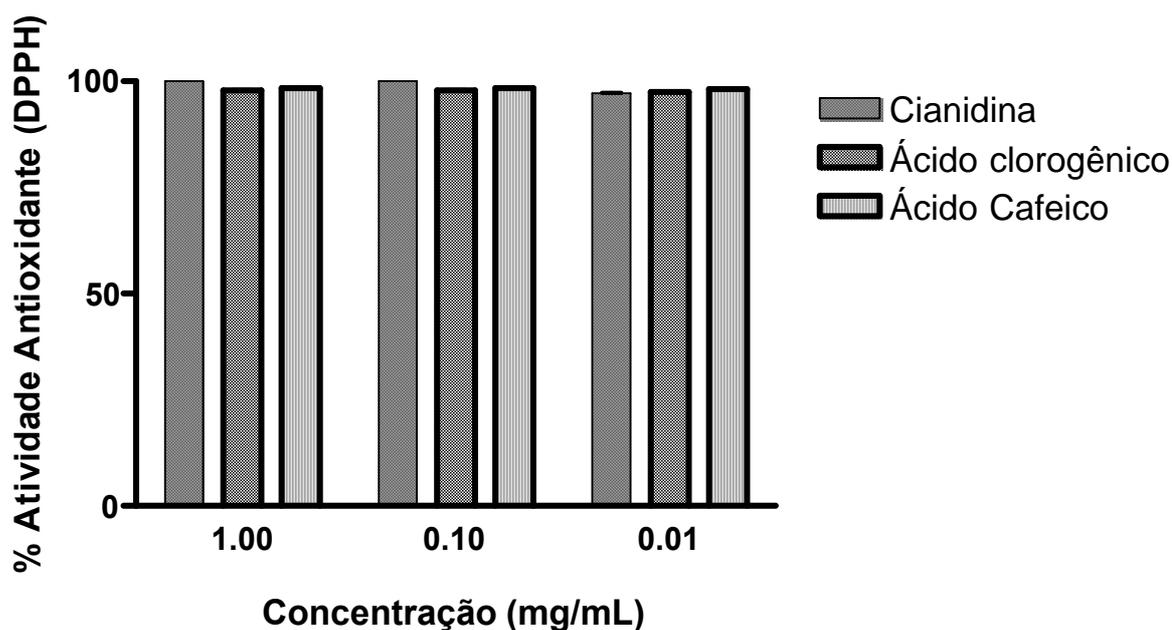


Figura 48: Atividade antioxidante das substâncias identificadas nos extratos de *I. batatas* estudados, cianidina, ácido clorogênico e ácido cafeico, no ensaio com o radical livre DPPH.

Como pode ser observado nas figuras acima, o extrato menos ativo da cultivar Rosinha é o extrato alcoólico das folhas secas (**Figura 42**). Os demais extratos mostraram-se ativos nas duas maiores concentrações testadas. Todos os extratos da cultivar Cenoura mostraram-se ativos nas duas maiores concentrações, mesmo o extrato alcoólico das folhas secas (**Figura 43**). Para cultivar Capivara os extratos preparados a partir de folhas secas mostraram-se mais ativos (**Figura 44**).

A atividade dos extratos dos clones foi semelhante à obtida para os extratos das matrizes (**Figura 46, 47**).

Todos os padrões utilizados mostraram-se altamente ativos, indicando estarem envolvidos na atividade antioxidante dos extratos que os contém (**Figura 48**).

4.5.2 Citotoxicidade em Cultura Celular

A citotoxicidade foi avaliada utilizando o método da liberação da enzima lactato desidrogenase (LDH). Essa é uma enzima citoplasmática que, quando detectada no meio extracelular (meio de cultura), indica sinais de morte celular. Esse ensaio é altamente sensível, pequenas alterações na permeabilidade da membrana celular resultam em aumento dos níveis extracelulares de LDH. Células não-tratadas foram utilizadas como controle negativo e células tratadas com Triton X-100 (detergente) a 0,1 % como controle positivo de liberação de LDH. Os resultados de citotoxicidade estão apresentados como percentual de liberação específica de LDH calculado em relação aos controles.

4.5.2.1 Citotoxicidade em Cultura Celular dos Extratos das Matrizes de *I. batatas*

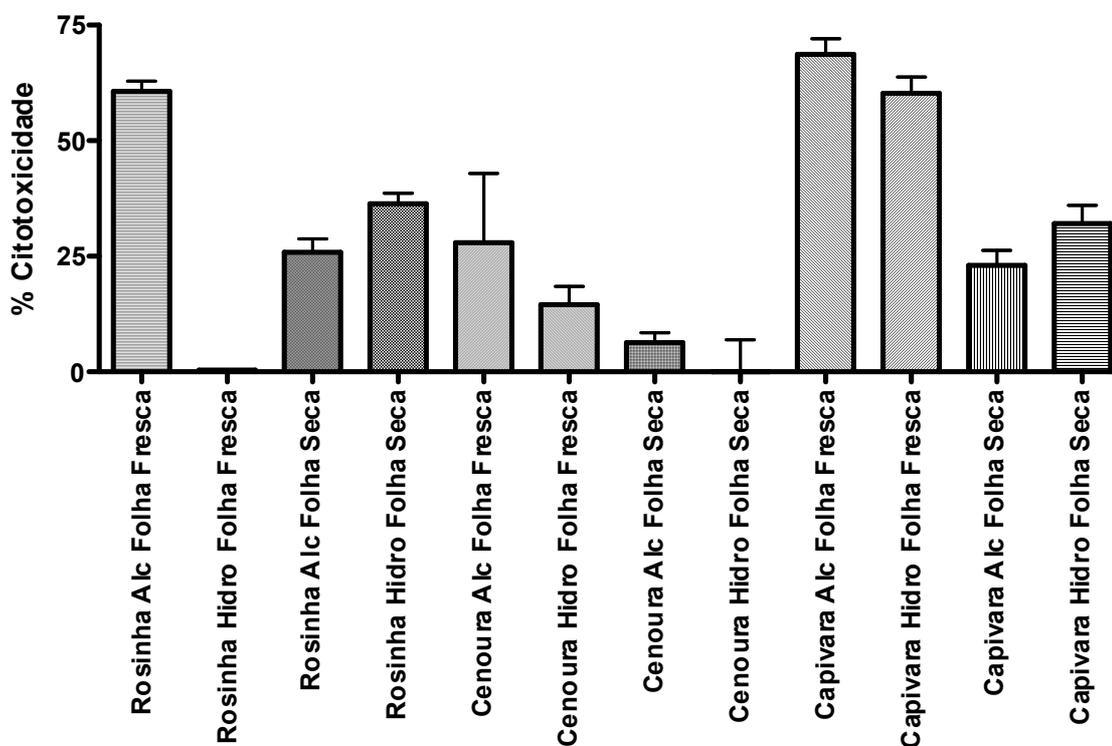


Figura 49: Citotoxicidade dos extratos das matrizes de *I. batatas* a 20 µg/mL em cultura de células de murinos.

Os resultados da figura acima mostram que o extrato hidroalcoólico da cultivar Rosinha folha fresca utilizado no preparo do shampoo anti-queda de cabelos não apresentou citotoxicidade na concentração de 20 µg/mL. Testes mais aprofundados de avaliação de citotoxicidade assim como dos efeitos tóxicos *in vivo* por via tópica serão necessários para a continuidade do desenvolvimento do shampoo.

4.5.2.2 Citotoxicidade em Cultura Celular dos Extratos dos Clones de *I. batatas*

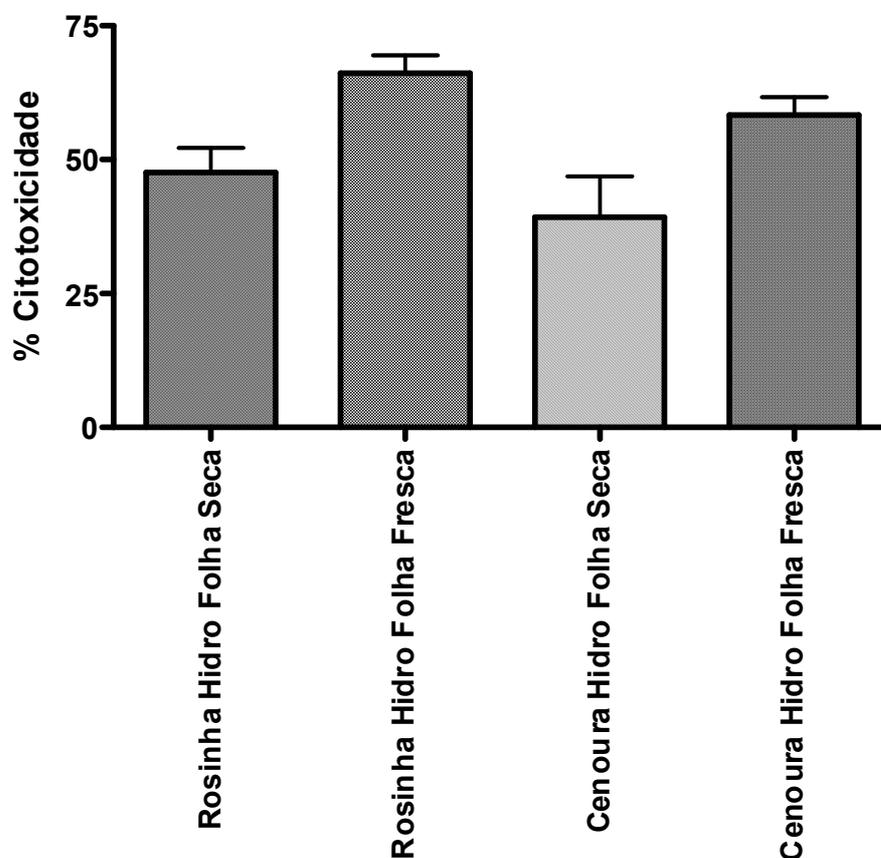


Figura 50: Citotoxicidade dos extratos dos clones de *I. batatas* em cultura de células de murinos.

A figura acima mostra que de uma maneira geral os extratos dos clones foram mais citotóxicos do que os extratos das matrizes, em especial os extratos obtidos de folhas frescas. Porém, outros modelos serão utilizados para aprofundar os testes de toxicidade para uso tópico.

4.5.3 Efeito do Shampoo contendo extrato de *I. batatas* em voluntários humanos

Em etapa preliminar foi realizado um estudo de avaliação do efeito do uso de shampoo contendo extrato de *I. batatas* em três voluntários. Esses voluntários utilizaram o shampoo 3 vezes por semana. Foram feitas fotografias da área capilar pelos voluntários antes de iniciar o tratamento e ao completar 1 mês. Este número reduzido de voluntários e o tempo reduzido de tratamento foram estabelecidos como condições deste estudo preliminar. O protocolo deste ensaio preliminar foi submetido e aprovado no Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos da Universidade Severino Sombra (documento em anexo). Os voluntários preencheram e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido conforme modelo também em anexo. Os dados desse estudo servirão de base para o planejamento de um estudo subsequente ajustando o número de voluntários, incluindo um grupo placebo, ajustando o teor do extrato no shampoo e aumentando o tempo de tratamento.

Durante um mês de uso do shampoo nenhum dos 3 voluntários relatou efeito indesejado como vermelhidão, irritação, prurido ou outros. Todos os três voluntários relataram redução da queda capilar constatada por observação de roupas, roupas de cama e banho e escova. Ainda os três relataram que acreditavam que novos fios capilares haviam crescido em regiões onde antes não se observavam fios.

As fotografias abaixo mostram o estágio de calvície dos voluntários o antes e depois do tratamento capilar com o shampoo. Nas fotos é possível observar os fatos relatados pelos voluntários.



ANTES

DEPOIS

Figura 51: Efeito do shampoo contendo extrato de *I. batatas* no voluntário 1.



ANTES



DEPOIS

Figura 52: Efeito do shampoo contendo extrato de *I. batatas* no voluntário 2.



ANTES



DEPOIS

Figura 53: Efeito do shampoo contendo extrato de *I. batatas* no voluntário 3.

5 CONCLUSÕES

Os primeiros resultados no intuito de identificar uma metodologia e o extrato mais apropriado para extração das substâncias bioativas das folhas das cultivares em estudo foram importantes para otimizar todo o trabalho fitoquímico das cultivares coletadas em campo. A partir desses resultados foi possível concluir:

- Os solventes de maior polaridade (etanol 70 % e 30 % água) foram os mais eficazes na extração de substâncias bioativas quando comparado ao de menor polaridade testado (etanol 100 %).
- A utilização das folhas frescas de *Ipomoea batatas* em cultivo de larga escala viabiliza a questão custo e benefício ao produtor, não sendo necessária a etapa de secagem. Trata-se de algo promissor, pois a espécie em estudo é uma hortaliça muito cultivada em nosso país.
- Além da produção de alimento e biocombustível, a partir da raiz tuberosa, a presente dissertação após estudos fitoquímicos e de atividade biológica, desenvolveu um uso totalmente novo, a partir das folhas de *I. batatas* sem utilização comercial ainda. O produto desenvolvido permite o uso das raízes como alimento e fonte de combustível, aproveitando o que até então era um subproduto, como matéria prima para um fitocosmético, o que tem muito mais valor agregado que um alimento *in natura*.
- A propagação vegetativa *in vitro* de *Ipomoeas batatas* foi adequada para produção de mudas selecionadas com qualidade fitossanitárias, uniformidade, produção rápida e adaptação após transferência para o solo. Tais requisitos são importantes para o desenvolvimento em produções maiores de mudas, sem o impacto sobre populações naturais e dispensando o uso de produtos fitossanitários.
- O clone da cultivar Rosinha de Verdan apresentou melhores resultados de campo, em desenvolvimento foliar e menor tempo de colheita em relação a cultivar Cenoura. Sendo a cultivar, mas indicada para produção de larga escala.
- Foi possível desenvolver uma metodologia para análise e controle de qualidade de extratos de folhas de batata-doce utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os ácidos caféico e clorogênico foram identificados e quantificados nos extratos. Flavonoides foram detectados, mas não identificados. Esta classe foi quantificada como teor total de flavonoides nas amostras. Os metabólitos secundários detectados nos extratos das matrizes foram também identificados nos extratos dos clones aclimatados após 2 meses (coleta 1) e 5 meses (coleta 2). Comparando a análise dos extratos dos clones da cultivar Rosinha é possível observar que a primeira coleta apresenta menor quantidade de metabólitos secundários quando comparada a segunda coleta. Pode-se concluir que a melhor época de colheita é com aproximadamente 5 meses de cultivo.
- A considerável atividade antioxidante e quantidade de compostos fenólicos mostram que a espécie em estudo possui potencial e deve ser alvo de futuras pesquisas visando o isolamento de compostos bioativos para a aplicação em sistema *in vivo*, alimentos e fitocosmética.
- Os resultados preliminares com o shampoo em voluntários demonstram o potencial da *Ipomoea batatas* para futuras pesquisas visando o isolamento e identificação das substâncias que apresentam atividades contra queda de cabelo e o possível desenvolvimento de um novo produto natural para o tratamento capilar.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, J.; RAMASWAMY, H. S. Viscoelastic properties os sweet potato puree infant food. **Journal of Food Engineering**, p. 376-382, 2006.
- ALENCAR, R. G.; PRADO, C. C.; OLIVEIRA, L. M.G.; FREITAS, M. R. F.; SILVA, L. N.M.; NOGUEIRA, J. C. M.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Estudo farmacobotânico e fotoquímico da raiz de *Vetiveria zizanidides* L. Nash (Vetiver). **Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento**, v. 2 (2), p. 1-4, 2005.
- ALI, S. S.; KASOJU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, A.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International** 41:1–15, 2009.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, 2202-2210, 2010.
- ANDRADE, S. R. M. **Princípios da Cultura de Tecidos Vegetais**, Documento 58, Embrapa, 2002.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. **Compostos fenólicos em alimentos** – Uma breve revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.
- ANTIA, B. S.; AKPAN, E. J. et al. Nutritive and Anti-Nutritive Evaluation of Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas*) Leaves. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 5, n. 2, p. 166-168, 2006.
- ARAÚJO, A. I. F.; LIMA, E. P.; SILVA, G. A.; SANTOS, O. H.; SOARES, T. F. Plantas nativas do Brasil empregadas em fitocosmética. **X Jornada de ensino, pesquisa e extensão – JEPEX**, UFRPE, 2010.
- ARCHONDO, A. E. D. L. **Sistematização do desenvolvimento de produtos dermatológicos contendo extrato de *centella asiática* L. (Urban)**. [Tese] São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, 2003.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potencial uses. **Food Chemistry**, Barking, v. 99, p. 191-203, July, 2006.
- BARBOSA, C. A. **Manual de cultivo da batata-doce**. Série Agrícola, Viçosa - MG, p. 44-66, 2008.
- BARRERA, P. Batata-doce: uma das doze mais importantes cultura do mundo, São Paulo, **Ed. Ícone**, p. 93, 1986.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v. 3. p. 84-85, 1991.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 3. Ed. Garching Springer, 2004.

BORBA, A. M. **Efeitos de alguns parâmetros operacionais nas características físicas, físico-químicas e funcionais de extrusados da farinha de batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimento. Piracicaba, julho, 2005.

BORBA, A. M.; MACEDO, M. Plantas medicinais para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta bot. bras.** 20(4): 771-782. 2006.

BRASIL, Ministério da Educação, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, **Cultura da Batata-Doce**, Paraíso, TO, 2009.

BRIDGERS, E. N.; CHINN, M. S.; TRUONG, V. D. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweet potatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. **Industrial Crops and Products** 32, 613-620, 2010.

BROUILLARD, J. R. In: **Anthocyanins a food colors**; Markakis, P., ed.; Academic Press: New York, Cap. 1, p. 263, 1982.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SHENKEL, E. P. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6 ed, Ed. UFRGS, cap. 20, p.519, 2007.

CARVALHO, I. S.; CAVACO, T.; CARVALHO, L. M.; DUQUE, P. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves. **Food Chemistry** 118, p. 384-390, 2010.

CASSANA, F. F. **Caracterização fotossintética e do desenvolvimento de plantas de batata-doce cultivadas *in vitro* e aclimatizadas**. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação do Prof. Dr. José Antonio Petes, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Pelotas, Rio Grande do Sul, Abril, 2007.

CEREDA, M. P.; FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, J. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; VILPOX, D. F.; SARMENTO, S. B. S. Propriedades gerais do amido. Campinas, **Fundação Cargill**, 2001.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA (CNI). **Álcool Combustível**, Série Indústria em Perspectivas, Brasília, 2008.

COSTA, A. S. **Sustentabilidade da Produção de Alecrim pimenta (*Lippia sidoides Cham.*): Micropropagação visando à conservação *in vitro***. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2006.

CHO, J.; KANG, J. S.; LONG, P. H.; JING, J.; BACK, Y.; CHUNG, K. S. Antioxidant and memory enhancing effects of purple sweet potato anthocyanin and cordyceps mushroom extract. **Archives of Pharmacal Research**, 26, 821-825, 2003.

CHOI, J. H.; HWANG, Y. P.; PARK, B. H.; CHOI, C. Y.; CHUNG, C. Y.; JEONG, H. G. Anthocyanins isolated from the purple-fleshed sweet potato attenuate the proliferation of hepatic stellate cells by blocking the PDGF receptor. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, p. 212-219, 2011.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciências agrotécnica**. 29:617-622, 2005.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Métodos para análise de ácido clorogênico. **Quim. Nova**, v. 27, n. 4, p. 586-592, 2004.

DINI, I.; TENORE, G. C. et al., Saponins in *Ipomoea batatas* tubers: isolation, characterization, quantification and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 113, p. 411-419, 2009.

EMBRAPA, **Cultura de batata doce**, dezembro, 2004.

EMBRAPA, Identificação e tecnologia de plantas medicinais da flora de clima temperado, **Circular Técnica** nº 61, 2007.

EMBRAPA, Mutamba *Guazuma ulmifolia*, **Circular Técnica** nº 141, 2007.

EMBRAPA HORTALIÇAS, **Cultura da batata-doce**, 2007.

EMBRAPA, Instalações para Manutenção e Desenvolvimento de Matrizes de Batata-Doce com Alta Sanidade, **Circular Técnica** nº 76, 2008.

FAGUNDES, G. R.; YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo “solo” comercializados em 4 estabelecimentos de Brasília-DF. **Revista brasileira de fruticultura**, Joboticabal, v. 23, n. 3, 2001.

FANG, Y. N., LIU, G. T. Effect of isorhapontigenin on respiratory burst of rat neutrophils. **Phytomedicine**. 9:734-738, 2002.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS . **Dados Agrícolas** de 2007.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT. **Dados Agrícolas** de 2009.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo, **Atheneu**, 2001.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica**, 42(3): 369-394, 2006.

FERNANDEZ-PANCHOL, M. S.; VILLANO, D.; TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARRILLA, M. C. Antioxidant activity of phenolic compounds: From in vitro results to in vivo evidence. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2008.

FERREIRA, A. O. **Guia prático de farmácia magistral**. 3ª.ed., Pharmabooks, São Paulo, v.1, p. 409, 2008.

FERREIRA, P. P. A. **O Gênero *Ipomoea* L. (Convolvulaceae) no Rio Grande do Sul.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Botânica, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

FIGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura.** São Paulo: Agronômica Ceres, p. 338, 2000.

FONSECA, M. J. O.; SOARES, A. G.; FREIRE JUNIO, M.; ALMEIDA, D. L.; ASCHERI, J. L. R. Effect of extrusion-cooking in total carotenoids content in cream and orange flesh sweet potato cultivars. **Hortic. Bras.**, v. 26, n. 1, jan-mar, 2008.

FORMARIZ, T. P.; SPERA, L. J.; URBAN, M. C. C.; GREMIÃO, M. P. D. Dermatite seborréica: causas, diagnósticos e tratamento. **Infarma**, n. 16, p. 77-80, 2005.

GHARRAS, H. E. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, 44, 2512-2518, 2009.

GONZALO, J. C. R.; ALONSO, M. G. Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y actividad antioxidante. **Alimentación, Nutrición y Salud**, v. 9, n. 2, p. 31-38, 2002.

HALLIWELL, B. The wanderings of a free radical. **Free Radical Biology & Medicine**, 46:531–542, 2009.

HAN, K. H.; SHIMADA, K.; SEKIKAWA, M.; FUKUSHIMA, M. Anthocyanin-rich red potato flakes affect serum lipid peroxidation and hepatic SOD mRNA level in rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 71, 1356-1359, 2007.

HEIM, K. E. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal Nutrition Biochemistry**. 13:572-584, 2002.

HURTADO-FERNÁNDEZ, H.; GOMEZ-ROMERO, M.; CARRASCO-PANCORBO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 53, 1130-1160, 2010.

IAPAR – Batata-doce IAPAR 69, **Instituto Agronômico do Paraná**, 1993.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal**, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas>>. Acesso em: 17/11/2009.

ÍNDICE TERAPÊUTICO FITOTERÁPICO (ITF). **Ervas Medicinais**. Ed.1, Petrópolis, RJ, p. 93, EPUB, 2008.

ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C. HIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.

ISHIDA, H.; SUZUNO, H.; SUGIYAMA, N.; INNAMI, S.; TADOKORO, T.; MAEKAWA, A. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Poir), **Food Chemistry**, n. 68, p. 359-367, 2000.

ISLAM, M. S.; YOSHIMOTO, M.; YAHARA, S.; OKUNO, S.; ISHIGURO, K.; YAMAKAWA, O. Identification and characterization of foliar polyphenolic composition in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50, 3718-3722, 2002.

ISLAM, S. Sweetpotato Leaf: Its Potential Effect on Human Health and Nutrition. **J. Food Sci.**, v. 71, p. R13-R21, 2006.

KANO, M.; TAKAYANAGI, T.; HARADA, K.; MAKINO, K.; ISHIKAWA, F. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki. **Bioscience, Biotechnology**, 69, 979-988, 2005.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – The millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, 36, 703-725, 2001.

KEDE, M. P. V.; SABATOVICH, O. **Dermatologia Estética**. Atheneu, São Paulo, 2004.

KOLEVA, L. I.; VAN BEEK, T. A.; LINSSEN, J. P. H.; De GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**. 13:8-17, 2002.

KONCKAK, I.; OKUNO, S.; YOSHIMOTO, M.; YAMAKAWA, O. Caffeoylquinic acids generated in vitro in a high-anthocyanin-accumulating sweet potato cell line. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 287-292, 2004.

KROTH, L. L.; DANIELS, J.; PIEROBOM, C.; R. Degenerescência da Batata-doce no Rio Grande do Sul. *Rev. bras. Agrociência*, v. 10, n. 1, p. 79-82, 2004.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; GARCIA-PARILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 691-693, 2004.

LAKO, J.; TRENERRY, V. C.; WAHLQVIST, M. WATTANAPENPAIBOON, N.; SOTHEESWARAN, S.; PREMIER, R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chemistry** 101, 1727-1741, 2007.

LAKSHMANAN, P.; GEIJSKES, R. J.; AITKEN, K. S.; GROF, C. P. L.; BONNETT, G. D.; SMITH, G. R. Sugarcane biotechnology: the challenges and opportunities. *in vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. Heidelberg, v. 41, p. 345-363, 2005.

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia Aplicada**. Medfarma, São Paulo, 2004.

LIMA, V. L. A. G.; PINHEIRO, I. O.; NASCIMENTO, M. S.; GOMES, P. B.; GUERRA, N. B. Identificação de antocianidinas em acerolas do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco, **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 26, n. 4, p. 927-935, 2006.

LIANDA, R. L. P. **Perfil de substâncias fenólicas de méis brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência e avaliação do potencial antioxidante.** Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química. Área de concentração – Química dos Produtos Naturais, Seropédica, RJ, 2009.

LIU, S. C.; LIN, J. T.; YANG, D. J. Determination of cis and trans α - and β -carotenoids in Taiwanese sweet potatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) harvested at various times. **Food Chemistry** 116, 605-610, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.**

LUENGO, R. F. A.; PARMAGNANI, R. M.; PARENTE, M. R.; LIMA, M. F. B. F. **Tabela de composição nutricional de hortaliças.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000.

MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. **The Systematic Identification of Flavonoids.** New York: Springer-Verlag, 1970.

MAGALHÃES, J. S.; SANTOS, M. D. M.; CUNHA FILHO, F. N.; BLUMER, L.; GUERRA, M. P.; TORRES, A. C. Indução de embriogênese somática em genótipos de batata-doce. **Hort. bras.** v. 24, n. 1, jan-mar, 2006.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.

MALACRIDA, R. C.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Ceppa**, v. 24, n.1, p. 59-82, 2006.

MARIOD, B. A.; IBRAHIM, R. M.; ISMAIL, M.; ISMAIL, N. Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. **Food Chemistry** 118:120–127, 2009.

MARTÍNEZ, F.; GONZÁLEZ, G. J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrition Hosp**, v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002.

MASSAROTO, J. A.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; SILVA, R. R.; GOMES, A. R. V. A. Reação de clones de batata-doce ao *Meloidogyne incognita* raça 1. **Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2010.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas**, Ed. 4^a, Editora UFC, 2002.

MATSUI, T.; EBUCHI, S.; KOBAYASHI, M. et al. Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from *Ipomoea batatas* L. cultivar Ayamurasaki can be achieved through the alphasglucosidase inhibitory action. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 50, 7244-7248, 2002.

MATSUI, T.; EBUCHI, S.; FUKUI, K.; MATSUGANO, K.; TERAHARA, N.; MATSUMOTO, K. Caffeoylsophorose, a new natural α -glucosidase inhibitor, from red Vinegar by fermented purple-fleshed sweet potato. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 68, 2239-2246, 2004.

MAZZA, M.; POMPONI, M.; JANIRI, L.; BRIA, P.; MAZZA, S. Omega -3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: Na overview. **Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry**, 31, 12-26, 2007.

MELO, A. S.; COSTA, B. C.; BRITO, M. E. B.; AGUIAR NETTO, A. O.; VIÉGAS, P. R. A. Custos e rentabilidade na produção de batata-doce nos perímetros irrigados de Itabaiana, Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, nº 2, p. 119-123, abr-jun, 2009.

MELO, W.F.; SILVA, J. B. C.; MOITA, A. W. Avaliação da produtividade de materiais de batata-doce ricos em provitamina A junto a agricultores familiares. **Hortic. bras.**, v. 28, n. 2, julho 2010.

MEIRA, M.; DAVID, J. M. et al. Constituintes Químicos de *Ipomoea subincana* MEISN. **Quim. Nova**, Vol. 31, Nº 4, p. 751-754, 2008.

MIRANDA, J. E. C. de; FRANCA, F. H.; CARRIJO, O. A.; SOUZA, A. F.; AGUILAR, J. A. E. **Cultivo de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.)**. Brasília, DF, EMBRAPA-CNPQ, (Instruções Técnicas 7), p. 7, 1987.

MONTEIRO, A. B.; MASSAROTO, J. A.; GASPARINO, C. F.; SILVA, R. R.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; FILHO, J. C. S. Silagens de cultivares e clones de batata-doce para alimentação animal visando sustentabilidade da produção agrícola familiar. **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 2, nº 2, out, 2007.

MONTES, S. M. N. M.; FIRETTI, R.; GOLLA, A. R.; TARSITANOS, M. A. A.; Custo e rentabilidade da Batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) na região do Oeste do estado de São Paulo: estudo de caso. **Informações Econômicas**, SP, v. 36, abr. 2006.

MUDNIC, I.; MODUN, D.; RASTIJA, V.; VUKOVIC, J.; BRIZIC, I.; KATALINIC, V.; KOZINA, B.; MEDIC-SARIC, M.; BOBAN, M. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. **Food Chemistry**, 119, 1205-1210, 2010.

MURASHIGE, T. E.; SKOOG, F. A revise medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue culture. **Physiol Plant**, 37:80-82, 1962.

NACKZ, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, p. 8-18, 2004.

NEGRÃO, L. P. C.; URBAN, M. L. P. Álcool como “commodity” internacional. **Economia e Energia**, n. 47, p. 8-18, 2005.

NIEDERWIESER, J.C. **Guide to Sweet potato Production in South África**. Pretoria: ARCLNR, p. 96, 2004.

OLIVEIRA, A. P.; SILVA, J. E. L.; PEREIRA, W. E.; BARBOSA, L. J. N.; OLIVEIRA, A. N. P. Características produtivas da batata-doce em função de doses de P₂O₅ de espaçamentos e de sistemas de plantio. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 611-617, jul-ago., 2006.

OLIVEIRA, M. K. T.; BEZERRA NETO, F.; CÂMARA, F. A.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, R. M. O. Multiplicação in vitro de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam). **Revista Caatinga**, v. 21, n. 4, p. 129-134, 2008.

OLIVEIRA, E. O. S.; COLLIER, K. F. S.; MOTA, G. M. F.; ELY, B. P.; PEREIRA, F. R. Plantas medicinais usadas pela comunidade Kalunga do quilombo do Engenho de Dentro em Cavalcante – GO para tratamento de afecções bucais. **Revista Cereus**, n.4, on line, dez. 2010.

PAVLAK, M. C. M. **Estudo da fermentação do hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae***. Dissertação apresentada ao Curso de

Pós-Graduação em Agroenergia da Universidade Federal do Tocantis para obtenção do Título de Mestre em Agroenergia. Palmas, 2010.

PAZMIÑO-DURÁN, A. E.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E.; GLÓRIA, B. A. Anthocyanins from oxalis triangularis as potential food colorants. **Food Chemistry**, 75(2), 211-216, 2001.

PILLA, M. A. C.; AMOROZO, M. C. M.; FURLAN, A. Obtenção e uso das plantas medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi-Mirim, SP, Brasil. **Acta bot. bras.** 20(4): 789-802, 2006.

QUEIROGA, R. C. F.; SANTOS, M. A.; VIEIRA, C. P. G.; SILVA, M. C. Fisiologia e produção de cultivares de batata-doce em função da época de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 371-374, jul-set, 2007.

RAMOS, R. F. **Comparações produtiva, econômica e energética de sistemas convencional, orgânico e biodinâmico de cultivo de batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP – Campus Botucatu, para obtenção do título de Mestre em agronomia – Área de Concentração em Energia na Agricultura. Botucatu, São Paulo, março, 2004.

RATTY, A. K.; DAS, N. P. Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation: structure activity relationship. **Biochem. Med. Metab. Biol.**, v. 39, p. 69-79, 1998.

RIBEIRO, N.; GODINHO, A. M. M.; MARQUES, T. A. Produção de glicose a partir do amido da batata-doce por hidrólise ácida. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. especial, 2009.

RIGOTTI, M. **Farmácia Verde Resgate da Sabedoria Popular**. Projeto a cura pelas plantas, 2010.

RITTER, M. R.; SOBIERAJSKI, G. R.; SCHENKEL, E. P.; MENTZ, L. A. Plantas utilizadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 2, p. 51-62, jul./dez., 2002.

RIVITTI, E. A. Alopecia areata: revisão e atualização. **An Bras. Dermatol.**, 80 (1), p. 57-68, 2005.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUZA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade Antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27: 53-60, 2007.

ROESLER, P. V. S. O.; GOMES, S. D.; MORO, E.; KUMMER, A. C. B.; CEREDA, M. P. Produção e qualidade de raiz tuberosa de cultivares de batata-doce no oeste do Paraná. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 117-122, 2008.

ROSA, F. F. **Superação da dormência de sementes e cultivo *in vitro* de Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.)**. Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal, área de concentração Silvicultura, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Florestal. Santa Maria, RS, 2009.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. **Annual Review of Nutrition**. 22:19–34, 2002.

ROSTAGNO, H. S. Tabelas Brasileiras para Aves e suínos – Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 2ed. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, p. 186, 2005.

RUMBAOA, R. G. O.; CORNAGO, D. F.; GERONIMO, I. M. Phenolic content and oxidant capacity of Philippine sweet potato (*Ipomoea batatas*) varieties. **Food Chemistry** 113, 1133-1138, 2009.

SAIGUSA, N.; TARAHARA, N.; OHBA, R. Evaluation of DPPH- radical-scavenging activity and antimutagenicity and analysis of anthocyanins in an alcoholic fermented beverage produced from cooked or raw purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* cv. Ayamurasaki) roots. **Food Science and Technology Research**, 11, 390-394, 2005.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. 10:308-313, 2004.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. **Fitoterapia racional: Um guia para as ciências da saúde**, Barueri, Manole, p. 386, 2002.

SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. **Cultura da batata doce**. In: CEREDA, M. P.: Agricultura: Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, São Paulo, Cargill, v. 2, p. 449-503, 2002.

SILVA, J. D. T.; MULLER, M. C. Uma integração teórica entre psicossomática, stress e doenças crônicas de pele. **Estudos de Psicologia**, 24(2), p. 247-256, abril/junho, 2007.

SILVA, M. E. R.; FERNANDES, J. B. et al. Constituintes químicos de *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae), **Sociedade Brasileira de Química**, 2009.

SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. **Cultura da batata doce** (*Ipomoea batatas* L.). Brasília: EMBRAPA-CNPq, 2004 (Sistema de produção n.6). Disponível em <http://www.cnpq.embrapa.br/sisprod/batata doce>. Acesso em: 28 dez. 2010.

SILVA, J. C. **Performance agronômica de genótipos de batata-doce obtidos de sementes botânica com potencial para produção de etanol**. Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, em cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, 2010.

SILVEIRA, M. A. **Batata-doce: A Bioenergia da Agricultura Familiar**, p. 19, 2008.

SILVESTRE, J. M. S.; THOMAZINHO, F.; SARDINHA, W. E.; PEROZIN, I. S.; MORAIS FILHO, D. Necrose cutânea induzida por antagonistas da vitamina K. **J. Vasc. Bras**, v. 8, n. 4, 2009.

SISTEMA BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS – **SBRT** – Rio de Janeiro: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006. Disponível em: <http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt424.pdf>. Acesso em: 12 de Fev. de 2010.

SOARES, K. T.; MELO, A. S. de.; MATIAS, E. C. **A cultura da batata-doce** (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). João Pessoa: EMEPA-PA, p. 26, Documentos, 41, 2002.

SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. Phenolic as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, 579 (1-2), p. 200-213, 2005.

SOUZA, A. B. Avaliação de cultivares de batata-doce quanto a atributos agronômicos desejáveis. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras3, v. 24, p. 841, out/dez, 2000.

SOUZA, V. M. **Ativos Dermatológicos**. v. 3, Tecnopress, São Paulo, 2004.

STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, v. 30, p. 3268-3295, Dec, 2007.

SUDA, I.; OKI, T.; MASUDA, M. Direct absorption of acylated anthocyanin purple-fleshed sweet potato into rats. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, 50, 1672-1676, 2002.

TAKAHATA, Y.; KAI, Y.; TANAKA, M.; NAKAYAMA, H.; YOSHINAGA, M. Enlargement of the variances in amount and composition of anthocyanin pigments in sweet potato storage roots and their effect on the differences in DPPH radical-scavenging activity. **Scientia Horticulturae** 127, p. 469-474, 2011.

TAMAKI, K., TAMAKI, T.; SUZUKI, Y. Deodorisation of off-odour during sweet potato juice production by employing physical and chemical deodorants. **Food Chemistry** 105, 454-461, 2007.

TAMIR, B.; TSEGA, W. Effects of different levels of dried sweet potato (*Ipomoea batatas*) leaves inclusion in finisher ration on feed intake, growth, and carcass yield performance of Roos broiler chicks. **Trop Anim Health Prod**, n. 42, p. 687-695, 2010.

TEOW, C. C.; TRUONG, V. D.; McFEETERS, R. F.; THOMPSON, R. L.; PECOTA, K. V.; YENCHO, G. C. Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. **Food Chemistry** 103, 829-838, 2007.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: Usar papel ou solução? **Quim. Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, Embrapa, Brasília, 1998.

TRUONG, V. D.; DEIGHTON, N.; THOMPSON, R. T.; McFEETERS, R. F.; DEAN, L. O.; PECOTA, K. V.; YENCHO, G. C. Characterization of Anthocyanins and Anthocyanidins in Purple-Fleshed Sweet potatoes by HPLC-DAD/ESI-MS/MS. **J. Agric. Food Chem**, 58, 404-410, 2010.

VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **IHERINGIA, Sér. Bot.**, Porto Alegre, v. 61, n. 1-2, p. 83-103, jan./dez. 2006.

VIANA, D. J. S. **Produção e qualidade de raízes, ramas e silagem de ramas de clones de batata-doce em diferentes locais e épocas de colheita**. Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre. Diamantina, 2009.

VICENTINO, A. R. R.; MENEZES, F. S. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(3): 384-387, Jul/Set, 2007.

VILEGAS W.; CARDOSO, C. A. L. **Controle químico de qualidade de fitoterápicos e plantas medicinais**. In: YUNES R. A.; CECHINEL-FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Itajaí: Univali, p. 82-157, 2007.

WANG, M.; XIONG, Y.; ZENG, M.; LI, H.; ZHANG, T.; LIANG, Y. GC-MS Combined with Chemometrics for Analysis of the Components of the Essential Oils of Sweet Potato Leaves. **Chromatographia**, 71, 891-897, 2010.

WEN, D.; LI, C.; DI, H.; LIAO, Y.; LIU, H. A universal HPLC method for the determination of phenolic acids in compound herbal medicines. **J. Agric. Food Chem**, 53, 6624-6629, 2005.

WILKINSON, J. B.; MOORE, R. J. *Harry & Cosmetology*. 7th. ed., New York: **Chemical Publishing**, 1982.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: Antioxidants or Signalling Molecule? **Free Radical Biology & Medicine**, 36 (7), p. 838-849, 2004.

WU, X.; SUN, C.; YANG, L.; ZENG, G.; LIU, Z.; LI, Y. β -carotene content in sweet potato varieties from China and the effect of preparation on β -carotene retention in the Yanshu n° 5. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 9, p. 581-586, 2008.

WU, D. M.; LU, J.; ZHENG, Y. L.; ZHOU, Z.; SHAN, Q.; MA, D. F. Purple sweet potato colour repairs D-galactose-induced spatial learning and memory impairment by regulating the expression of synaptic proteins. **Neurobiology of Learning and Memory**, 90, 19-27, 2008.

XU, W.; LIU, L.; SUN, B. H. W.; YE, H.; MAB, 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** 23, 599-604, 2010.

YAZIGI, L.; ANDREOLI, S. B.; GODINHO, S. M. Estudo do manejo do estresse em pacientes acometidos por alopecia areata. **Psicologia em Estudo**, Maringá, v. 14, n. 1, p. 93-99, jan./mar., 2009.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Health aspects of functional grape seed constituents. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 9, p. 422-433, 2004.

YOSHIMOTO, M.; OKUNO, S.; YOSHINAGA, M.; YAMAKAWA, O.; YAMAGUCHI, M.; YAMADA, J. Antimutagenicity of sweet potato (*Ipomoea batatas*) roots. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 63, 537-541, 1999.

ZABALETA, J. P.; ANCIUTI, M. A.; CHIELLE, Z. G.; GONÇALVES, M. C. Utilização de resíduos de batata-doce na alimentação de aves coloniais. **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 4, n. 2, nov, 2009.

ZHENG, W.; CLIFFORD, M. Profiling the chlorogenic acids of sweet potato (*Ipomoea batatas*) from China. **Food Chemistry** 106, 147-152, 2008.

ANEXOS

ANEXO A: Protocolo de Autorização do Conselho de Ética de Pesquisa em Humanos da Universidade Severino Sombra	73
ANEXO B: Termo de Consentimento Livre dos Voluntários	74
ANEXO C: Cromatogramas dos extratos hidroalcoólicos das folhas frescas das 3 cultivares	76
ANEXO D: Análises dos padrões utilizados para comparação de tempo de retenção e perfil no ultravioleta	79



Fundação Educacional Severino Sombra
Universidade Severino Sombra



Comitê de Ética em Pesquisa

Vassouras, 29 de Novembro de 2010.

COMUNICADO CEP 0159/2010

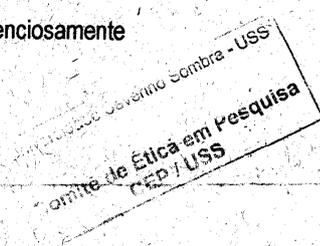
À

Professora Luciana Santos de Oliveira

Prezada Professora,

Comunicamos que o Projeto intitulado "ESTUDO DE TRÊS VARIEDADES DA ESPÉCIE IPOMOEA BATATAS L.(CONVOLVULACEAE) POTENCIALMENTE ÚTEIS EM COSMETOLOGIA: ASPECTOS BIOTECNOLÓGICO E QUÍMICO", foi APROVADO pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP.

Atenciosamente




Prof. Arnaldo Risman
Vice-Coordenador do CEP-USS
MATR. 6740-7cep@uss.br

Obs.: Favor dar ciência a sua equipe.

IMPORTANTE: Após concluir a pesquisa, envie uma copia para o e-mail: relatoriocep@uss.br

TESTE DE SHAMPOO ANTIQUEDA

FICHA DE VOLUNTÁRIO

Nome:	
End:	
Bairro:	Cidade
Idade:	
Fumante:	
Histórico familiar de alopecia:	
Doenças:	
<input type="checkbox"/> Coração	<input type="checkbox"/> Hipertensão
<input type="checkbox"/> Diabete	<input type="checkbox"/> Disfunção Hormonal
<input type="checkbox"/> Outras	
Início do Tratamento: / /	Término: / /
Tel:	
E-mail	
OBSERVAÇÕES:	

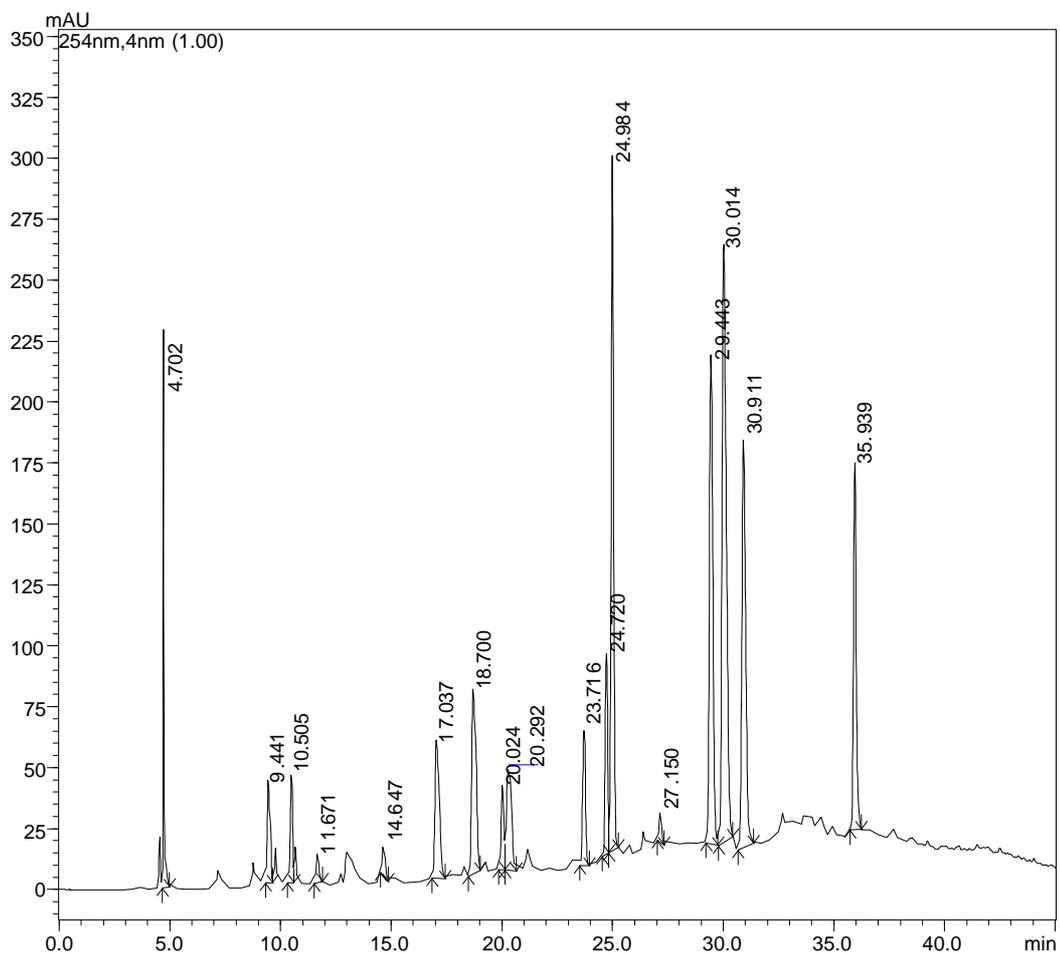
Normas de Uso:

- 1- O voluntário receberá 1Lt de shampoo (gratuito) para ser utilizado em teste capilar;
- 2- O produto deverá ser utilizado até o seu término;
- 3- O voluntário deverá aplicar o produto no couro cabeludo e massagear por alguns minutos e deixar dez minutos no cabelo;
- 4- Depois enxaguar bem;
- 5- Utilizar o produto 3 vezes na semana;
- 6- Em caso de alergia suspender imediatamente o tratamento e notificar nas observações;
- 7- Durante o tratamento anotar todas as alterações observadas;
- 8- O voluntário deverá tirar uma foto da cabeça sem focalizar o rosto antes de iniciar o tratamento e uma no final do tratamento, independente do resultado;
- 9- O voluntário está ciente de que está participando de um teste científico, os resultados podem ser positivos ou negativos;
- 10- A espécie medicinal em uso trata-se de sigilo científico não podendo ser revelada.

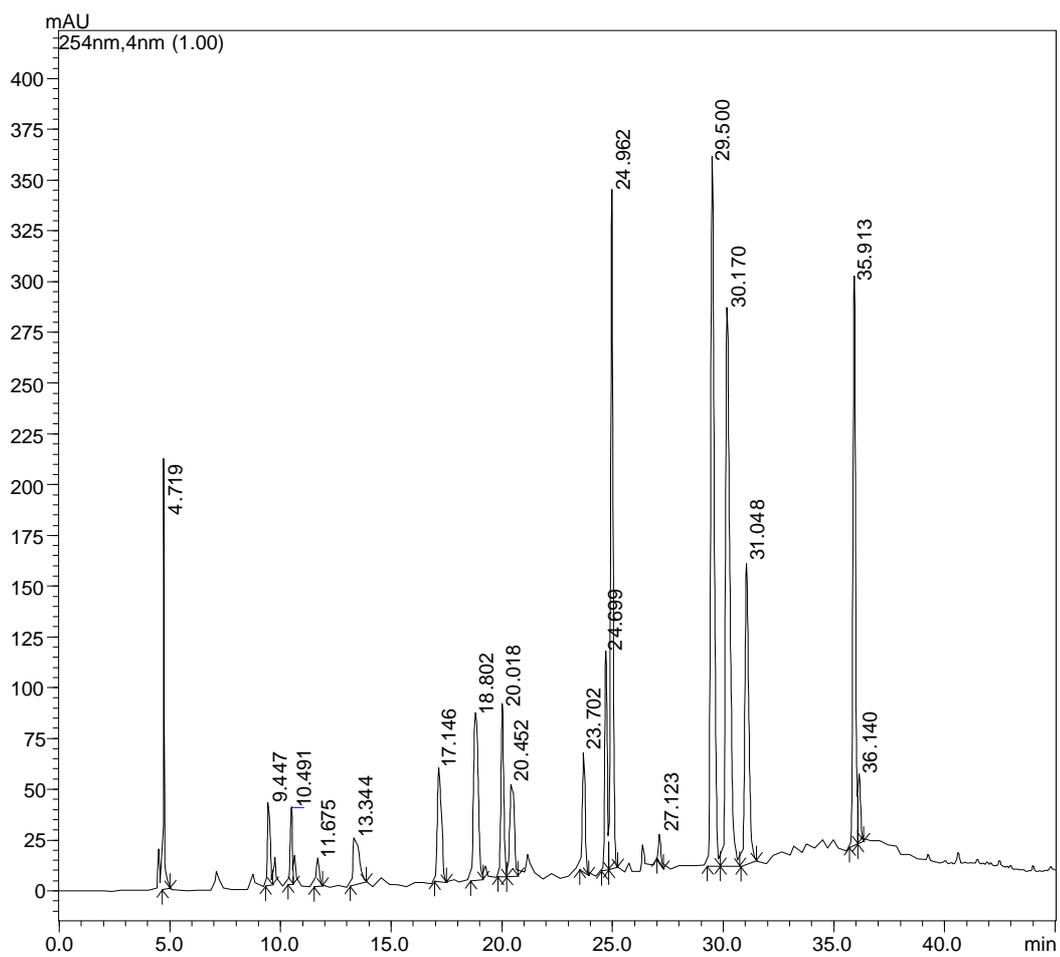
Assinatura do voluntário

Rio de Janeiro
2010

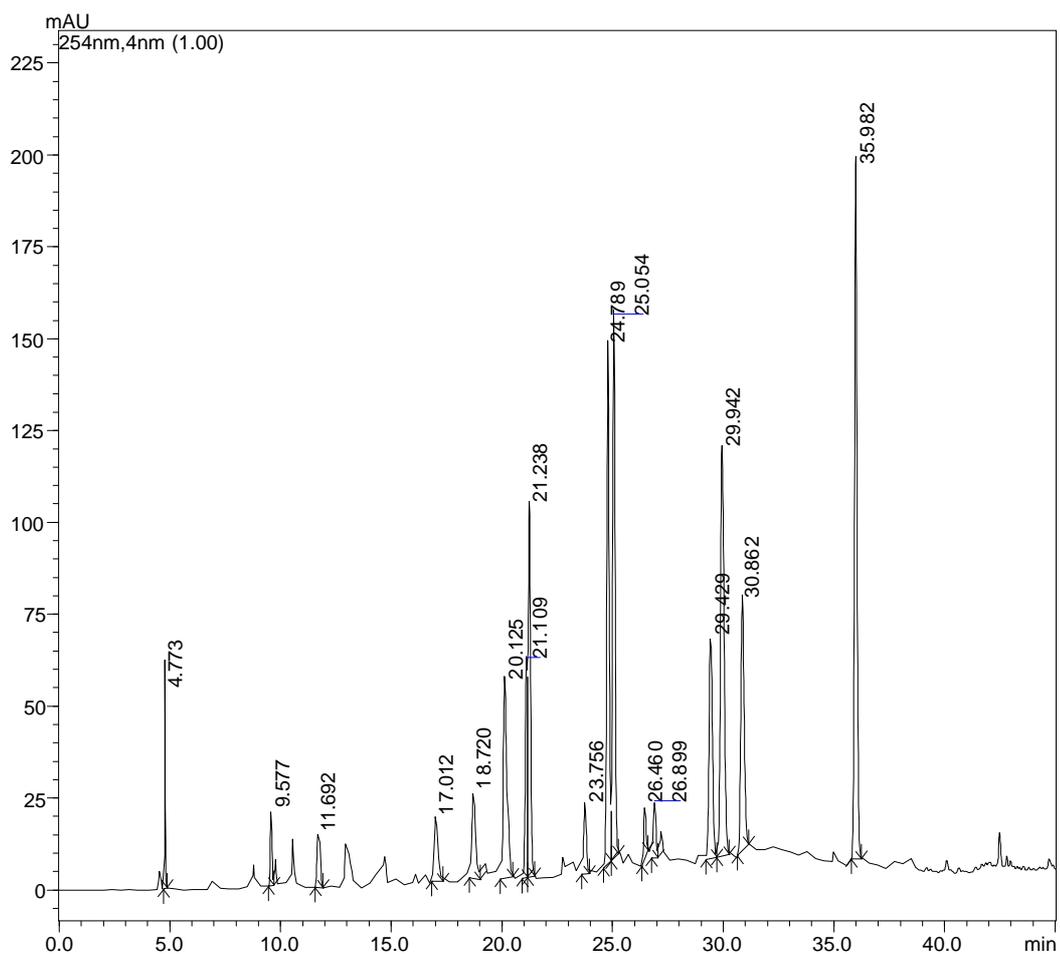
CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS FOLHAS FRESCA DAS 3 CULTIVARES



Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico Folha Fresca de *Ipomoea batatas* cultivar ROSINHA (254 nm). Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 μ L.



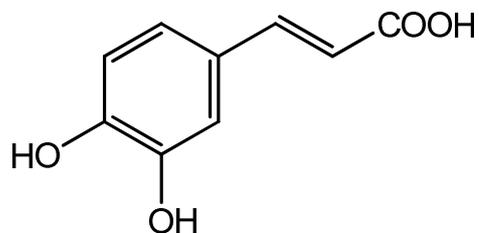
Cromatograma do Extrato Hidroalcolico Folha Fresca de *Ipomoea batatas* cultivar CENOURA – 254 nm. Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 μ L.



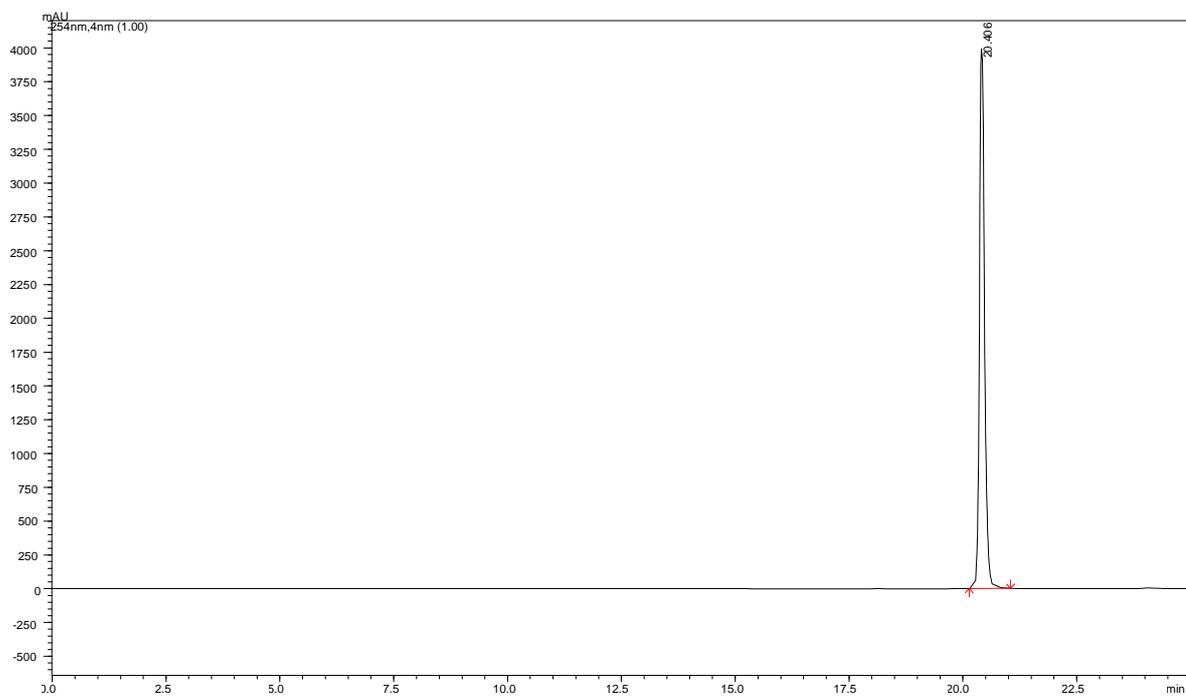
Cromatograma do Extrato Hidroalcolico Folha Fresca de *Ipomoea batatas* cultivar CAPIVARA – 254 nm. Concentração da amostra 10 mg/mL, volume injetado 20 µL.

ANÁLISES DOS PADRÕES UTILIZADOS PARA COMPARAÇÃO DE TEMPO DE RETENÇÃO E PERFIL NO ULTRAVIOLETA

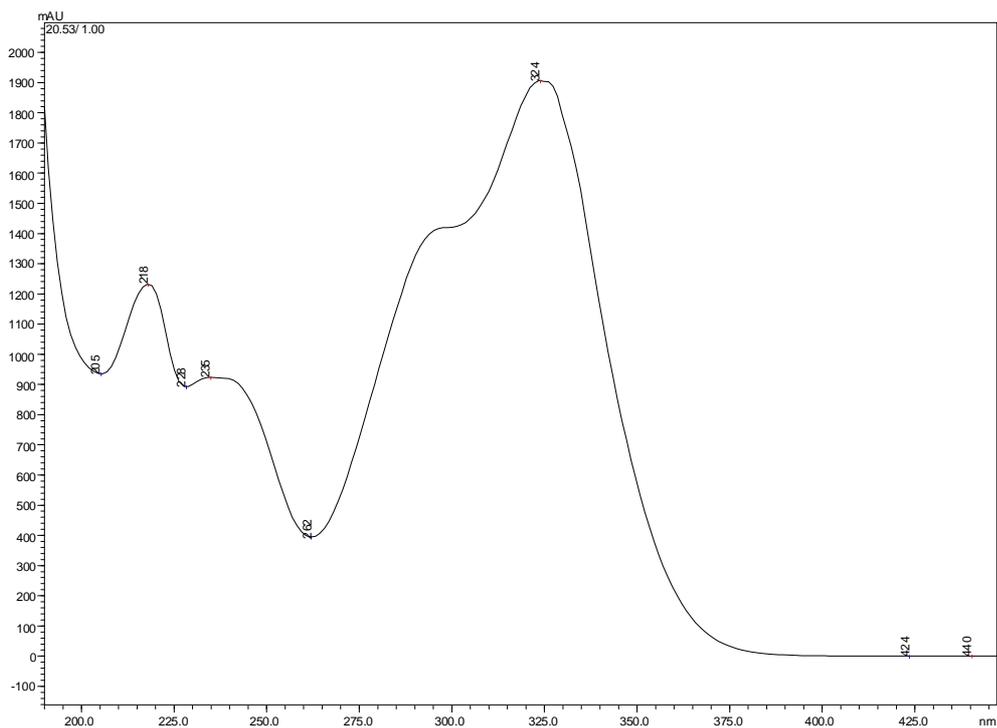
Ácido Caféico



Estrutura molecular do ácido caféico

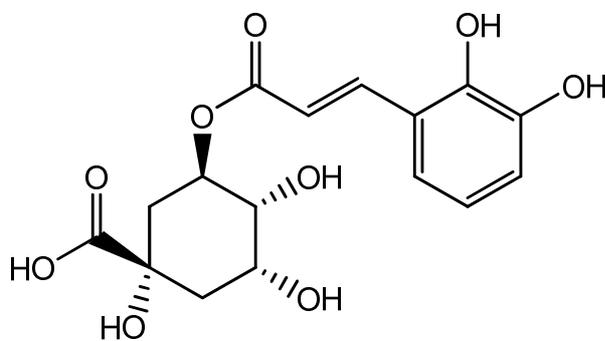


Cromatograma do padrão do ácido caféico (Tr = 20,406 minutos).

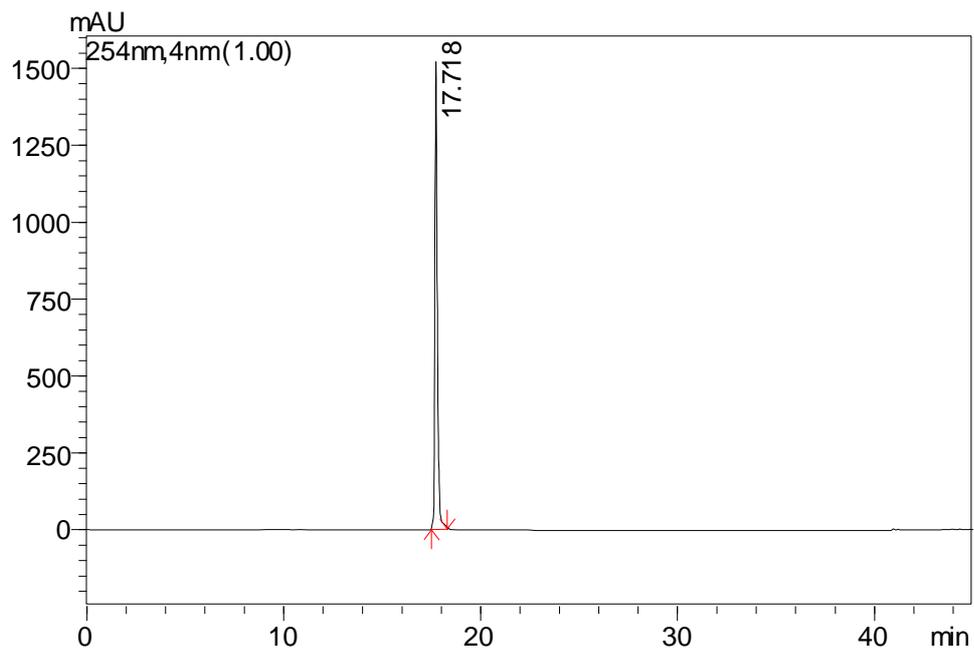


Espectro de Ultravioleta do padrão do ácido caféico.

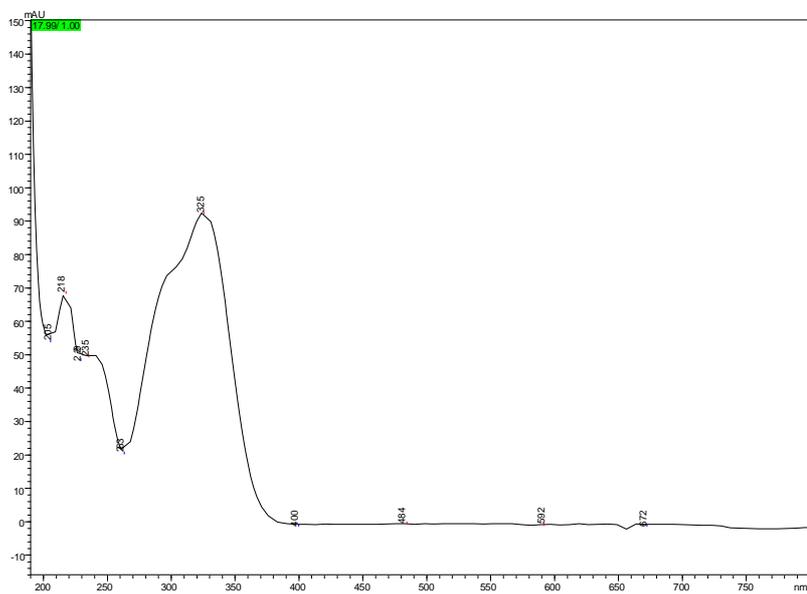
Ácido Clorogênico



Estrutura molecular do ácido clorogênico.

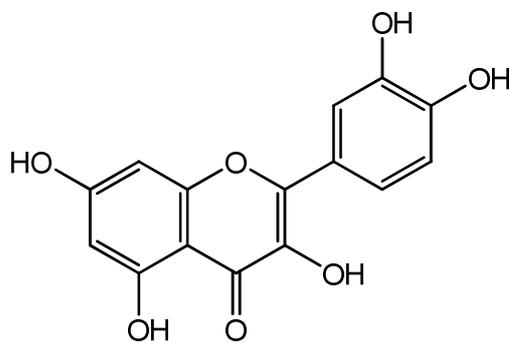


Cromatograma do padrão do ácido clorogênico (Tr = 17,718 minutos).

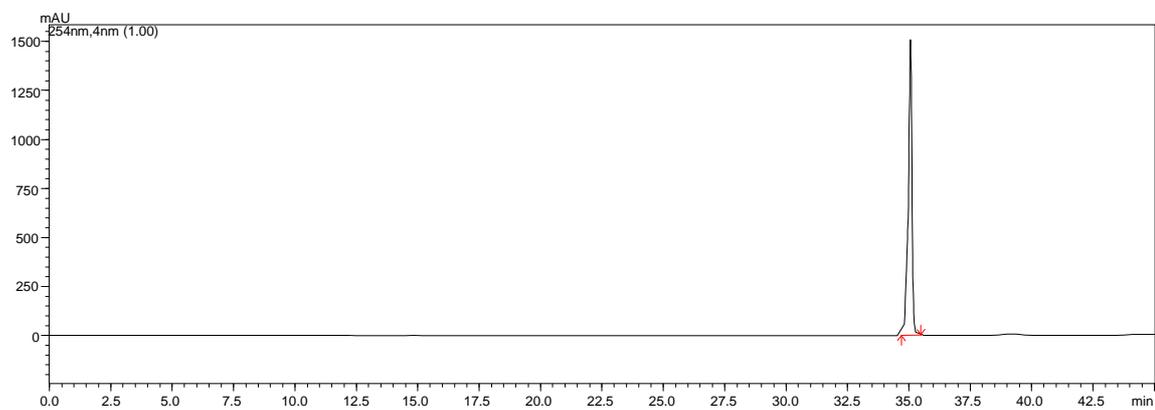


Espectro de Ultravioleta do padrão do ácido clorogênico.

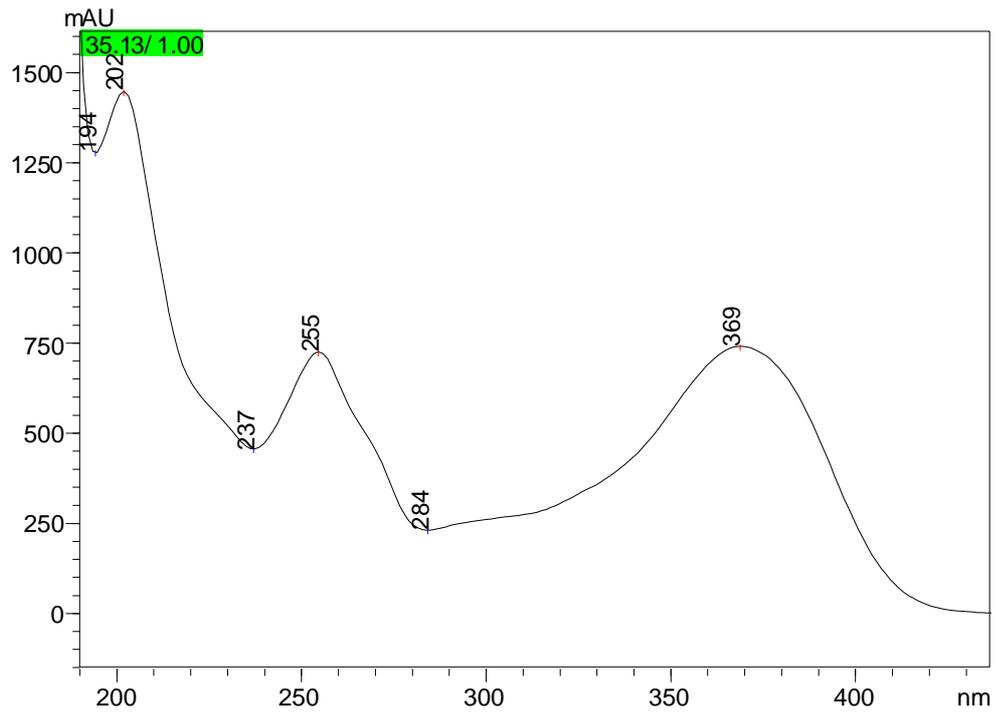
Quercetina



Estrutura molecular da quercetina.

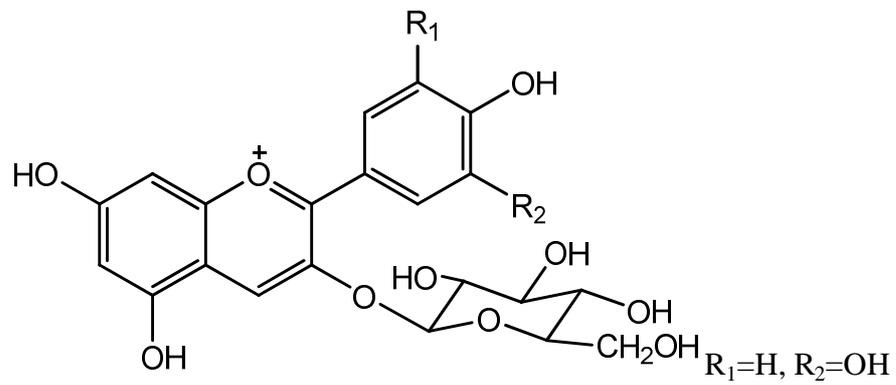


Cromatograma do padrão da quercetina (Tr = 35,130 minutos).

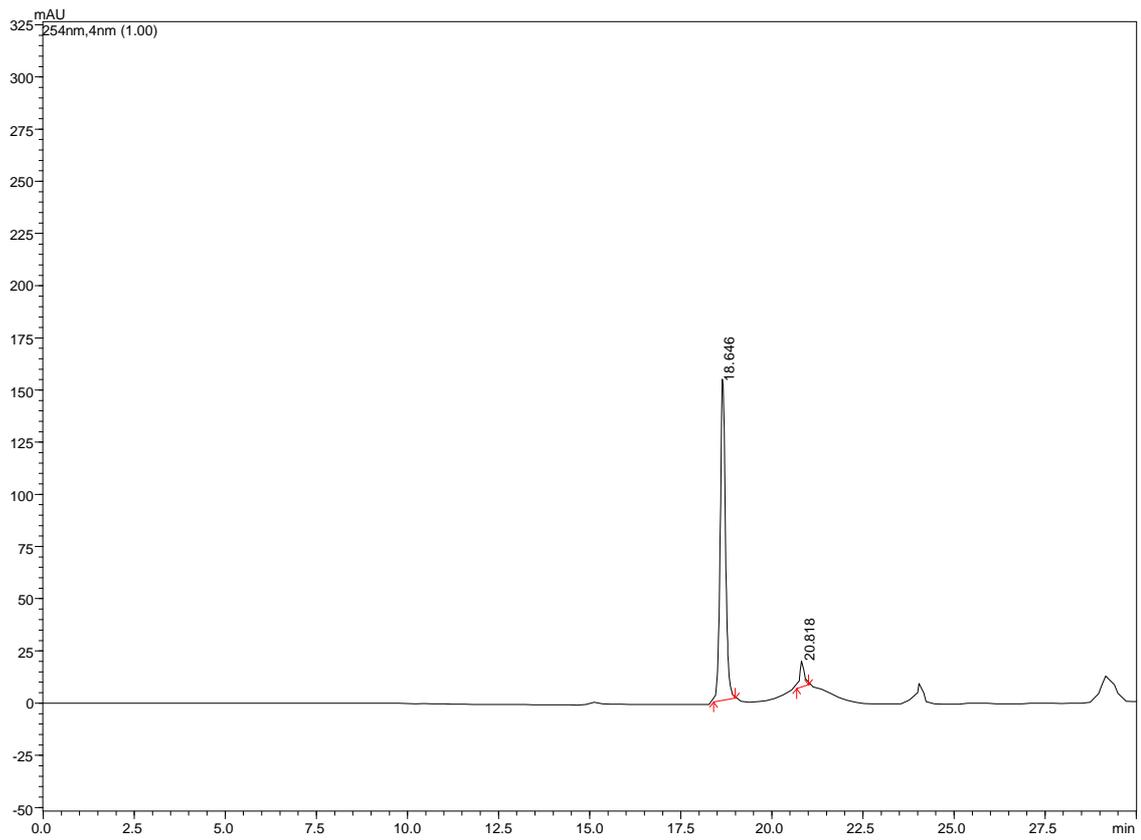


Espectro de Ultravioleta do padrão da quercetina.

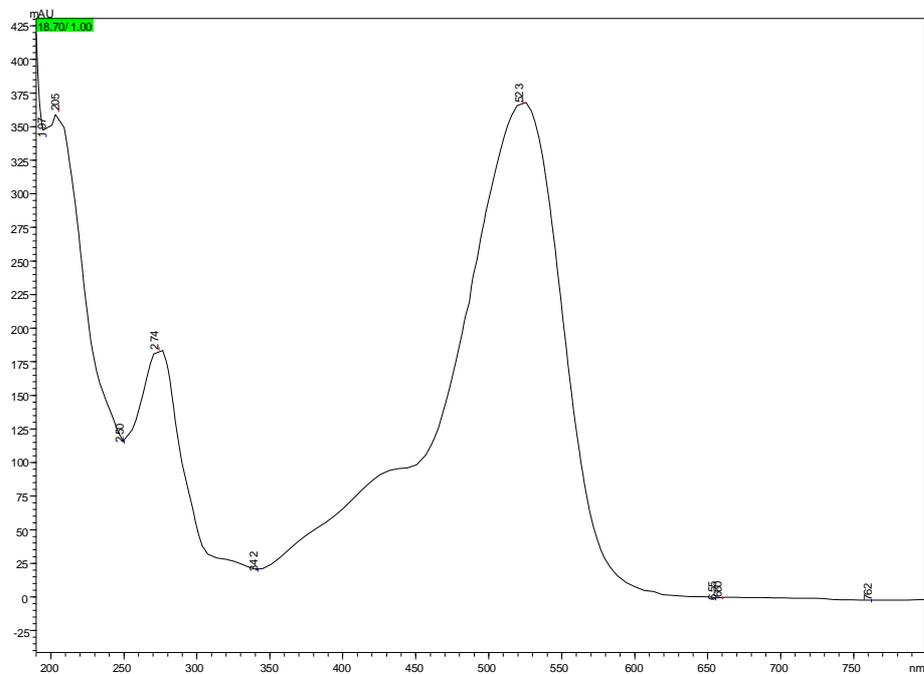
Cianidina-3-glicosídeo



Estrutura molecular da cianidina-3-glicosídeo.



Cromatograma do padrão da cianidina-3-glicosídeo (Tr = 18,646).



Espectro de Ultravioleta do padrão da cianidina-3-glicosídeo.