



Lorena Cunha Machado

Caracterização química de *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson

Efeito do tratamento térmico (cozedura) e da liofilização na composição em compostos
bioativos de extratos

Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, orientada pela Professora Doutora Maria Beatriz Prior P. Oliveira
e pela Professora Doutora Maria da Conceição G. B. O. Castilho e apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro de 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

"Da vida não quero muito... Quero apenas saber que tentei tudo o que quis, tive tudo o que pude, amei tudo o que valia e perdi apenas o que no fundo, nunca foi meu" ...

Carla de Paula

DEDICATÓRIA

A vida é uma longínqua caminhada. Durante a minha caminhada em Portugal quero agradecer as pessoas que durante o meu percurso académico foram imprescindíveis para a realização deste projeto.

Primeiramente agradeço a Deus pela vida, saúde, força e inteligência que me concedeu a cada dia e a cada decorrer deste estudo.

Aos meus pais Corina e Valdir, a quem dedico esta tese, pelo amor incondicional, por ensinarem me a lutar sempre pelos meus objetivos e ideais, e por sempre acreditarem em mim.

Às minhas irmãs Karine e Walquíria, por todo gesto de carinho, amizade e apoio.

À minha prima Darlene Gonçalves, que para mim, foi uma fonte de inspiração para prosseguir os meus estudos.

Aos amigos Manuel Freire e António Novais por todo o apoio dispensado.

Ao meu namorado Rafael Fernandes pela compreensão ao longo da realização desta.

A todos os meus familiares que estão distantes e que não foram aqui mencionados.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras Prof. Doutora Beatriz Oliveira e Prof. Doutora Conceição Castilho, por toda a atenção, disponibilidade e dedicação.

À Mestre Anabela Costa, à Doutora Ana Vinha e a toda a equipa da FFUP por toda a ajuda prestada durante a realização do meu trabalho experimental.

RESUMO

Neste trabalho, determinou-se a composição nutricional e química do inhame pé de elefante (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson) fresco, cozido e liofilizado. A determinação da composição nutricional incluiu a avaliação da humidade, proteínas, lípidos e cinzas. Foi ainda determinado o teor em compostos fenólicos totais, flavonoides e taninos totais por métodos espectrofotométricos, a partir de diferentes extratos obtidos com diferentes solventes (água, etanol e uma mistura hidroalcoólica). Para a determinação da atividade antioxidante foram usados dois métodos distintos: atividade bloqueadora de radicais livres de 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH[•]) e poder antioxidante através da redução do íon férrico (FRAP).

Relativamente ao perfil nutricional, os resultados mostraram que a amostra liofilizada apresentou maior teor de proteínas, enquanto a amostra cozida apresentou maior teor de gordura. O inhame liofilizado apresenta valores superiores em fenólicos totais, taninos e flavonoides (exceto no extrato hidroalcoólico). Quanto à atividade antioxidante, o inhame liofilizado apresentou uma maior atividade antioxidante, exceto no extrato etanólico que apresentou uma menor atividade antioxidante.

Este estudo contribuiu para o conhecimento do valor nutricional deste tubérculo utilizado na gastronomia Timorense, especialmente em situações de maior carência de alimentos. A sua produção poderá ser uma alternativa economicamente viável, poderá ter um grande potencial na indústria alimentar em vários países, inclusive no Brasil, devido às suas características nutricionais, composição em compostos bioativos e atividade antioxidante. Pode ainda ser valorizada pela sua conotação a efeitos fisiológicos e a tratamentos em medicina tradicional.

Independentemente do tratamento dado à amostra, o inhame é uma fonte natural rica em compostos bioativos, com elevada atividade antioxidante.

Palavras-chave: Inhame Pé de Elefante; *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson; Valor nutricional; Compostos bioativos; Atividade antioxidante; Processos de conservação

ABSTRACT

In this work the nutritional and chemical composition of Elephant foot Yam (*Amorphophallus paeoniifolius*) were evaluated fresh, boiled and lyophilized. The evaluation of the nutritional composition included the determination of water, proteins, fat, and ash. Total phenolic compounds, flavonoids and tannins were also evaluated by spectrophotometric methods from extracts obtained with different solvents (water, ethanol, and a mixture of water/ethanol). For the determination of antioxidant activity two different methods were applied: blocking activity of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH •) and the antioxidant power by reducing the ferric iron (FRAP).

In what concerns to the nutritional profile, the results showed that the freeze dried sample had a higher protein content, while the boiled one a higher content in fat. The lyophilized yam shows the highest values in total phenolics, tannins and flavonoids (except in hydro-alcoholic extract). For antioxidant activity by DPPH and FRAP, lyophilized sample showed higher antioxidant activity, except the ethanolic extract that showed a lower antioxidant activity.

This study contributes to the knowledge of the nutritional value of this tuber used in Timor gastronomy, especially in food shortage periods. Its production can be a viable alternative with a great potential in the food industry of several countries, due to its nutritional characteristics, composition of bioactive compounds and antioxidant activity. This product can also be valorized by its physiological effects and uses in traditional medicine.

Regardless of the treatment of the sample, the yam is a rich natural source of bioactive compounds with high antioxidant activity.

Keyword: Elephant Foot Yam, *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson, Nutritional Value, Bioactive compounds, Antioxidant activity, Conservation procedures.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
ÍNDICE.....	10
ÍNDICE DE TABELAS	12
ÍNDICE DE FIGURAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS.....	14
Introdução.....	15
1 Introdução.....	16
Revisão Bibliográfica	19
2 Revisão Bibliográfica	20
2.1 Alimentos promotores de saúde	20
2.1.1 Antioxidantes Fitoquímicos.....	22
2.1.1.1 Compostos Fenólicos.....	23
2.1.1.A Flavonoides.....	24
2.2 Radicais Livres e Stresse Oxidativo.....	25
2.2.1 Principais Espécies Reativas de Oxigénio.....	27
2.3 Peroxidação lipídica	29
2.4 Oxidação das Proteínas	30
2.5 Modificação e quebra das ligações do ADN.....	31
3 Caracterização do Inhame <i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst.) Nicholson	32
3.1 Descrição morfológica	33
3.1 O Cultivo.....	35
3.3 Composição química.....	37
3.4 Benefícios do Inhame para a saúde.....	38
3.5 Propriedades Antioxidante do Inhame	39
Objetivos do Estudo	41
4 Objetivos	42
Parte Experimental	43

1. Materiais e Métodos	44
1.1 Obtenção e tratamento das amostras para análise nutricional e antioxidante	44
1.1.1 Análise Nutricional.....	44
1.1.2 Preparação dos extratos para a determinação da atividade antioxidante	46
1.2 Reagentes e Padrões	47
1.3 Equipamentos.....	48
1.4 Análise Nutricional	49
1.4.1 Determinação do teor de humidade	49
1.4.2 Determinação do teor de proteína pelo método de Kjeldahl	50
1.4.3 Determinação do teor de gordura total pelo método de Soxhlet	52
1.4.4 Determinação do teor de cinzas.....	53
1.4.5 Determinação do teor de hidratos de carbono totais por diferença	54
1.5 Caracterização dos compostos fitoquímicos	55
1.5.1 Compostos fenólicos totais.....	55
1.5.1.1 Flavonoides Totais	55
1.5.1.2 Taninos.....	56
1.6 Atividade antioxidante	57
1.6.1 Capacidade de neutralização do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH•);.....	57
1.6.2 Avaliação do poder antioxidante por redução do ião férrico (FRAP);..	57
Resultados E Discussão	58
2 Resultados e Discussão.....	59
2.1 Análise Nutricional	59
2.2 Compostos fitoquímicos	61
Conclusões.....	66
3 Conclusões.....	67
Perspetivas Futuras	68
4 Perspetivas Futuras	69
5 Referências Bibliográficas.....	70

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Análise nutricional do inhame, resultados expressos em peso seco.....	60
Tabela 2. Análise dos compostos bioativos do inhame em diferentes condições de extracção, à temperatura de 40 °C	63
Tabela 3. Análise da atividade antioxidante do inhame em diferentes condições de extração.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principais classes de fitoquímicos naturais. Para alguns grupos mais estudados apresentam-se exemplos (Adaptado de Liu, 2003).....	23
Figura 2. Flavonoides. Estrutura química básica dos quatros grupos mais encontrados nos alimentos.....	24
Figura 3. Tubérculos de <i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst) Nicholson proveniente de Timor de Leste	32
Figura 4.Aspecto da Planta (http://www.en.wikipedia.org)	33
Figura 5.Inflorescência da planta (http://www.en.wikipedia.org).....	34
Figura 6.Mapa do Distrito de Baucau.....	44
Figura 7.Extratos aquoso, Hidroalcoólico e etanólico obtidos do inhame fresco, cozido e liofilizado	46
Figura 8.Analisador de Humidade.....	49
Figura 9.Bloco Digestor e Destilador Automático usado no Método de Kjeldahl	51
Figura 10.Montagem do dispositivo Soxlet para a Extração da Gordura.....	52
Figura 11. Mufla utilizada para a determinação das cinzas.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN = Ácido desoxirribonucleico

AVC = Acidente Vascular Cerebral

DPPH• = radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo

ERO = Espécies reativas de oxigénio

OH = Hidroxilo

$^1\text{O}_2$ = Oxigénio Singleto

RFC = Reagente de Folin-Ciocalteu

RL = Radical Livre

TPTZ = 2,4,6-tripiridil-s-triazina

Introdução

1 Introdução

Apesar dos grandes avanços da medicina moderna, a medicina tradicional ainda constitui o tratamento de doenças da maioria da população dos países em desenvolvimento. Há ainda populações que mesmo com a medicina ocidental disponível, preferem recorrer à medicina popular.

A fitoterapia ou terapia com plantas medicinais foi uma das primeiras técnicas de cura e de prevenção de doenças utilizada pelo homem. As plantas medicinais são assim chamadas por apresentarem, por meio do uso popular e ou através de estudos científicos, propriedades curativas.

Uma planta durante a sua germinação e crescimento metaboliza e produz centenas de substâncias e compostos que, juntamente com a água e outras substâncias absorvidas pela planta, circulam por um sistema vascular (como ocorre no organismo humano). Estas substâncias produzidas e assimiladas têm a função de nutrir e proteger a planta durante a sua vida e podem ser encontradas em todas as partes do vegetal: raiz, caule, ramos, folhas, flores, sementes e frutos (Teske & Tentini, 1994; Pimentel, 1998; Gimenes, 2009).

Atualmente, sabe-se que algumas destas substâncias produzidas pelas plantas podem ter ação no organismo humano e, se utilizadas de maneira correta, podem atuar como remédio, seja ele preventivo, paliativo ou curativo. Assim, estas substâncias são chamadas princípios ativos e, na maioria das vezes, uma planta apresenta mais de um princípio ativo, o que lhe confere diversas propriedades medicinais. No entanto, há um grupo de substâncias ativas que determina a sua ação principal, de forma que uma planta medicinal, mesmo possuindo diversas propriedades, apresentará sempre uma que sobressai.

A indústria farmacêutica percebeu que seria possível isolar estes princípios ativos e produzi-los em larga escala. Surgiram, desta forma, muitos medicamentos conhecidos, como o ácido acetilsalicílico (Aspirina®), anti-inflamatório e analgésico isolado da casca de *Salix alba* (salgueiro), reproduzido e sintetizado artificialmente em laboratório.

Além disso, o composto isolado tem um comportamento diferente no organismo comparativamente à administração do extrato vegetal (fitocomplexo). Muitas vezes são descritas reações tóxicas no ativo isolado que, durante a administração do extrato

vegetal não ocorriam, sendo o contrário também possível, bem como surgirem diferenças terapêuticas. Isso porque outras substâncias presentes na planta podem interferir em sua terapêutica e ocorrência de efeitos adversos (Pimentel, 2008; Teske & Tentini, 1994; Gimenes, 2009).

A quantidade e a qualidade dos compostos bioativos também variam de acordo com o tempo de maturação da planta, terra cultivada, água de rega, tempo de sol, frequência das chuvas, momento da colheita, habitat, presença ou não de agrotóxicos, adubo, modo de armazenamento e conservação da planta (Gimenes, 2009). Portanto, o controle destes aspectos é fundamental. Isso só foi percebido graças ao avanço da tecnologia nesta área que descreveu características e comportamentos que vieram acrescentar/justificar o conhecimento popular sobre essas plantas. No momento em que se validam cientificamente essas propriedades, consegue-se garantir a sua eficácia, a segurança e o uso correto de uma planta, com riscos reduzidos de reações adversas.

O conhecimento dos processos metabólicos e o efeito das plantas sobre a fisiologia humana é fundamental para aplicações das plantas à medicina. Os efeitos colaterais dos medicamentos convencionais, a eficiência de drogas originárias de plantas e o crescente interesse em produtos naturais têm aumentado o número de trabalhos que avaliam os efeitos benéficos de determinadas plantas/ espécies de plantas (Bibu *et al.*, 2010). Os medicamentos fitoterápicos têm tido um grande desenvolvimento e são a esperança para muitos pacientes (Singh *et al.*, 2009)

Nas últimas décadas, a procura de alimentos que previnam doenças tem despertado grande interesse por parte dos consumidores, dos investigadores e das diferentes indústrias, nomeadamente a alimentar e a farmacêutica.

A preocupação em consumir alimentos promotores de saúde, a aquisição de bons hábitos alimentares, a prevenção do processo de envelhecimento precoce e até a prevenção do desenvolvimento de certas doenças aumentou significativamente nas últimas décadas. Em contrapartida, diversos fatores como o sedentarismo, consumo excessivo de produtos industrializados, uso de produtos químicos ou o elevado nível de stresse são cada vez mais comuns, promovendo o aparecimento de doenças crónicas, tais como o cancro, diabetes, doenças cardiovasculares, aterosclerose, entre outras (Moraes & Colla, 2006).

Têm sido realizados diversos estudos com o objetivo de comprovar que a ingestão de alimentos com propriedades funcionais, tem ação na prevenção de doenças. Estudos epidemiológicos mostram que uma dieta saudável pode reduzir o risco de

doenças crónicas não transmissíveis como a aterosclerose e o cancro (Halliwell *et al.*, 2000). Este efeito protetor advém da presença de macronutrientes presentes nas plantas (proteínas, hidratos de carbono complexos e lípidos) mas também de compostos originários do seu metabolismo secundário, denominados genericamente fitoquímicos (Bravo, 1998; Halliwell *et al.*, 2000). Estas substâncias são capazes de agir como protetores do stresse oxidativo (conjunto de condições intra e extracelulares que promovem um excesso de radicais livres) atuando como agente quelante de radicais livres (RL) e/ou moduladores dos mecanismos de defesa antioxidante do sistema de reparação do ADN (Ratnam *et al.*, 2006).

O inhame pé de elefante (*Amorphophallus paeniifolius* (Dennst.) Nicholson) é um exemplo de alimento consumido por determinadas populações, em situações de escassez de alimentos, mas também utilizado na medicina Ayurvedica (Dey *et al.*, 2012). Sabe-se que é rico em amido e compostos bioativos (esteróis, alcaloides, taninos, glucósidos, fenóis, flavonoides e saponinas) (Guchhait *et al.*, 2008). Para este tubérculo estão descritas atividades antidepressiva, analgésica, citotóxica, anti-inflamatória e antioxidante (De *et al.*, 2010; Dey *et al.*, 2010; Das *et al.*, 2009).

Pelo referido é de grande interesse aprofundar o estudo das propriedades nutricionais, químicas e antioxidantes do *Amorphophallus paeniifolius* (Dennst.) Nicholson, valorizando este produto, incentivando o seu consumo, principalmente nos países de origem e onde muitas vezes a escassez de alimentos é uma realidade.

Revisão

Bibliográfica

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Alimentos promotores de saúde

Entende-se por alimento toda a substância complexa usada para nutrir os seres vivos, que contém na sua composição moléculas indispensáveis à vida e que o organismo não pode sintetizar (Saldanha, 1999). No entanto, hoje em dia sabe-se que os alimentos proporcionam não só nutrição, mas também podem prevenir doenças e garantir saúde e longevidade. Este conceito não é novo para algumas culturas orientais, que sempre acreditaram que os alimentos são benéficos para a saúde e alguns até mesmo terapêuticos (Tandom *et al.*, 2004).

Têm sido utilizados, indistintamente, vários termos para designar alimentos promotores de saúde. A expressão alimentos adaptados, criada em 1989, foi usada para descrever alimentos enriquecidos com componentes químicos, extraídos das plantas e biologicamente ativos (Caragay, 1992). O termo “nutracêutico” foi introduzido, também, em 1989 pela Fundação EUA para a Inovação na Medicina, referindo-se a “qualquer substância que é um alimento ou faça parte de um alimento e que proporcione benefícios médicos ou para a saúde, incluindo a prevenção e o tratamento da doença” (Defelice, 1995). Em 1994, o Conselho do Instituto Americano de Medicina de Alimentos definiu alimentos funcionais como “qualquer alimento ou ingrediente alimentar que possa proporcionar um benefício à saúde além dos nutrientes tradicionais que ele contém” (Thomas & Earl, 1994). Os nutracêuticos são, também, conhecidos como alimentos terapêuticos, alimentos médicos, suplementos nutricionais e/ou suplementos dietéticos (Badaró *et al.*, 2008).

Nos últimos anos, os consumidores viram aparecer nos supermercados novos produtos alimentares, que prometem contribuir para uma vida mais saudável. Os alimentos funcionais são a nova tendência do poderoso mercado alimentar do século XXI (Heasman & Mellentin, 2001). Entre os fatores chave que explicam o êxito dos alimentos funcionais, Hasler (2000) cita a preocupação crescente pela saúde e pelo bem-estar, mudanças na regulamentação dos alimentos, aumento da exigência dos consumidores, envelhecimento da população, aumento dos custos dos cuidados de saúde, avanços técnicos na indústria alimentar, alterações ambientais e a crescente comprovação científica das relações existentes entre dieta e saúde. A título de exemplo,

citam-se alguns estudos realizados nos últimos anos em que foi comprovado que uma dieta rica em frutas e vegetais diminui o aparecimento de doenças cardiovasculares ou cancro (Dauchet *et al.*, 2006; George *et al.*, 2009; Martin *et al.*, 2011; Hartley *et al.*, 2013).

Diversos estudos epidemiológicos têm indicado uma relação entre a dieta e as diferentes patologias, em especial, as doenças coronárias e o cancro, estando normalmente os efeitos protetores da alimentação associados ao consumo de frutas e legumes. Dentro deste contexto a organização mundial de saúde recomenda a ingestão de cinco porções de fruta e vegetais por dia para uma alimentação saudável (Aprikian *et al.*, 2001). Assim, o consumo de alimentos ricos em fibras, ácido ascórbico, beta-caroteno, vitamina E e compostos fenólicos, está associado a uma melhoria da qualidade de vida.

2.1.1 Antioxidantes Fitoquímicos

Nos organismos aeróbios, os radicais livres (RL) são produzidos durante o funcionamento normal da célula, na maior parte sob a forma de ERO (espécies reativas de oxigênio). Uma vez produzidos, a maior parte dos RL são removidos pelas defesas antioxidantes da célula, que inclui enzimas e moléculas não enzimáticas. A manutenção do equilíbrio entre a produção de RL e as defesas antioxidantes é uma condição essencial para o funcionamento do organismo (Valko *et al.*, 2007).

Para além das defesas endógenas, existe uma panóplia de moléculas naturais com propriedades antioxidantes e que podem constituir um sistema exógeno de defesa (Hamid *et al.*, 2010). Os antioxidantes da dieta assumem uma grande importância como agentes protetores, uma vez que ajudam o organismo na prevenção dos danos oxidativos.

Os fitoquímicos são compostos bioativos distribuídos de forma heterogênea pelas diferentes partes das plantas, podendo ser encontrados nas sementes, frutos, folhas e raízes (Skerger *et al.*, 2005). Dado que o stresse oxidativo corresponde a uma situação de excesso de ERO, os antioxidantes das matrizes naturais assumem um papel cada vez mais importante na prevenção deste desequilíbrio.

Efetivamente, as plantas são uma fonte natural de compostos bioativos (metabolitos secundários) incluindo antioxidantes como os compostos fenólicos (ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas, estilbenos), vitaminas, carotenoides, alcaloides, entre outros com diversas ações na promoção da saúde. Por esse motivo as plantas são utilizadas como aditivos alimentares e como ingredientes na formulação de alimentos funcionais e nutracêuticos (Loziene *et al.*, 2007).

2.1.1.1 Compostos Fenólicos

Os fitoquímicos mais estudados são os compostos fenólicos e os carotenoides. Os compostos fenólicos ou polifenóis são metabolitos secundários das plantas, não sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução. São formados para defesa da planta, em condições de stresse como infecções, radiação UV, entre outros (Naczka & Shahidi, 2004). Os fenóis são definidos, quimicamente, como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais hidroxilos. Possuem uma estrutura variável, sendo considerados multifuncionais. Estes compostos têm despertado interesse, mais recentemente, devido aos vários estudos publicados que evidenciam o benefício do seu consumo para a saúde, desde a prevenção de cáries dentárias até doenças crônicas. Estes compostos também têm sido associados a propriedades anticancerígenas, antiaterogênicas, antitrombóticas, antimicrobianas, vasodilatadoras e analgésicas (Dey *et al.*, 2012).

A figura 1 apresenta, esquematicamente, as principais classes de fitoquímicos naturais.

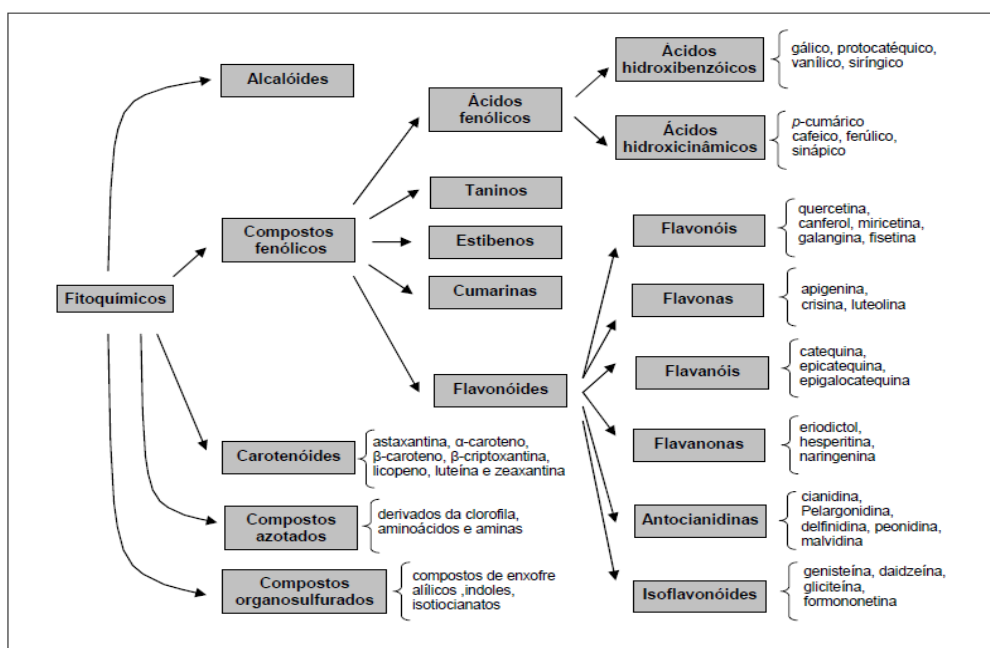


FIGURA 1. PRINCIPAIS CLASSES DE FITOQUÍMICOS NATURAIS. PARA ALGUNS GRUPOS MAIS ESTUDADOS APRESENTAM-SE EXEMPLOS (ADAPTADO DE LIU, 2003)

2.1.1.A Flavonoides

Encontrados em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos, flores e em produtos derivados (geleias, vinhos, chás, compotas, entre outros), os flavonoides são um grupo de compostos fenólicos com propriedades benéficas à saúde humana, tais como atividades antioxidante, anti- inflamatória, antitumoral e inibidora da agregação plaquetária. A ingestão de flavonoides está associada com a longevidade e a redução de doenças cardiovasculares (Volp *et al.*, 2008). Estruturalmente os flavonoides são formados por 15 átomos de carbono em uma estrutura C6-C3-C6, composta por dois anéis aromáticos ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um anel heterocíclico oxigenado, denominado anel C (Gouvêa,2010). Existem 13 subclasses de flavonoides, dentre a quais os 4 maiores grupos (figura 2) são: as flavonas, flavanonas, catequinas e antocianinas. (Trueba, 2003; Volp *et al.*, 2008; Martínez-Flórez, 2002)

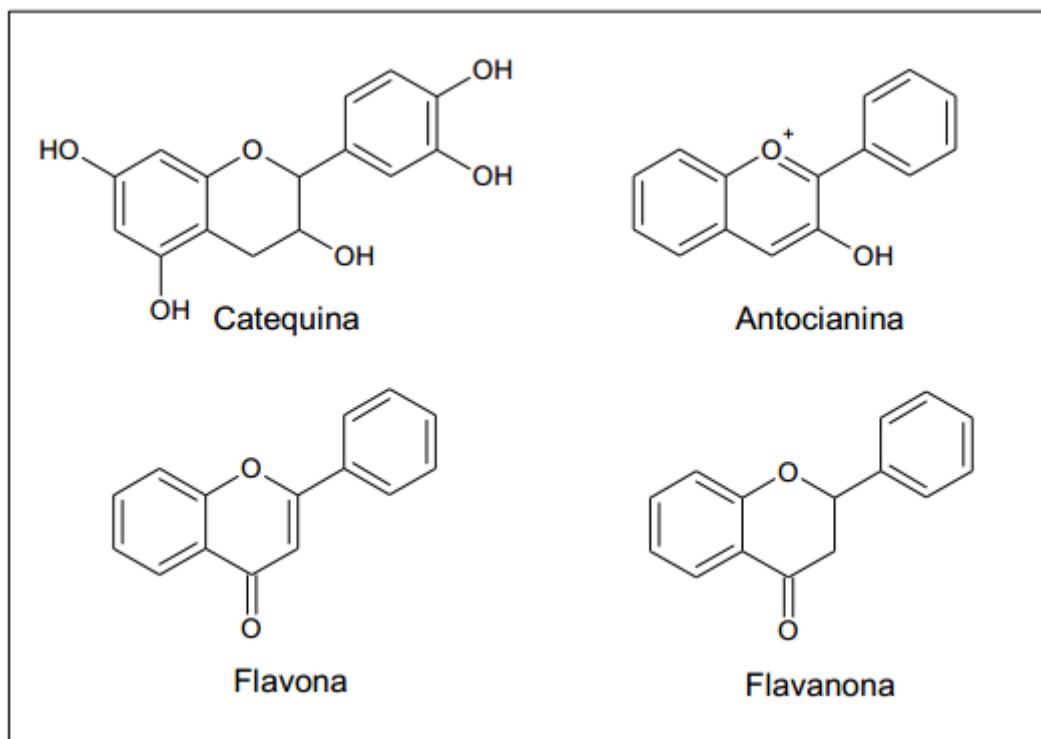


FIGURA 2. FLAVONOIDES. ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA DOS QUATROS GRUPOS MAIS ENCONTRADOS NOS ALIMENTOS

2.2 Radicais Livres e Stresse Oxidativo

As teorias sobre o envelhecimento precoce são muitas, mas a que melhor ilustra o mecanismo do envelhecimento é a teoria do stresse oxidativo. Esta teoria, proposta inicialmente em 1966, relaciona os RL com o envelhecimento precoce, ou seja, é um processo resultante da acumulação de lesões moleculares devidas às reações dos RL com os componentes celulares (Harman, 1966). Essas alterações acabam por dificultar muitas funções fisiológicas normais (Huang *et al.*, 2005).

Os RL são produzidos naturalmente no organismo humano, que contém um ou mais eletrões desemparelhados na sua órbita externa, o que lhes confere uma grande instabilidade. Devido à sua elevada toxicidade biológica, os de maior importância são os radicais de oxigénio, tais como o superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o hidroxilo (OH^{\cdot}) e o oxigénio singlete (1O_2), sendo, no entanto, o radical hidroxilo o mais reativo. Posteriormente, foram progressivamente identificadas outras moléculas derivadas dos RL de oxigénio, também reativas e tóxicas para o organismo, que, por não conterem eletrões desemparelhados, não podiam ser designadas da mesma forma. São exemplos o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o ácido hipocloroso (HClO). A característica comum a todas estas espécies é a capacidade para reagir com outros compostos formando RL (Lobo *et al.*, 2010).

O oxigénio molecular (O_2), presente na atmosfera há milhares de anos, permite que os organismos aeróbios o utilizem como recetor do eletrão terminal durante a respiração celular e proporciona um rendimento de energia superior ao da fermentação. Embora necessário para o desempenho das funções celulares, o O_2 leva, inevitavelmente, à formação de ERO em eventos metabólicos que ocorrem principalmente, nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (Bhattacharjee, 2010; Karuppanapandian *et al.*, 2011). A mitocôndria é a responsável pela maior produção de ERO, atendendo ao facto de consumir 90% do oxigénio utilizado pelo organismo durante todo o processo de respiração celular (Lee *et al.*, 2004).

Por definição, o stresse oxidativo resulta de um desequilíbrio entre a quantidade de oxidantes e de antioxidantes, sendo o desequilíbrio promovido a favor dos primeiros (Frei, 1999; Sies, 1985). A reação de um radical com outra molécula produz um radical livre diferente, que pode ser mais ou menos reativo do que a espécie original. Este processo tende a repetir-se, continuamente, terminando, apenas, quando o eletrão desemparelhado forma uma ligação covalente com o eletrão desemparelhado de outro

radical (Chang, 1994). Caso este processo não seja inibido, inicialmente, por enzimas ou moléculas antioxidantes, ocorrem danos nas macromoléculas biológicas. Segundo vários autores, esta terá sido a base da “ Teoria do Stresse Oxidativo” (Agarwal *et al.*, Beckman *et al.*, 1998; Dargel, 1992; Sohal, 1993 e 1994; Squier & Bigelow, 2000). Em geral, deve-se notar que a geração intracelular de ERO, considerada normal em níveis fisiológicos, quando não é necessariamente lesiva, tem um importante papel vital, uma vez que essas espécies, nesses casos produzidas de forma controlada, atuam na regulação da sinalização celular e da expressão génica (Barzilai & Yamamoto, 2004).

O aumento do stresse oxidativo pode ativar os fatores de transcrição sensíveis a ERO, induzindo um aumento da síntese de enzimas de defesa e de remoção de moléculas lesadas ou produtos resultantes que poderão perturbar a homeostasia mitocondrial. Numa situação de stresse oxidativo, as células apresentam dois mecanismos de defesa importantes: um tampão redutor tiol: glutathiona (GSH) e tiorredoxina (TRX) e, um sistema enzimático (superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPX)) (Yu, 1994; Gabbita *et al.*, 2000; Matés, 2000; Davis Júnior; Ronai; Tew, 2001; Curtin; Donovan; Cotter, 2002).

Os principais alvos das ERO incluem o ADN, lípidos, proteínas e açúcares, dependendo a ordem de preferência de ataque de muitos fatores, como o local onde a espécie reativa é gerada, a capacidade relativa de uma biomolécula ser oxidada e a disponibilidade de iões metálicos associados a essa biomolécula. No entanto, enquanto lípidos, proteínas e açúcares podem ser removidos por degradação, o mesmo não pode ocorrer com o ADN, uma vez que é a molécula responsável por todas as informações genéticas da célula.

Os danos provocados pelo stresse oxidativo estão associados ao aumento do risco de mutações, desenvolvimento de doenças degenerativas e cardiovasculares e envelhecimento precoce, uma vez que os RL ou as ERO promovem a oxidação dos lípidos e das proteínas, a quebra das ligações do ADN, modificações das bases e/ou modulação na expressão dos genes (Lee *et al.*, 2004).

2.2.1 Principais Espécies Reativas de Oxigênio

Como referido anteriormente as ERO resultam dos subprodutos de reações redox (Kovalchuk, 2010) que se apresentam tanto como RL, como na forma molecular não radicalar. Essas moléculas podem ser geradas como resultado de excitação, formando oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), ou de sucessivas adições de elétrons ao O_2 , reduzindo-o ao radical aniônico superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), radical hidroperoxilo (HO_2^{\cdot}) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxilo (OH^{\cdot}) (D'Autréaux e Toledano, 2007; Bhattacharjee, 2010). No estado fundamental, o oxigênio é um tripleto ($^3\text{O}_2$) com dois elétrons não emparelhados, com o mesmo spin, em diferentes orbitais. A ativação e rotação de um dos elétrons desemparelhados pode ser revertida por excitação e formar $^1\text{O}_2$ (Lima e Abdalla, 2001; kovalchuk, 2010).

Ao contrário da maioria das moléculas, o estado singlete do O_2 tem maior energia do que o tripleto. Os dois elétrons com spins opostos no mesmo orbital conferem ao $^1\text{O}_2$ uma energia de 22,5 kcal acima daquela do estado fundamental e um tempo de meia-vida em solvente aquoso de aproximadamente 10^{-6} s, muito curto. Apesar de ser menos reativo do que o radical OH^{\cdot} , o $^1\text{O}_2$ é mais reativo do que o $\text{O}_2^{\cdot-}$ e o H_2O_2 , e foi considerado durante muitos anos como uma molécula altamente tóxica com difusão muito limitada. Trabalhos recentes têm demonstrado que o $^1\text{O}_2$ pode difundir a distâncias significativas a partir do local de produção e que a peroxidação lipídica nos cloroplastos é, quase exclusivamente, decorrente da ação do $^1\text{O}_2$ (Triantaphylides & Havaux, 2009). O $^1\text{O}_2$ pode ser extinto de duas formas: transferindo a sua energia de excitação para outras moléculas, e retornando ao estado fundamental (*quenching* físico) ou por reações de oxidação (*quenching* químico) com outras moléculas, como lípidos, proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos e hidratos de carbono, causando danos às células (Ronsein *et al.*, 2006; Triantaphylides e Havaux, 2009).

O radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) é moderadamente reativo e considerado instável por possuir número ímpar de elétrons (13) na última camada eletrônica. Em pH fisiológico tem um tempo de semivida de 2-4 μs . O $\text{O}_2^{\cdot-}$ forma-se a partir da redução do O_2 por um único elétron. Reduções univalentes subsequentes convertem o O_2 em H_2O_2 e H_2O , num processo de redução tetravalente do oxigênio. Uma vez protonado, o $\text{O}_2^{\cdot-}$ forma o radical peroxilo (HO_2^{\cdot}), uma ERO mais reativa que o próprio $\text{O}_2^{\cdot-}$, mas presente em pequenas proporções a pH fisiológico (pH 4,8, prevalece a presença de $\text{O}_2^{\cdot-}$). A dismutação do $\text{O}_2^{\cdot-}$

a H_2O_2 é muito rápida e pode ocorrer tanto de forma espontânea como catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) (Bhattacharjee, 2010). O $\text{O}_2^{\cdot-}$ pode doar elétrons ao Fe^{3+} formando Fe^{2+} que, por sua vez, reduz o H_2O_2 e forma OH^{\cdot} e OH^- . O conjunto de reações através das quais o $\text{O}_2^{\cdot-}$, o H_2O_2 e o Fe^{2+} rapidamente geram OH^{\cdot} é conhecido como “reação de Haber-Weiss”, enquanto que a reação final, a oxidação do H_2O_2 pelo Fe^{2+} , é denominada reação de Fenton (Gil e Tuteja, 2010). Essas reações podem ocorrer na presença dos íons ferro ou cobre (Bartosz, 1997; Bhattacharjee, 2010). O $\text{O}_2^{\cdot-}$ pode reduzir quinonas e metais de transição como cobre e ferro, afetando a atividade de enzimas que contém o metal (Locato *et al.*, 2010). Devido à sua limitada capacidade de difusão e à rápida dismutação não enzimática em solução aquosa, o aumento na concentração de $\text{O}_2^{\cdot-}$ provavelmente é comunicado ao núcleo por meio de segundos mensageiros (Mylona & Polidoros, 2010).

O H_2O_2 é uma ERO moderadamente reativa com uma semi-vida relativamente longa (1ms) e cujo pequeno tamanho permite atravessar membranas celulares e migrar em compartimentos diferentes. Dessa forma, difunde os danos e também atua como um mensageiro da condição de stresse. O H_2O_2 tem uma ação deletéria, porque participa na reação formadora de OH^{\cdot} , o oxidante mais reativo na família das ERO. Além disso, o H_2O_2 é capaz de inativar enzimas por oxidação de seus grupos tiol (Gadjev *et al.*, 2008; Karuppanapandian *et al.*, 2011).

O radical OH^{\cdot} é considerado o mais oxidante dentre as ERO e sua alta reatividade resulta em reações rápidas e inespecíficas com distintos substratos, podendo potencialmente reagir com todos os tipos de moléculas biológicas (Aguiar e Ferraz, 2007; Mylona e Polidoros, 2010). Em sistemas biológicos, pode ocasionar modificações nas bases nitrogenadas, levando à inativação ou mutação do ADN; desnaturar proteínas pela oxidação de grupos sulfidrilo (-SH) e pontes dissulfeto (-SS), além de causar danos a moléculas de carboidratos e retirar átomos de hidrogênio de grupos metileno de ácidos gordos polinsaturados, dando início à peroxidação lipídica (Blokhina *et al.*, 2003, Barreiros, 2006). Devido à alta reatividade e curta semivida, não há registro de sistemas gênicos ativados pelo OH^{\cdot} . Existem, porém, evidências do seu papel regulador no crescimento radicular e alongação foliar, bem como no afrouxamento da parede celular, possivelmente decorrente da degradação de polissacarídeos, induzida pelo OH^{\cdot} (Mylona e Polidoros, 2010; Faure *et al.*, 2012).

2.3 Peroxidação lipídica

A oxidação dos lípidos, ou autoxidação, inicia-se sempre a partir da formação de radicais livres, e os hidroperóxidos formados podem causar alterações sensoriais indesejáveis em óleos, gorduras ou alimentos que os contêm. Promovem, frequentemente, o desenvolvimento de odores e sabores indesejáveis, o que faz diminuir o tempo de vida útil de um alimento.

A nível do metabolismo humano, todos os componentes celulares são suscetíveis à ação dos ERO. A membrana celular é fortemente atingida, com alterações quer na estrutura quer na permeabilidade. Ocorrem perdas de seletividade na troca iónica e na libertação do conteúdo dos organelos, caso das enzimas hidrolíticas dos lisossomas e a formação de produtos citotóxicos (como o malonaldeído), culminando com a morte celular.

Um dos produtos da oxidação dos lípidos, o malonaldeído, reage com os fosfolípidos, causando uma modificação estrutural nos ácidos nucleicos que, posteriormente levam a disfunções do sistema imunitário. Foram detetados produtos da oxidação dos lípidos em doenças com a diabetes, aterosclerose e doenças hepáticas. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são estruturas complexas, estando as suas modificações oxidativas envolvidas no desenvolvimento da arteriosclerose e doenças cardiovasculares (Profumo *et al.*, 2011).

2.4 Oxidação das Proteínas

Os RL podem provocar, também, modificações nas proteínas celulares. Podem promover a sua fragmentação, agregação, formação de ligações cruzadas, e, em certos casos, ativação ou inativação de certas enzimas. Nestas situações ocorre uma reação química entre os RL e os aminoácidos constituintes da cadeia polipeptídica (Lee *et al.*, 2004). Cita-se, como exemplo, a nitrotirosina que resulta da ação de espécies reativas de azoto e a tirosina. Esta molécula foi detetada na urina e em fluidos corporais de pacientes com doenças inflamatórias crónicas e em lesões arterioscleróticas (Virag *et al.*, 2003). Os hidroperóxidos de proteínas gerados a partir do $^1\text{O}_2$ podem sofrer decomposição térmica ou catalisada por iões metálicos, gerando radicais peróxilo. Os hidroperóxidos de proteínas também podem sofrer redução por um eletrão, gerando radicais alcóxilo (reação de Fenton). (Hawkins, *et al.*, 2001)

Deste modo, a formação de peróxidos numa proteína a partir do $^1\text{O}_2$ pode resultar em danos subsequentes a outras proteínas. Estes danos incluem inativação enzimática, como a que foi demonstrada quando caspases, cisteíno-proteases que desempenham um papel central na apoptose, foram expostas a hidroperóxidos de triptofano e tirosina (Hampton, *et al.*, 2002.). Outro exemplo de inativação enzimática é o da enzima gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase. Peróxidos de proteínas demonstraram reagir com o grupo tiol do sítio ativo desta enzima, inativando-a. A remoção de H_2O_2 das células pela catalase é de vital importância, já que este peróxido pode dar origem a espécies mais reativas, tais como $^1\text{O}_2$ e radical hidroxilo (OH). Vários estudos mostraram que a oxidação da catalase pelo $^1\text{O}_2$ gera espécies enzimáticas com pontos isoelétricos mais ácidos (Diaz, *et al.*, 2004.) Esta oxidação foi detetada num estudo com a catalase em cultura de células humanas (Lledias & Hansberg, 1999).

2.5 Modificação e quebra das ligações do ADN

A hipótese da lesão oxidativa do ADN no fenómeno de envelhecimento precoce é sustentada por evidências experimentais. As mitocôndrias possuem o seu próprio ADN, o qual é extremamente sensível aos danos oxidativos devido à falta de proteínas protetoras e histonas. A indução de danos oxidativos nas bases do ADN ocorre a partir da sua reação com ERO. Essas lesões podem ocorrer devido à oxidação direta dos ácidos nucleicos ou, muitas vezes, podem levar à formação de quebras numa das cadeias do ADN (quebras simples - SSB "single strand break") ou quebras simples em posições aproximadamente simétricas nas duas cadeias do ADN (quebras duplas - DSB "double strand break"). Além disso, quebras simples podem gerar quebras duplas durante a replicação celular.

Foram identificados mais de 20 tipos de danos diferentes nas bases do ADN após a exposição dessa biomolécula às diversas formas de stresse oxidativo, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Slupphaug *et al.*, 2003). A guanina, que exibe o menor potencial de ionização entre as bases nitrogenadas, tem sido a escolha preferencial dos estudos das reações de oxidação das purinas, uma vez que existem metodologias eficientes para a sua deteção. Desta forma, a guanina vem sendo utilizada como um bom exemplo de oxidação de bases nitrogenadas. O radical hidroxilo (OH^\cdot) é bastante usado na geração de reações radiculares com a guanina presente tanto no "pool" de nucleosídeos (2'-deoxiguanosina, dGuo) formando 8-oxo-7,8-diidro-2'-deoxiguanosina (8-oxodGuo), quanto na sua forma nucleotídica (formando 8-oxoGuo) (Cadet *et al.*, 2003). O oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$) também é capaz de reagir significativamente com a guanina em pH neutro (Ravanat *et al.*, 2004), sendo bastante usado em estudos que envolvem a oxidação de purinas. A formação de 8-oxodGuo pela exposição a eletrões livres é um processo que ocorre em menor escala, contudo, a hidratação de radicais catiónicos da guanina leva, predominantemente, à formação de 8-oxodGuo (Martinez *et al.*, 2003)

3 Caracterização do Inhame *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson

A designação inhame incluiu vários géneros de plantas que produzem tubérculos ou cormos comestíveis e que são preparados de modo semelhante. Incluem-se plantas do género *Dioscorea* (Dioscoreaceae), *Colocasia*, *Alocasia* e *Xanthosoma* (Aracea). Os tubérculos são bastante consumidos nas regiões tropicais e o seu nome está relacionado com o formato do tubérculo. É também conhecido por outras designações comuns, tais como: Inhame elefante, Inhame doce ou Pão elefante.

Esta espécie pertence à família Araceae, que abrange 170 géneros de plantas herbáceas, tropicais e subtropicais, que produzem tubérculos (figura 3).



FIGURA 3. TUBÉRCULOS DE *AMORPHOPHALLUS PAEONIIFOLIUS* (DENNST) NICHOLSON PROVENIENTE DE TIMOR DE LESTE

3.1 Descrição morfológica

O género *Amorphophallus* tem cerca de 90 espécies, sendo a mais importante o inhame pé de elefante, *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson (Hetterscheid & Ittenbach, 1996; Hetterscheid, 1994). Trata-se de uma planta tropical, com potencial para aumentar os proventos de países subdesenvolvidos, dada a sua elevada produção e grande popularidade, como vegetal, em várias sociedades/culturas. É usada para dar sabor aos alimentos, como fonte nutricional e para fins medicinais (Jansen *et al.*, 1996).

É uma planta robusta (figura 4), com uma haste solitária, ereta, de 1- 2,5 m de altura, com 1 a 2 folhas tripartidas, profundamente segmentadas no topo. No fim do seu ciclo de vida (4 - 6 anos) produz uma grande inflorescência terminal com um cheiro fétido (a carne em putrefação).



FIGURA 4. ASPECTO DA PLANTA ([HTTP://WWW.EN.WIKIPEDIA.ORG](http://www.en.wikipedia.org))

Os tubérculos são grandes, globosos e ligeiramente deprimidos na parte superior. Têm cor amarela pálida ou amarela acastanhada, sendo produzidos 5-10 rebentos por ano de produção. Os rebentos são retirados manualmente quando as folhas começam a secar/morrer. Pesam entre 3 e 9 kg, dependendo da idade da planta (Santosa & Sugiyama, 2007; Ittenbach, 1996).



FIGURA 5. INFLORESCÊNCIA DA PLANTA ([HTTP://WWW.EN.WIKIPEDIA.ORG](http://www.en.wikipedia.org))

3.1 O Cultivo

É originária do sudeste asiático, onde é cultivada. Cresce de forma espontânea nas Filipinas, Malásia, Indonésia e outros países da zona, incluindo Timor Leste. Esta planta cresce, de forma quase selvagem junto a matas e bosques, florestas de teca, florestas junto às aldeias. Pode ser plantada em terras baixas e desenvolve-se facilmente entre plantações de árvores. A espécie *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson, anteriormente designada como *A. Campanulatus* ou inhame pé de elefante, “Whitespot giant arum” ou ainda “ Stink lily” é cultivada em várias regiões da Índia e muito usada na medicina tradicional Ayurveda (Dey, *et al.*, 2012), sendo popularmente conhecida como Jimmikand, Suran e Chenna. Na Indonésia é cultivada com outras culturas (Govaerts *et al.*, 2011 CATE- Araceae 2011).

Algumas espécies como a *Alocasia macrorrhizos*, *Amorphophallus paeoniifolius*, *Colocasia esculenta* L. Schot e *Xanthosoma sagittifolium* são cultivadas devido à sua riqueza em hidratos de carbono. Outra característica importante das *araceae*, e que não tem sido muito explorada, é o seu valor medicinal.

A FAO (2005) relatou que a produção global de inhame, em 2004 foi de quase 47 milhões de toneladas e é a segunda maior produção importante em África, a seguir à mandioca. Mais de 95% (2,8 milhões de ha) da área global atual de cultivo de inhame está em África, em especial na Nigéria e Costa do Marfim, sendo utilizado, inclusive para a fabricação de uma bebida, denominada “elubo”. Esta bebida é tradicional no Oeste de África e é obtida a partir da farinha das túberas de *D. rotundata* Poir., a qual sofre aquecimento a 60 ° C por 10 minutos e depois fermentação a 30 ° C durante 24 h (Neto *et al.*, 2000).

O taro (*Colocasia esculenta* L. Schot), designado de forma errada na literatura como inhame, é um tubérculo bastante cultivado para o consumo direto e vem sendo produzido há mais de 2000 anos em regiões de clima tropical e subtropical. No Brasil é uma cultura de pequenos produtores, a colheita é considerada baixa, mas é maior do que a da mandioca e da batata-doce, porém tem aumentado nos últimos anos. É bastante cultivado na região do Nordeste do Brasil, tendo como maiores produtores o estado da Paraíba, Alagoas e Pernambuco (Neto *et al.*, 2000). A Paraíba é o estado de maior produção (17 800 t) numa área de 4300 ha, com produtividade média de 4,2 t/ha. O estado de Minas Gerais é o responsável pela maior área cultivada (IBGE, 2001). O

estado de São Paulo apresenta baixa expressão na produção nacional dessa cultura 2600 tem 317,4 ha, porém apresenta a maior produtividade média (9,0 t/ha) (Santos, 2002).

Algumas indústrias utilizam os tubérculos na preparação de papas para bebê, contudo não existe processamento industrial do inhame para a obtenção do amido. Além disso, existe um atraso na industrialização do inhame no Brasil devido a um funcionamento precário das atividades inerentes à produção agrícola, ou pela falta de diversificação no consumo. Em outras partes do mundo, embora este consumo seja substancialmente diversificado, especialmente por meio de aproveitamento industrial ou artesanal, este aproveitamento é baixo e os produtos elaborados não ultrapassam fronteiras pela falta de qualidade, prestando-se tão-somente também para o consumo local ou regional (Miamoto, 2008).

3.3 Composição química

De entre os tubérculos colhidos em zonas tropicais, o *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst) Nicholson tornou-se popular devido à sua elevada produtividade (140 000 a 175 000 kg/ha) numa escala mundial (Mukhopadhyay & Sen, 1999; Nath *et al.*, 2007). Inclui na sua composição hidratos de carbono, vitaminas e minerais (Bradbury e Holloway, 1988; Chowdhury & Hussain, 1979; Parkinson, 1984; Sakai, 1983), sendo-lhe atribuído valor medicinal e terapêutico (Chattopadhyay & Nath, 2007). As aráceas comestíveis têm alguma dificuldade em valorizar o seu potencial devido aos seus problemas de palatabilidade, causados pela presença de alguns compostos antinutricionais (oxalatos, inibidores da tripsina, que provocam elevada adstringência). Por tal facto, o seu processamento/preparação deve ser rigoroso, visando eliminar estes compostos químicos.

Dada a sua riqueza em hidratos de carbono, é usado como alternativa a outros alimentos amiláceos nos Estados Unidos, Japão, China, Filipinas e Índia (Islame *et al.*, 2007). Na Índia há várias formas de cozinhar este tubérculo, com molho de tamarindo, frito ou como batata em palitos. Pode igualmente ser cozido e assado ou ingerido como vegetal. Desta planta podem ainda usar-se as folhas tenras como legume (Ritesh, 2011).

Segundo Zárate, *et al.*, (2002) o taro (*Colocasia esculenta* L. Schot) possui quantidades consideráveis de fibras (22,6g/100g) quando comparado ao milho (19,2g/100g), tornando este tubérculo uma alternativa alimentar, para incrementar a alimentação diária em teor de fibra. As fibras dietéticas têm ação importante na redução do colesterol sérico. O mecanismo responsável pelo efeito hipolipidémico é a capacidade das fibras em absorver os ácidos biliares, o que provoca o aumento do desvio do colesterol endógeno para a síntese de ácidos biliares. Também se observa um aumento significativo de gordura fecal quando do consumo de dietas ricas em fibras, concluindo-se que a sua absorção é menos eficiente (Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/63.pdf>)

3.4 Benefícios do Inhame para a saúde

Além de ser usado como alimento, o tubérculo tem ainda outras aplicações, nomeadamente na medicina popular, cosméticos e produtos industriais. Pode ser utilizado no tratamento de algumas disfunções/doenças tais como artralgia, elefantíase, tumores, processos inflamatórios, hemorroidas, sangramento, vômitos, tosse, bronquite, asma, anorexia, dispepsia, flatulência, cólicas, prisão de ventre, hepatopatia e esplenopatia, helmintíase, amenorreia, dismenorreia, fraqueza seminal, fadiga, anemia e fraqueza geral. Estão ainda descritas ações carminativa, reparadora, estomacal e tónica. Após secagem é usado no tratamento de hemorroidas e disenteria. No estado fresco atua como estimulante acre e expetorante e ainda no tratamento de crises agudas de reumatismo (Ritesh, 2011; Daniel, 2006; Pullaiah, 2006).

Vários estudos científicos mostraram que os seus extratos têm atividade antibacteriana, antifúngica, analgésica e hipotensora. Reduz os espasmos musculares e tem efeito similar ao diazepam no sistema nervoso central (Khan *et al.*, 2007).

De acordo com a literatura, os tubérculos contêm várias substâncias químicas como alcaloides, esteróis, óleos essenciais, flavonoides, taninos, além de diversos nutrientes, proteínas, lípidos, vitaminas: tiamina (B1), ácido ascórbico (C), piridoxina (B6); minerais: cálcio (Ca), fósforo (P), ferro (Fe), potássio (K) e magnésio (Mg) e ainda selénio (Se), zinco (Zn) e cobre (Cu) (Astutik, 2011; Ritesh, 2011; Dey & Ghosh, 2010; Angayarkanni *et al.*, 2007). A presença de oleorresinas justifica o sabor e aroma que o caracterizam. É considerado um alimento saudável, pobre em gordura mas uma fonte rica de ácidos gordos essenciais (n-3) com ação nos níveis de colesterol sérico. Pode ser usado na promoção da perda de peso e conseqüentemente pode reduzir os níveis do colesterol LDL.

As populações que tradicionalmente se nutrem de alimentos ricos em amido, incluindo os consumidores de inhame pé de elefante, selecionam as variedades que consomem, atendendo ao melhor sabor, textura e cor, descurando frequentemente o melhor perfil nutricional. Torna-se assim necessário um estudo com a sistematização morfológica, horticultura e caracterização nutricional dos cultivares de inhame pé elefante (Saikia & Borah, 1994; Singh *et al.*, 1999).

3.5 Propriedades Antioxidante do Inhame

O inhame pé de elefante ou *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson faz parte da lista de plantas medicinais utilizadas nas terapias Ayurvedica (Pal, 2000). Nos países onde são produzidos ou crescem no estado selvagem, estes tubérculos ou extratos obtidos a partir deles, são usados na medicina popular na prevenção e tratamento de vários distúrbios devidos a xenobióticos ou a contaminações ambientais.

Nataraj *et al.* (2009) estudaram extratos metanólicos e hidroalcoólicos (70% água) de tubérculos de inhame pé de elefante. Determinaram teores consideráveis de fenóis totais e flavonoides, especialmente nos extratos metanólicos. Foi igualmente descrita por estes autores a presença de cumarinas, esteróis, taninos e triterpenóides.

Raghu *et al.* (2011), num trabalho efetuado com vários vegetais (repolho, abóbora, rabanete, cenoura, tomate, cebola) e inhame pé de elefante, compararam o teor de fitoquímicos e a atividade antioxidante. Usaram soluções aquosas (1,25ml de clorofórmio em 500 ml de água destilada) para macerar as várias matrizes, durante 7 dias com agitação intermitente. Posteriormente, sofreram refluxo durante 90 minutos, e os extratos foram concentrados, após filtração. Verificaram a presença de alcaloides nos extratos de inhame pé de elefante mas não detetaram saponinas. Este extrato apresentou um valor intermédio de atividade antioxidante.

Jayaraman *et al.* (2010) avaliaram o potencial antioxidante e de quelatação de RL por extratos etanólicos do tubérculo de *A. paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson (*Araceae*). Foram determinados os parâmetros de inibição da peroxidação lipídica através do método TBARS (ácido tiobarbitúrico), a capacidade quelante de radicais livres (método do DPPH) e a percentagem de inibição pelo método ABTS e H₂O₂. O extrato de *A. Paeoniifolius* apresentou capacidade de inibição da ordem dos 70% para o DPPH, ABTS e H₂O₂, percentagens que são dependentes da dose usada (1-50 µg/ml). O perfil de polifenóis obtido por HPLC mostrou a presença de ácido gálgico, resveratrol, quercetina, e ainda 2 compostos não identificados. Concluíram que o referido extrato tem uma atividade antioxidante *in vitro* elevada e que pode ser uma fonte de antioxidantes naturais.

Basu *et al.* (2012) efetuaram um estudo comparativo entre *Amorphophallus*, *Alocasia indica* e *Colocasia esculenta* L. Schot, alimentos vulgarmente consumidos na Índia e também usados na medicina tradicional. Embora estes sejam de famílias

diferentes, são conhecidos como inhames. Através de extratos etanólicos a 70%, foram avaliados os teores de fenóis totais, flavonóis totais, atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP. Os resultados mostraram que todos os extratos possuíam atividade antioxidante. O melhor desempenho dos extratos de *A. paeoniifolius* é atribuído aos teores de polifenóis e flavonóis, determinados no mesmo estudo, e que também foram superiores comparativamente aos outros dois inhames.

Objetivos do Estudo

4 Objetivos

Atualmente existem várias comunidades que consomem o inhame pé de elefante (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson) a partir de plantas no estado selvagem, havendo igualmente o consumo a partir de plantas cultivadas. A sua produção está em franco desenvolvimento em algumas zonas da Índia, e há um grande esforço em alguns países asiáticos e africanos, no sentido de a tornar uma cultura maioritária. Por outro lado, a exploração excessiva de plantas selvagens pode por em risco algumas espécies, pelo que é do maior interesse manter os princípios de utilização sustentável dos recursos genéticos.

Deste modo, o principal objetivo do presente trabalho foi a caracterização química e nutricional de tubérculos de inhame pé de elefante. Avaliou-se a atividade antioxidante de extratos, através de dois métodos analíticos correntemente utilizados em matrizes alimentares.

Foi também avaliada a influência do processamento nas características químicas e nutricionais do tubérculo. Todos os ensaios foram realizados em amostras sem tratamento (fresco), cozido e liofilizado.

Parte

Experimental

1. Materiais e Métodos

1.1 Obtenção e tratamento das amostras para análise nutricional e antioxidante

1.1.1 Análise Nutricional

Os tubérculos de inhame pé de elefante (*A. paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson) foram colhidos no distrito de Baucau, zona oriental de Timor-Leste (Figura 6).

Timor-Leste situa-se no sudeste asiático e é constituído pela metade oriental da ilha de Timor, a ilha de Ataúro, a ilha de Jaco, no extremo leste, e o enclave de Oecussi, na costa norte da parte indonésia da ilha de Timor. (Disponível em <http://www.portugalglobal.pt/PT/geral/Documents/DOCs2014/InternacionalizacaEconomiasEstudoTimorElaboradoCGD.pdf>)



FIGURA 6. MAPA DO DISTRITO DE BAUCAU

As amostras foram submetidas a diferentes processos de preparação e divididas em:

1- Inhame fresco

2- Inhame cozido

3- Inhame liofilizado

No caso do inhame fresco, as amostras foram descascadas, cortadas em cubos e em seguida moídas numa trituradora (GM 200, RETSCH, Haan, Alemanha). Para a preparação da amostra cozida, os tubérculos depois de descascados e cortados em cubos, foram cozidos a 100 °C, durante cerca de 40 minutos, à semelhança do processo de cozedura doméstico. Depois disso escoou-se a água, procedeu-se à retirada de toda a água visível e triturou-se em moinho (GM 200, RETSCH, Haan, Alemanha). Para a preparação das amostras liofilizadas, descascaram-se os tubérculos e cortaram-se em rodelas com a mesma espessura. Em seguida foram congeladas seguindo-se a etapa de liofilização (Telstar Cryodos-80, Terrassa, Barcelona). O liofilizado foi reduzido a pó fino com um moinho (GM 200, RETSCH, Haan, Alemanha). As amostras foram conservadas ao abrigo da luz e do calor até serem analisadas.

Em todas as amostras preparadas (fresco, cozido e liofilizado) foi efetuada a análise nutricional, quantificados alguns compostos bioativos (compostos fenólicos totais, flavonoides e taninos) e avaliada a atividade antioxidante. Para a análise nutricional usaram-se as amostras moídas, tal como descrito acima.

1.1.2 Preparação dos extratos para a determinação da atividade antioxidante

A avaliação dos compostos bioativos foi determinada em extratos das diferentes amostras. Testaram-se diferentes solventes (100% etanol, 100% água e 50%:50% água:álcool) de modo a determinar as melhores condições de extração. Por conhecimento prévio do comportamento com outras amostras, e visando condições sustentáveis de obtenção dos extratos manteve-se a temperatura a 40 °C e o tempo de extração de 60 minutos. Prepararam-se diferentes extratos (1 g/50 ml) em triplicado a partir de cada amostra de inhame (fresco, cozido e liofilizado) (Figura 7). A extração foi efetuada em placa de aquecimento com agitação constante a 600 rpm e os extratos obtidos filtrados e congelados a -25°C, para posterior análise.



FIGURA 7. EXTRATOS AQUOSO, HIDROALCOÓLICO E ETANÓLICO OBTIDOS DO INHAME FRESCO, COZIDO E LIOFILIZADO

Os ensaios laboratoriais decorreram no REQUIMTE (Laboratório Associado para a Química Verde/ Departamento de Ciências Químicas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto).

1.2 Reagentes e Padrões

Nos diferentes ensaios efetuados usaram-se os seguintes reagentes:

Determinação do teor de gordura total pelo método de Soxhlet:

Sulfato de sódio anidro (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Éter de petróleo (40-60 °C) (Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA)

Determinação do teor de proteína pelo método de Kjeldahl:

Ácido sulfúrico 96% (Panreac, Barcelona, Espanha)

Sulfato potássio/Sulfato de Cobre – Kjeldahl tablets (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Hidróxido de sódio 32%

Ácido sulfúrico 0,1 M (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Extração dos compostos bioativos:

Etanol absoluto (Fisher Chemical, Loughborough, Reino Unido)

Água destilada

Determinação dos compostos bioativos:

Ácido gálico (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

Reagente de Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Carbonato de sódio (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Catequina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

Nitrito de sódio (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

Cloreto de alumínio (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

Hidróxido de sódio (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Determinação da atividade antioxidante:

DPPH• (radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

TPTZ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

Cloreto férrico (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

Sulfato ferroso (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA)

1.3 Equipamentos

Moinho (GM 200, RETSCH, Haan, Alemanha)

Analisador de humidade (Scaltec modelo SMO01, Scaltec Instruments, Heiligenstadt, Alemanha)

Mufla (Thermolyne 48000, F48010-26, Electrothermal Engineering Ltd, Essex, Reino Unido)

Dispositivo de extração Soxhlet

Bloco digestor (K-424, BUCHI Labortechnik AG, Suíça)

Destilador (KjelFlex K-360, BUCHI Labortechnik AG, Suíça)

Placa de agitação (VARIOMAG, TELEMODUL 40 CT, H+P Labortechnik, Alemanha)

Vortex (VWR INTERNATIONAL, Darmstadt, Alemanha)

Leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GENS5)

Liofilizador (Telstar Cryodos-80, Terrassa, Barcelona)

1.4 Análise Nutricional

1.4.1 Determinação do teor de humidade

Para a determinação do teor de humidade, recorreu-se ao analisador de humidade (Scaltec® modelo SMO01, Scaltec Instruments, Heiligenstadt, Alemanha), (figura 8). A análise da humidade foi feita por termogravimetria isotérmica (TG). Pesaram-se aproximadamente 2,5 g de amostra de inhame fresco e cozido, e cerca de 0,5 g de amostra de inhame liofilizado. Todas as amostras foram sujeitas a um processo de secagem (a 100 °C). As determinações foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em percentagem (%) de humidade.



FIGURA 8. ANALISADOR DE HUMIDADE

1.4.2 Determinação do teor de proteína pelo método de Kjeldahl

Para a determinação do teor proteico utilizou-se o método de Kjeldahl, quantificando o azoto total presente nas amostras (método AOAC 928.08). Esta técnica aplica-se numa grande variedade de substâncias alimentares. O método Kjeldahl pode ser dividido em três passos principais: digestão, destilação e titulação.

- 1. Digestão:** a matéria orgânica é destruída por oxidação com ácido sulfúrico concentrado, na presença de uma mistura catalizadora.
- 2. Destilação:** por alcalinização, os sais de amónio originados na digestão, libertam o amoníaco que é recolhido num determinado volume de solução ácida.

3. Titulação: o amoníaco recolhido é titulado com uma solução ácida com concentração conhecida.

Pesaram-se rigorosamente 1 g de amostra de inhame fresco e cozido e 0,5 g de inhame liofilizado, ambos em papel de filtro isento de azoto, que foram transferidos para um tubo de Kjeldahl juntamente com duas pastilhas catalisadoras (3,5g sulfato de potássio e 0,4 g de sulfato de cobre por pastilha) e 20 ml de ácido sulfúrico concentrado (96%). A digestão ácida foi efetuada numa manta elétrica (cerca de 2 horas até obtenção de líquido límpido e transparente de tonalidade azul-esverdeada), estando os tubos ligados a um sistema de vácuo para aspiração de vapores (Figura 10). Procedeu-se, de seguida, à alcalinização (Hidróxido de sódio 32%) e destilação do produto digerido (BUCHI KjelFex K-360, Flawil, Suíça). Recolheu-se o destilado em ácido bórico a 4% durante 4 minutos, período depois do qual deixou de ocorrer reação alcalina. Finalmente procedeu-se à titulação com ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 0,1 M) para a quantificação do azoto total presente na amostra (Figura 9).

A análise foi efetuada em triplicado e os resultados expressos em percentagem (%) de proteína. O fator de conversão de azoto total para proteína utilizado foi 6,25, tendo sido utilizado para o cálculo as expressões:

$$\text{Azoto Total} = \frac{(V_{\text{amostra}} - V_{\text{branco}}) \times Z \times C \times f \times M(\text{N})}{p \times 1000}$$

$$\text{Proteína (\%)} = \text{Azoto Total} \times 6,25 \times 100$$

Onde:

V_{amostra} = volume de solução de ácido sulfúrico gasto na titulação, após a correção do branco;

Z = Factor de molaridade (2 para H_2SO_4);

C = Concentração do titulante (mol/L);

f = Factor do titulante (para soluções comerciais normalmente é igual a 1);

M = peso molecular do N (14, 0067 g/mol);

p = peso da amostra em grama;



FIGURA 9. BLOCO DIGESTOR E DESTILADOR AUTOMÁTICO USADO NO MÉTODO DE KJELDAHL

1.4.3 Determinação do teor de gordura total pelo método de Soxhlet

Para a determinação do teor de gordura utilizou-se o método de Soxhlet (método AOAC 991.36). Cerca de 2,5 g de amostra foi misturada com uma quantidade suficiente de sulfato de sódio anidro e areia. A mistura foi transferida para cartuchos de celulose, que foram colocados em ampolas de extração do dispositivo de Soxhlet. (Figura 10). Foram sujeitos à extração, a quente (8 horas para quantificação da gordura total), usando éter de petróleo (P.E 40-60°C) como solvente. Posteriormente o solvente foi recuperado com uma ampola e o solvente residual eliminado por evaporação, e por secagem do resíduo em estufa (100°C) por períodos de meia hora até obtenção de peso constante. A pesagem foi feita após arrefecimento em exsiccador. A análise foi efetuada em triplicado e os resultados apresentados em percentagem (%) de gordura, tendo sido utilizado para o cálculo a expressão:

$$\text{Gordura (\%)} = \frac{\text{P2} - \text{P1}}{\text{p}} \times 100$$

Onde:

P1 = Peso inicial do balão seco;

P2 = Peso final do balão com a gordura;

p = peso da amostra em grama;



Legenda:

- (1) recipiente do solvente
- (2) recipiente de extração
- (3) funil
- (4) condensador

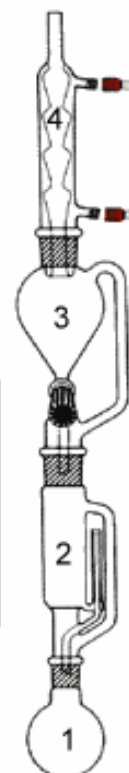


FIGURA 10. MONTAGEM DO DISPOSITIVO SOXHLET PARA A EXTRAÇÃO DA GORDURA

1.4.4 Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas total das três amostras de inhame estudadas foi obtido por incineração de 5g de amostra a 500°C, em mufla (Thermolyne 48000, F48010-26, Electrothermal Engineerinh Ltd, Essex, Reino Unido) (Figura 12).

O teor de cinzas foi calculado através da diferença de massa antes e depois da incineração (método AOAC 950.153). As análises foram efetuadas em triplicado e os resultados apresentados em percentagem (%) de cinzas tendo sido utilizado para o cálculo a expressão:

$$P2 - P1 = P$$

Onde:

P2 = Peso do cadinho com as cinzas;

P1 = Peso do cadinho vazio;

P = Peso das cinzas;

p = Peso da amostra em grama;

Posteriormente, para obter a quantidade em percentagem de cinzas segue-se a expressão:

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{P}{p} \times 100$$



FIGURA 11. MUFLA UTILIZADA PARA A DETERMINAÇÃO DAS CINZAS

1.4.5 Determinação do teor de hidratos de carbono totais por diferença

O teor de hidratos de carbono foi obtido indiretamente, por diferença dos restantes parâmetros do perfil nutricional das amostras, usando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Hidratos de Carbono} = 100 \% - (\% \text{ Humidade} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Gordura} + \% \text{ Cinzas})$$

Os resultados foram apresentados em percentagem (%) de hidratos de carbono.

1.5 Caracterização dos compostos fitoquímicos

Conforme referido anteriormente estudaram-se as melhores condições de extração dos fitoquímicos com diferentes solventes. Prepararam-se diferentes extratos com as diferentes amostras em avaliação. As diferentes determinações efetuadas descrevem-se a seguir.

1.5.1 Compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos inclui os fenóis totais, flavonoides e taninos e foi efetuada por um método espectrofotométrico, segundo metodologia previamente descrita (Alves *et al.*, 2010). Para elaborar a curva de calibração utilizou-se ácido gálgico como padrão. Colocaram-se 500 µL de extrato num tubo de ensaio adicionando 2,5 ml de reagente de Folin-Ciocalteau (RFC) diluído em água desionizada (1:10). Adicionaram-se 2,0 ml de carbonato de sódio para alcalinizar a solução e colocou-se em banho-maria a 45 °C durante 15 minutos ao abrigo da luz. Deixou-se em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. As leituras foram efetuadas a 765 nm.

1.5.1.1 Flavonoides Totais

Os flavonoides totais foram determinados por um método espectrofotométrico, seguindo uma metodologia previamente descrita por Costa *et al.*, (2014) com ligeiras modificações. A técnica envolveu a medida da absorvência, a 510 nm, do complexo AlCl₃-flavonoide, utilizando a reta de calibração de catequina, efetuada aquando das determinações.

Num tubo de ensaio colocou-se 1 ml de extrato, 4 ml de água destilada e 300 µL de nitrito de sódio a 25%. Após 5 minutos adicionaram-se 300 µL de AlCl₃ a 10% e aguardou-se 1 minuto. Adicionaram-se 2 ml de solução de hidróxido de sódio 1mol/L e 2,4 ml de água destilada. A solução final foi agitada em vortex e as leituras efetuadas a 510 nm.

1.5.1.2 Taninos

Para a determinação dos taninos totais utilizou-se o RFC, segundo metodologia previamente descrita por SHAD *et al.* (2012), tendo-se efetuado ligeiras modificações. O ácido tânico foi utilizado como padrão para a elaboração da curva de calibração. A 500 μL de amostra adicionaram-se 2,5 ml de reagente RFC (1:10). Agitou-se vigorosamente e após 3 minutos adicionaram-se 2 ml de solução de carbonato de sódio e deixou-se repousar durante 2 horas ao abrigo da luz. As leituras foram efetuadas a 725 nm.

1.6 Atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante foi efetuada por dois métodos, segundo metodologias previamente descritas (Benzie & Strain, 1996; Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995): capacidade de neutralização do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH•); avaliação do poder antioxidante por redução do íon férrico (método FRAP).

1.6.1 Capacidade de neutralização do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH•);

Efetuararam-se algumas alterações ao método descrito por Brand-Williams. O método consistiu em adicionar a 14 µL de extrato, 186 µL de solução etanólica de DPPH• ($6,0 \times 10^{-5}$ mol/L), agitar e efetuar as leituras a 525 nm, de 10 em 10 minutos, até a reação estabilizar, o que demorou cerca de 30 minutos. Baixos valores de absorvência indicam maior capacidade de neutralizar radicais livres.

1.6.2 Avaliação do poder antioxidante por redução do íon férrico (FRAP);

O método consiste na redução do complexo Fe (III) /ferricianeto [$\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] a Fe (II), forma ferrosa, pela presença do composto antioxidante na solução.

Assim, determinou-se o poder antioxidante por redução do íon férrico, segundo metodologia previamente descrita (Benzie & Strain, 1996), utilizando-se uma curva de calibração de sulfato ferroso. Num tubo de ensaio colocaram-se 90 µl de extrato, 270 µl de água destilada e 2,7 ml de reagente FRAP (750 ml de tampão acetato 0,3 M, 75 ml solução TPTZ 10 mM e 75 ml cloreto férrico 20 mM). Homogeneizou-se e colocou-se em banho-maria a 37°C. Após 30 minutos efetuararam-se as leituras a 595 nm.

Resultados E Discussão

2 Resultados e Discussão

Conforme referido anteriormente o objectivo deste trabalho foi estudar o valor nutricional e a capacidade antioxidante do inhame pé de elefante (*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicholson).

2.1 Análise Nutricional

Para tal, usaram-se neste estudo uma amostra fresca, a mesma amostra após cozedura e após liofilização.

A utilização de uma amostra de inhame cozido deveu-se ao facto do consumo deste tubérculo, pela comunidade timorense, ocorrer dessa forma.

A amostra liofilizada pretendeu representar um processo de conservação normalmente utilizada em estudos científicos.

A amostra de inhame fresco foi utilizada não só como controlo mas também para a caracterização do produto sem tratamento.

A energia contida nos alimentos é medida em termos de calorias (cal) e joules (J). Tecnicamente, uma caloria é a quantidade de energia necessária para elevar a temperatura de 1 grama de água a 1 grau Celsius (1,8 graus Fahrenheit). Quando falamos no teor energético dos alimentos, normalmente trabalhamos com uma unidade maior, 1000 vezes superior à caloria, a quilocaloria (kcal). No entanto, em contexto não científico a quilocaloria é muitas vezes referida como a caloria ("C" maiúsculo), ou apenas caloria. Outra unidade para expressar a energia é o Joule (J). Um Joule é a quantidade de energia gasta por uma força de 1 newton para mover um objecto 1 metro na direcção da força. À semelhança das calorias, um kiloJoule (kJ) é o equivalente a 1000 joule.

A relação entre kilocaloria e kilojoule é: $1 \text{ kcal} = 4,184 \text{ kJ}$.

A quantidade de energia contida nos alimentos e bebidas, ou gasta fazendo uma determinada actividade, tanto pode ser expressa em kilocalorias como em kilojoules. De

acordo com a actual regulamentação da EU sobre rotulagem dos géneros alimentícios, ambas as unidades (kcal e kJ) devem ser utilizados para a declaração do valor energético nos rótulos dos alimentos embalados. (Disponível em: <http://www.eufic.org/page/pt/page/what-is-energy/>)

A tabela 1 apresenta os valores obtidos na análise nutricional das amostras e o seu valor energético. Os parâmetros avaliados foram a humidade, gordura, proteína, cinzas e hidratos de carbono.

TABELA 1. ANÁLISE NUTRICIONAL DO INHAME, RESULTADOS EXPRESSOS EM PESO SECO

Amostra	Valor Energético (Kcal)	% Humidade	% Proteína	% Gordura Total	% Hidratos de carbono	% Cinzas
Inhame Fresco	374,8	77,74±0,25	10,02±0,82	1,11±0,11	81,17±0,38	7,11±0,04
Inhame cozido	380,5	80,64±0,02	9,24±0,14	1,36±0,07	82,73±0,05	6,41±0,27
Inhame liofilizado	372,8	4,18±0,01	9,22±0,03	0,76±0,05	82,28±0,05	7,72±0,01

Relativamente à humidade verificou-se que o produto cozido aumentou o seu teor em cerca de 3% (de 78% para 81%). A amostra liofilizada, tal como esperado, reduziu o seu teor de humidade para valores da ordem dos 4%, confirmando a sua eficácia e adequação para a conservação de alimentos.

Relativamente à gordura, a amostra cozida apresentou um valor ligeiramente superior à amostra fresca (1,4% para 1,1%) e a amostra liofilizada apresentou um teor de gordura inferior, da ordem de 0,8%. Estas diferenças de valores podem ser justificadas pelos diferentes processos, permitindo a cozedura uma maior disponibilidade da gordura. Pelo contrário, no produto liofilizado o solvente extrator de gordura parece não ser tão eficaz. Provavelmente existem alterações estruturais que dificultam a extração deste nutriente.

No caso da avaliação da percentagem de proteína nas três amostras verificou-se que os dois tipos de processamento levam a valores similares deste nutriente (da ordem de 9%) e inferiores ao valor determinado no produto fresco (10%).

Relativamente aos teores de cinzas determinados, a amostra que sofreu cozedura é a que apresenta teores inferiores (6,4%) o que pode ser explicado pela perda de minerais na água da cozedura. As restantes amostras apresentam teores de cinzas na ordem de 7%.

Os hidratos de carbono são os nutrientes mais abundantes, com teores na ordem dos 82%. À semelhança do que aconteceu com a gordura, a amostra cozida apresenta um teor ligeiramente superior de hidratos de carbono.

De um modo geral as alterações verificadas na composição nutricional das amostras não têm significado estatístico. Verifica-se, de uma maneira geral, que é um produto pobre em gordura, rico em cinzas e hidratos de carbono. A sua composição nutricional justifica a sua utilização como substituto de produtos amiláceos e justifica também ser chamado inhame, embora não pertencendo a essa família.

2.2 Compostos fitoquímicos

Os compostos bioativos dos alimentos vegetais contribuem para a sua capacidade antioxidante. Para a sua determinação, contrariamente à análise dos nutrientes, é necessário obter extratos nos quais se faz posteriormente a sua determinação.

Dadas as diferenças químicas dos diferentes compostos bioativos é previsível um comportamento variável perante solventes com diferentes polaridades.

Neste trabalho, e respondendo à necessidade de avaliar esse comportamento, prepararam-se 3 extratos. Os solventes usados foram: etanol, água e uma mistura hidroalcoólica (50:50); para a obtenção dos extratos procedeu-se à agitação constante (600 rpm) durante 1 hora a uma temperatura de 40 °C.

A tabela 2 resume os resultados obtidos na determinação dos teores totais de compostos fenólicos, taninos e flavonoides e compara os resultados obtidos nos diferentes extratos.

A observação dos valores da tabela 2 e relativamente ao solvente extrator parece evidente, em todas as amostras, que a mistura hidroalcoólica (50:50) é a mais eficaz na extração dos compostos estudados. Refere-se como exceção o caso dos flavonoides, na amostra liofilizada, em que o etanol 100% parece ser ligeiramente mais eficaz.

Relativamente aos compostos fenólicos totais, verifica-se que o processamento (cozedura e liofilização) melhoram a disponibilidade destes compostos bioativos. Os seus teores triplicam para o caso da amostra de inhame cozido (de 1,8 para 6,5 mg EAG/g) e sextuplicam no caso da amostra de inhame liofilizado (de 1,8 para 11,4 mg EAG/g) relativamente aos extratos hidroalcoólicos. Os extratos aquosos são os mais pobres neste tipo de compostos, mas o comportamento dos diferentes solventes é similar relativamente às amostras. Ou seja, os teores de compostos fenólicos aumentam do inhame fresco, para o cozido e finalmente para o liofilizado (de 1,2 para 3,2 mg EAG/g). No caso do etanol 100% também há uma tendência crescente dos teores de fenólicos totais, tal como referido para os outros solventes usados, mas no caso da amostra liofilizada verifica-se um poder extrator elevado, embora inferior ao apresentado pelo extrato hidroalcoólico.

O comportamento verificado para os taninos totais, com as amostras em estudo e os solventes avaliados, é semelhante ao descrito para os compostos fenólicos totais. Inclusivamente os valores são muito próximos, o que permite inferir que uma grande parte dos compostos fenólicos são taninos. Na amostra fresca os teores determinados são os mais baixos de todas as amostras, seguindo-se a amostra que sofreu cozedura e os extratos mais ricos são os obtidos com a amostra liofilizada. Sem dúvida que também neste caso o solvente mais adequado é a mistura hidroalcoólica (50:50).

Os teores de flavonoides determinados nos diferentes extratos, obtidos com os diferentes solventes e das diferentes amostras iniciais, são inferiores aos descritos para os outros compostos bioativos também determinados (fenólicos totais e taninos). Também aqui se verifica que os extratos do produto fresco são os mais pobres em flavonoides (inferior a 0,8 mg EEC/g) e os mais ricos são os extratos obtidos da amostra liofilizada (4,5-4,8 mg EEC/g). Também a mistura hidroalcoólica parece ser a mais

eficaz para obtenção destes compostos bioativos, nos diferentes extratos, embora no caso dos extratos de amostra liofilizada se verifique uma similaridade de valores entre os 2 solventes, mistura hidroalcoólica e etanol.

O inhame liofilizado é a amostra que tem o teor de compostos bioativos mais elevado, em todos os extratos analisados. Além de se ter verificado que é um processo muito eficaz na conservação dos alimentos, parece também ser a melhor forma de obter extratos ricos em fitoquímicos e de valor acrescentado. A partir deste estudo pode pensar-se na extração de determinados compostos (taninos) de forma sustentável para futura aplicação de conservantes naturais para a indústria alimentar, ou aplicação na indústria farmacêutica.

TABELA 2. ANÁLISE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DO INHAME EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO, À TEMPERATURA DE 40 °C

Amostra	Solvente de extração	Fenólicos totais	Taninos totais	Flavonoides totais
		mg EAG/g	mg EAG/g	mg EEC/g
Inhame Fresco	100% Água	1,21±0,10	1,20±0,11	0,52±0,02
	50% Água	1,83±0,06	1,79±0,09	0,81±0,06
	100% Etanol	0,56±0,05	0,51±0,07	0,25±0,03
Inhame cozido	100% Água	2,06±0,31	1,88±0,10	1,29±0,01
	50% Água	6,53±0,17	6,43±0,08	3,38±0,01
	100% Etanol	1,40±0,01	1,36±0,02	1,14±0,06
Inhame liofilizado	100% Água	3,22±0,01	3,13±0,21	1,18±0,09
	50% Água	11,43±0,23	11,20±0,32	4,54±0,25
	100% Etanol	8,44±0,13	8,38±0,13	4,76±0,19

No prosseguimento da caracterização dos compostos bioativos e da avaliação da capacidade antioxidante dos extratos preparados, procedeu-se à determinação da capacidade de neutralização do radical DPPH^{*} e o poder de redução do íon férrico (método FRAP). A tabela 3 resume os resultados obtidos com os diferentes extratos.

À semelhança do que tem sido referido, o solvente extrator mais eficaz, no caso dos 2 ensaios em discussão, foi a mistura hidroalcoólica (50:50). A única exceção ocorreu no método do DPPH^{*} com o etanol 100%. Neste caso o extrato alcoólico apresentou uma percentagem de inibição significativamente superior à determinada com a mistura hidroalcoólica.

Dos 3 tipos de extratos obtidos com as diferentes amostras (fresca, cozida e liofilizada), e no que se refere ao método do DPPH^{*} verifica-se:

- Os extratos de inhame fresco são sempre os que apresentam menores percentagens de inibição. Tal comportamento indicia uma melhor eficácia de extração quando o tubérculo sofre algum tipo de processamento. Neste caso específico o melhor solvente é a mistura hidroalcoólica conforme já referido e o pior é o etanol 100%.

- Os extratos obtidos de amostras processadas (cozidas ou liofilizadas) apresentam comportamentos diversos, dependentes do tipo de solvente usado.

- Os extratos aquosos de inhame cozido são os que apresentam maior percentagem de inibição (36,7% para 15,8 e 24,2%) comparativamente com as outras amostras em avaliação.

- Os extratos de inhame liofilizado são, de uma maneira geral, os que apresentaram maior atividade antioxidante. Contrariamente ao verificado, neste tipo de extratos o melhor solvente extrator foi o etanol 100% com 93% de inibição. Neste caso deveria ter sido feita uma diluição para melhor se verificar este comportamento. De qualquer modo trata-se de um produto de elevado interesse nesta área.

**TABELA 3. ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO INHAME EM DIFERENTES
CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO**

Amostra	Solvente de extração	DPPH % inibição	FRAP mg ESF/g
Inhame Fresco	100% água	15,75±0,07	5,03±0,09
	50% água	28,74±0,87	7,93±0,10
	100% Etanol	9,22±0,22	1,61±0,05
Inhame cozido	100% água	36,72±0,87	5,20±0,04
	50% água	78,16±1,38	32,22±0,06
	100% Etanol	44,05±2,25	8,46±0,07
Inhame liofilizado	100% água	24,24±0,15	7,17±0,05
	50% água	65,31±0,58	35,47±0,08
	100% Etanol	93,25±0,22	33,12±0,04

O método FRAP foi igualmente aplicado aos extratos em avaliação. Comparativamente com o método do DPPH, os valores obtidos são bastante inferiores, embora o que se determine seja diferente. Verificou-se que:

- O melhor solvente extrator continua a ser a mistura hidroalcoólica (50:50).
- O inhame fresco é a amostra que fornece extratos com valores inferiores neste parâmetro. E dentro destes, o extrato etanólico é o que tem menor poder redutor do ião férrico.
- Os extratos de inhame liofilizado são os que apresentaram valores mais elevados para este parâmetro. Comparativamente com os extratos de inhame cozido apenas o extrato etanólico apresentou valores muito superiores (de 8,5 para 33 mg ESF/g).

Conclusões

3 Conclusões

O estudo efetuado confirma alguma da informação disponível acerca deste tubérculo, indiciando o interesse do seu consumo. Verificou-se que tem uma composição nutricional adequada, acompanhada pela presença de alguns compostos bioativos com interesse para o estado de saúde dos consumidores.

Parece do maior interesse a divulgação dos resultados obtidos, tanto mais que se pretende aumentar o consumo deste tipo de alimentos em Timor leste e no Brasil, sendo de importância estratégica nestes tempos em que se aproxima a falta de alimentos mais convencionais. O aparecimento de uma fonte alternativa de hidratos de carbono pode resolver alguns problemas nas alturas de falta de alimentos, mas pode também retomar uma tradição antiga que está esquecida e ignorada pelas populações mais jovens.

Perspetivas

Futuras

4 Perspetivas Futuras

O inhame pé de elefante e de outras espécies são constituídos maioritariamente por hidratos de carbono. O conteúdo de amido é o principal fator de qualidade do inhame, o qual pode variar em função da adubação (Oliveira *et al.*, 2002). Segundo Vieira e Heredia Zárate (2002) o *Colocasia esculenta L. Schot* possui cerca de 40 a 60 % de partes amiláceas e, no estudo, encontrou no inhame 65,98% de amido, associado à fibra bruta.

As indústrias alimentares são as maiores consumidoras de amido, e este polímero também é utilizado num grande número de processos industriais, nomeadamente pelas indústrias químicas e têxtil. Atualmente, devido às restrições a amidos modificados, impostas principalmente pelas indústrias alimentares, as empresas produtoras de amidos no mundo vêm mostrando um interesse cada vez maior em amidos naturais com características que respondam ao mercado consumidor. Desta forma, os países pertencentes às regiões tropicais, como o Brasil, apresentam grande vantagem em relação aos principais produtores de amido no mundo, que estão localizados em regiões temperadas, devido à variedade de culturas tropicais amiláceas.

Neste contexto, pretende-se com este trabalho:

- divulgar o cultivo de plantas amiláceas no Brasil com destaque para o inhame ;
- determinar os valores do amido para posteriormente obter industrialmente, uma vez que não existe o processamento industrial do inhame no país;
- determinar os valores de fibra solúvel;
- expandir o seu consumo e sua utilização devido às suas potencialidades como substrato na indústria alimentar e farmacêutica.

5 Referências Bibliográficas

American Heart Association. AHA Scientific Statement. Dietary guidelines. Revision 2000. **A statement for health care professionals from the nutrition committee of the American Heart Association.** *Circulation* 102 (2000) 2284-2299.

Angayarkanni, J.; Ramkumar, KM; Poornima, T.; Priyadarshini, U. **Cytotoxic Activity of Amorphophallus paeoniifolius Tuber Extracts In vitro.** *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 2 (2007) 395-398.

Aprikian, O.; Levrat-Vernyy, M.; Besson, C.; Busserolles, J.; Rémésy, C.; Demigné, C. **Apple favourably affects parameters of cholesterol metabolism and of anti-oxidative protection in cholesterol-fed rats.** *Food Chemistry* 75 (2001) 445-452.

Astutik, S. **Tubers Suweg, Alternative Food Rich Benefits.** Mitra Sekolah, UKM. 2011. Disponível em: <http://ksupointer.com/umbi-suweg-alternatif-pangan-kaya-manfaat>), [Acedido em 19 de Setembro de 2013]

Badaró, A; Gutierrez, A; Rezende, A; Stringheta, P. **Alimentos probióticos: Aplicações como promotores da saúde humana – parte 1.** *Revista Digital de Nutrição*, v.2 – n.3, 2008.

Barreiros, A. L. B. S.; David, J. M. **Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo.** *Química Nova*, v. 29, n.1, (2006) 113-123.

Bartosz, G. **Oxidative stress in plants.** *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 19 (1997), 47-64.

Barzilai, A.; Yamamoto, K-I.; **DNA Repair**, 3 (2004) 1109.

Basu, S., Sen, A., Das, M., Nath, P., Datta, G. **Phytochemical evaluation and in vitro study of antioxidant Potency of amorphophallus campanulatus, alocasia indica and**

Colocasia esculenta: a comparative analysis. Int J Pharm Bio Sci, 3(3) (2012) 170 – 180.

Beckman, KB.; Ames, BN. **The free radical theory of aging matures:** State of the art. American J. Med. 91 (suppl. 3C) (1998) 3C-2S-3C-13S.

Benzie, I. e Strain, J. **The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”:** The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. 239 (1996) 70-76.

Bhattacharjee, S. **Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell.** In: GUPTA, S. D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: Science Publishers (2010) 1-30.

Bibu, KJ, Joy, AD e Mercey, KA. **Therapeutic effect of ethanolic extract of Hygrophila spinosa T. Anders on gentamicin-induced nephrotocity in rats.** Ondian Journal of Experimental Biology. Vol. 48 (2010) 911-917.

Blokina, O. *et al.* **Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review.** Annals of Botany, v. 91 (2003) 179-194

Bradury, JH; Holloway, WD. **Chemistry of tropical root crops: significance for nutrition and agriculture in the Pacific.** Australian Centre for <international Agricultural Research, Canberra, Australia, 1988.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. **Use of a Free-Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity.** Food Sci Technol-Leb. 1995;28(1):25-30.

Bravo, L. **Polyphenos: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance.** Nutr. Reviews. v. 56, n.11, nov (1998) p. 317-333.

Cadet, J.; Douki, T.; Gasparutto, D.; Ravanat, J. L.; **Mutat.** Res.531 (2003) 5

Caixa Geral de Depósitos. **Timor-Leste. Oportunidades e Potencial de Desenvolvimento. Internacionalização das Economias**, Lisboa, Junho (2014) 60 p. Disponível em <http://www.portugalglobal.pt/PT/geral/Documents/DOCs2014/InternacionalizacaEconomiasEstudoTimorElaboradoCGD.pdf> [Acedido em 20 de dezembro de 2013]

Caragay, Ab. **Cancer preventive foods and ingredients**. Food Technol. 46(1992) 65-68, 1992.

Cerequeira, F. M.; Medeiros, M. H. G; Augusto, O. **Antioxidantes Dietéticos: controvérsias e perspectivas**. Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo. Quim. Nova, Vol. 30, No. 2 (2007) 441-449.

Chang, R. **Química, Lisboa**: McGraw-Hill, 1994.

Chattopadhyay, A.; Nath, R. **Medicinal importance of some well known and unexploited roots and tubers**. Agriculture uptade. Hind. Agri-Hort. Soc. 2 (2007) 80-82.

Chowdhury, B; Hussain, M. **Chemical composition of the edible parts of aroids grown in Bangladesh**. Indian J. Agr. Sci. 49 (1979) 110-115.

Conselho Europeu de Informação Alimentar (EUFIC). Disponível em <http://www.eufic.org/page/pt/page/what-is-energy> [Acedido em 13 de janeiro de 2014]

Costa, C.K. **Estudo Fitoquímico de Bixa orellana; Bixaceae e aplicação de seu óleo em formulação cosmética**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (2007) 115.

Costa, A.S.G., Alves, R.C., Vinha, A.F., Barreira S.V.P, Nunes, M.A., Cunha, L.M., Oliveira, M.B.P.P. **Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, roasting by-product, having in view a sustainable process**. Industrial Crops and Products 53 (2014) 350– 357.

Curtin, J. F.; Donovan, M.; Cotter, T. G. **Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis.** J. Immunol. Methods., 265, (2002) 49-72.

Daniel, M. **Medicinal plants: Chemistry and properties.** Science Publishers. USA, 2006.

Dargel, R. **Lipid peroxidation – a common pathogenetic mechanism?** Exp Toxic Pathol, 44 (1993) 169-181.

Das, SS; Sen M, Dey, YN; De, S; Ghosh, AK. **Effects of petroleum ether extract of Amorphophallus paeoniifolius tuber on central nervous system in mice.** Indian J Pharm Sci ;71 (2009) 651-5.

Dauchet, L; Amouyel, P; Hercberg, S; Dallongeville, J. **Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies.** J Nutr. 136 (10), (2006) 2588-2593.

Davis Júnior, W.; Ronai, Z.; Tew, K. D. **Cellular thiols and reactive oxygen species in drug-induced apoptosis.** Perspectives in Pharmacol., 296 (2001) 1-6.

De, S., Dey, Y.N., Ghosh, A.K. **Anti-inflammatory activity of methanolic extract of Amorphophallus paeniifolius and its possible mechanism.** International Journal Pharma Bio Sciences, 1 (3), (2010) 1-8.

De, S., Dey, Y. N., Ghosh, AK. **Phytochemical investigation and chromatographic evaluation of the different extracts of tuber of Amorphophallus paeoniifolius (Araceae).** International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research, Vol.1(5), (2010) 150-157.

Defelice, SL. **The nutraceutical revolution: its impact on food and industry R & D.** Trends Food Sci Technol. 6 (1995) 59-61.

Dey, Y., Ota, S., Mahvish, J., Wanjari, M. **A phytopharmacological review on an important medicinal plant - Amorphophallus Paeoniifolius.** An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda 33 (1) Jan-Mar (2012) 27-32.

Dey, YN, De, S, Ghosh, AK. **Evaluation of Anthelmintic Activity of the Methanolic Extract of Amorphophallus Paeoniifolius Tuber.** International Journal of Pharma and Bio Science. 1 (11) (2010) 117-121.

Dey, Y., Ghosh, A K. **Pharmacognostic evaluation and phytochemical analysis of the tuber of Amorphophallus Paeoniifolius.** International Journal Pharmaceutical Research Development. 2 (9), (2010), 44-49.

Diaz, A.; Horjales, E.; Rudino-Pinera, E.; Arreola, R.; Hansberg, W.; J. Mol. Biol. 342 (2004) 971.

Dossiê: Fibras Alimentares. Rev. Food Ingredients Brasil.nº 3 (2008) 42-65. [Acedido em 02 de fevereiro de 2014]. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/63.pdf>

Faure, A. M *et al.* **Ascorbic acid induced degradation of beta-glucan: hydroxyl radicals as intermediates studied by spin trapping and electron spin resonance spectroscopy.** Carbohydrate Polymers, 87 (2012), 2160-2168.

FAO- Faostat Database Results 2005. Disponível em : <<http://www.apps.fao.org> >[Acedido em 20 de dezembro de 2013]

Frei, B. **Molecular and biological mechanisms of antioxidant action.** FASEB J. 13 (1999) 963-964.

Gabbita, S. P. **Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction.** Free Radical Biology and Aging Program. 376 (2000) 1-13.

Gadjev, I. *et al.* **Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide.** International Review of Cell and Molecular Biology, 270 (2008) 87-144.

George, SM; Park, Y; Leitzmann, MF; Freedman, ND; Dowling, EC; Reedy, J; Schatzkin, A; Hollenbeck, A and Subar, A F. **Fruit and vegetable intake and risk of cancer: a prospective cohort study**. American Journal Clinical Nutrition, 89 (2009) 347-353.

Gil, S.S.; Tuteja, N. **Reactive oxygen species and antioxidante machinery in abiotic stress tolerance in crop plants**. Plant Physiology and Biochemistry, 48 (2010), 909-930.

Gimenes, B. J. **Fitoenergética: a energia das plantas no equilíbrio da alma**. 3. ed. Nova Petrópolis: Luz da Serra, 2009.

Govaerts, R., Frodin, D.G., Bogner, J., Boyce, P., Cosgriff, B., Croat, T.B., Gonçalves, E.G., Grayum, M.H., Hay, A., Hettercheid, W., Landolt, E., Mayo, S.J., Murata, J., Nguyen, V.D., Sakuragai, C.M., Singh, Y., Thompson, S. & Zhu, G. 2011 (continuously updated). CATE- Araceae 2011. **World checklist of Araceae (and Acoraceae)**. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. Acedido a 13 de novembro. 2013. Disponível em: <<http://www.kew.org/wcsp>

Gouvêa, A. C. M. S. **Quantificação das antocianinas majoritárias do açaí por cromatografia líquida de alta eficiência**. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2010.

Guchait, P., & Cho, S. **The impact of human resource management practices on intention to leave: the mediating role of organizational commitment**. The Graduate Education & Graduate Students Research in Hospitality and Tourism, Orlando, FL, 2008.

Halliwell, B, Clement, MV, Long, LH. **Hydrogen peroxide in the human body**. FEBS Letters, 486 (2000) 10-13.

Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O., Usman, L.A., Ameen, O.M., Lawali, A. **Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications**, African Journal of Pure and Applied Chemistry 4 (8), (2010) 142-151.

Hampton, M.; Morgan, P.; Davies, M. J.; FEBS LETT. 527 (2002) 289.

Harinantenaina, L. **Tocotrienols in Plants: Sources and Importance**. In: WATSON, R.R.; PREEDY, V.R. Tocotrienols: vitamin E beyond tocopherols. The American Oil Chemist's Society (AOCS), (2008) cap.4, p.43.

Harman, D. **Aging: a theory based on the free radical and radiation chemistry**. J. Gerontol. 11:298-300, consultado em Mota, Paula M.; Figueiredo, Pedro A.; Duarte, José A. 2004. Teorias biológicas do envelhecimento. Revista Portuguesa de Ciência do Desporto. Volume 4, nº 1, (1966) 81-110.

Hartley, L; Igbinedion, E; Holmes, J; Flowers, N; Thorogood, M; Clarke, A; Stranges, S; Hooper, L; Rees, K. **Increased consumption of fruit and vegetables for the primary prevention of cardiovascular diseases**. The Cochrane Library. 2013.

Hasler, C. M. **The Changing Face of Functional Foods**. **Journal of the American College of Nutrition**, 19, n.5 (2000).499-506.

Hawkins, C. L.; Davies, M. J.; Biochim. Biophys. ACTA, 1504 (2001) 196.

Heasman, M. & Mellentin, J. **The Functional Foods Revolution. Healthy People, Healthy Profits?** London : Earthscan. 2001.

Hettterscheid, W.L.A. **Preliminary Taxonomy and morphology of Amorphophallus Blume ex Decaisne (Araceae)**. In M.M. Serebreyanyi (ed.) Proc. Moscow Aroid Conference 1992:35-48 (1994) Moscow.

Hettterscheid, W., Ittenbach, S. **Everything you always wanted to know about Amorphophallus, but were afraid to stick your nose into Aroideana** 19:7-131. The Genera of Araceae. Royal Botanic Gardens Kew (1996) London.

Huang, D. **The chemistry behind antioxidant capacity assays.** J. Agric Food Chem., v. 56, n.53 (2005) 1185-1841.

Horwitt MK. **Critique of the requirement for vitamin E.** Am J Clin Nutr, 73:6 (2001) 1003-1005.

Islam, Z., Hossain, M., Paris, T., Hardy, B. Gorsuch, J. **Technologies for Improving Rural Livelihoods in Rainfed Systems in South Asia. Los Baños (Philippines):** International Rice Research Institute, 2007.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção 2001. Disponível em : <<http://www.sidra.ibge.gov.com.br> >[Acedido em 20 de dezembro de 2013]

Jayaraman, A., Mohan, R.K., Ulaganathan, P., Poornima, R. **Antioxidant potential of Amorphophallus paeoniifolius in relation to their phenolic content.** Pharmaceutical Biology. 48(6), (2010) 659-665.

Karuppanapandian, T. *et al.* **Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms.** Australian Journal of Crop Science, v.5, n.6, (2011) 709-725.

Khan, Al., Rahman, M., Islam S. **Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activities of Tuberous Roots of Amorphophallus campanulatus.** Department of Pharmacy, University of Rajshahi, Rajshahi 6205, Bangladesh 31 (2007) 167-172.

Kovalchuk, I. **Multiple roles of radical in plants.** In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: Science Publishers (2010) 31-44.

Lee, J; Koo, N; Min, DB. **Reactive Oxygen Species, Aging and Antioxidative Nutraceuticals.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Volume 3, 2004.

Lima, E. S.; Abdalla, D. S. P. **Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 37, n. 3 (2001), 293-303.

Liu, RH. **Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals.** Am J Clin Nutr; 78:S517-S520, 2003.

Lledias, F.; Hansberg, W.; Photochem. Photobiol. 70 (1999) 887.

Locato, V. *et al.* **Reactive oxygen species and ascorbate-glutathione interplay in signaling and stress responses.** In: GUPTA, S. D .Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: Science Publishers (2010) 45-64.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. **Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health.** Pharmacogn Rev. 4(8), (2010) 118-126.

Loziene, K., Venskutonis, P.R., Sipailiene, A., Labokas, J. **Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different Thymus ulegioides L. chemotypes.** Food Chemistry, 103 (2007) 546-559.

Martin, C; Butelli, E; Petroni, K; Tonelli, C. **How Can Research on Plants Contribute to Promoting Human Health?** Plant Cell, 23 (2011) 1685-1699.

Matés, M. **Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology.** Toxicol., n. 153 (2000) 83-104.

Martínez-Flórez, S.; González-Gallego, J.; Culebras, J.M.; Tuñón, M.J. **Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes.** Nutricion Hospitalaria, 17(6), (2002) 271-278.

Martinez, G. R.; Loureiro, A. P. M.; Marques, S. A.; Miyamoto, S.; Yamaguchi, L. F.; Onuki, J.; Almeida, E. A.; Garcia, C. C. M.; Barbosa, L. F.; Medeiros, M. H. G.; Di Mascio, P.; Mutat. Res. 544 (2003) 115.

Miamoto, J. B. M. **Obtenção e caracterização de biscoito tipo cookie elaborado com farinha de inhame (Colocasia esculenta L.)**, Lavras (2008) 132p.

Monsen E.R. **Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients: vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids**. J Am Diet Assoc, 100:6 (2000) 637-640.

Moraes, F.P & Colla, L.M. **Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios à saúde**. Revista Eletrônica de Farmácia, vol. 3 (2), (2006) 99-112.

Mukhopadhyay, SK.; Sen, H. **Effect of Azotobacter on corm yield of elephant foot yam**. J Root Crops 25 (1999) 159-162.

Mylona, P.V.; Polidoros, A. N. **ROS regulation of antioxidant genes**. In: GUPTA, S. D. Reactive oxygen species species and antioxidants in higher plants. Enfield: Science Publishers (2010), cap. 6, 101-128..

Naczka, M.; Shahidi, F. **Extraction and analysis of phenolics in food**. J Chromatogr A. 1054(2), (2004) 95-111.

Nataraj, HN., Murthy, RLN., Ramachandra, S. **In vitro antioxidant and free radical scavenging potential of Cyanotis fasciculata var. fasciculata**. Oriental Journal of Chemistry. 25(4), (2009) 1105-1108.

Nath, R.; Kundu, CK.; Majumder, A.; Gunri, S.; Biswas, T.; Islam, Sk J.; Chattopadhyay, A.; Sen, H. **Seed corm production of elephant foot yam [Amorphophallus paeoniifolis (Dennst) Nicholson] Trough mini corm setts in rainfed laterite ecosystem of Eastern India**. J Root Crops 33 (2007) 30-37.

Neto, P. A. S. P.; Filho, J. L.(Orgs.) **Inhame. O Nordeste Fértil**. 1ª Ed. Brasil: UFAL, 2000. ISBN 8571770867

O'Keefe JH, Nelson J, Harris WB. **Life-style change for coronary artery disease.** Postgrad Med, 99:2 (1996) 89-106.

Oliveira, A.P.; Freitas, N. P.; Santos E.S. **Qualidade do inhame 'Da Costa' em função das épocas de colheita e da adubação orgânica.** Horticultura Brasileira, Brasília 20:(2002) 115-118.

Pal, DC. **Some plants in homeopathic systems of medicine in India**, in: Maheshwari JK, eds, Ethnobotany Medicinal Plants of Indian Subcontinent. New Delhi, Scientific Publishers, (2000) 79-83.

Parkinson, S. **The contribution of aroids in the nutrition of people in th South Pacific**, (1984) 215-224. In: S. Chandra (ed.). Edible aroids. Clarendon Press, Oxford.

Pimentel, E.K. **O uso de plantas medicinais na saúde pública.** Boletim agroecológico, Botucatu, v.2, n.6, abr (1998) 8-9.

Profumo, E., Buttari, B., Riganó, R. **Oxidative Stress in Cardiovascular Inflammation: Its Involvement in Autoimmune Responses.** International Journal of Inflammation. (2011) 1-6.

Pullaiah T. **Encyclopedia of world medicinal plants.** Regency Publications. India. 2006.

Raghu, K.L., Ramesh, C.K., Srinivasa, T.R., Jamuna, K.S. **Total antioxidant capacity in aqueous extracts of some common vegetables.** Asian Journal Experimental Biology Science. 2(1), (2011) 58-62.

Ratnam, DV, Ankola, DD, Bhardwaj, V, Sahana, DK, Ravi Kumar, MNV. **Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective.** J. Contr. Rel. V.113 (2006) 189-207.

Ritesh, M. **Know about Karunai Kilangu (Elephant Foot Yam).**India. 2011.

Saldanha, H. **Nutrição Clínica. Lidel** - Edições técnicas, Lda, 1999.

Saikia, T.; Borah, RC. **Biochemical composition of acrid and non-acrid *Amorphophallus* corms.** J. Agric. Sci. Soc. Northeast India 7: (1994) 90-91.

Sakai, WS. **Aroid root crops: *Allocaasia*, *Cyrtosperma* and *Amorphophallus*,** (1983) 29-83. In: H.T. Chan (ed). Handbook of tropical foods. Marcel Dekker, New York, N. Y.

Santos, E. S. **Manejo da cultura do inhame.** In: CARMO, C. A. S. do. Inhame e taro: Sistema de produção familiar. Vitória: Incaper (2002) 253-279.

Santosa, E. & Sugiyama, N. **Growth and Production of *Amorphophallus paeoniifolius* Dennst. Nicolson from Different Corm Weights.** Bulletin Agronomy. 35(2), (2007), 81-87.

Shing, P.; Srivastava, M.; Khemami, LD. **Renoprotective effects of *Andrographis paniculata* (Burm f) Nee in rats.** Upsala Journal of Medical Sciences. Vol. 114 (2009) 136-139.

Sies, H. **Oxidative Stress: Introductory Remarks.** In H. Sies (Ed.) Oxidative Stress. Londres: Academic Press, 1-8consultado em Mota, Paula M.; Figueiredo, Pedro A.; Duarte, José A. 2004. Teorias biológicas do envelhecimento. Revista Portuguesa de Ciência do Desporto. Volume 4, nº 1, (1985) 81-110.

Sing, A.B.; Awasthi, C. P.; Singh, N.; Singh, N. A. D. **Biochemical composition and nutritive value of promising collections of elephant fooy yam (*Amorphophallus campanulatus* Roxb.).** Veg. Sci. 26: (1999) 186-187.

Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z. **Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities.** Food Chemistry, 89 (2005) 191-198.

Slupphaug, G.; Kavli, B.; Krokan, H. E.; Mutat. Res. 531 (2003) 231.

Sohal, RS.; Dubey. A. **Mitochondrial oxidate damage, hydrogen peroxide release, and aging**. Free Rad. Biol. Med. 16. 5 (1994) 621-626.

Sohal, RS. The **free radical hypothesis of aging: Na appraisal of the current status**. Aging Clin. Exp. Res 5 (1993) 3-17.

Squier, TC.; Bigelow, DJ. **Protein oxidation and age-dependent alterations in calcium homeostasis**. Frontiers in Biosciences, 5 (2000) 504-526.

Tandon, V., Kappor, B., Gupta, BM. **Herbal drug research in India: a trend analysis using IJP as a marker**. Indian J. Pharmacol., 36(2) (2004) 99-100.

Teske, M.; Trentini, A.M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 3. ed. Curitiba - editado por Herbarium Laboratório Botânico (1994) 51-53.

Thomas, PR.; Earl, R (editors). **Enhancing the food supply. In: Opportunities in the nutrition and food sciences**. Washington, DC: National Academy Press (1994) 98-142.

Traber MG. **Vitamin E**. In: Shils ME, *et al.*, editors. Modern nutrition in health and disease. 9th ed. USA: Williams & Wilkins (1998) 347-361.

Triantaphylides, C.; Havaux, M. **Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling**. Trends in Plant Science, v. 14, n. 4 (2009)219-229.

Trueba, L.G.P. **Los flavonoides: oxidantes e prooxidantes**. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 22(1), (2003) 48-57.

Valko, M., Leibfritz D., Moncol, J., Cronim, M.T., Mazur, M., Telser, J. **Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease**. International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 39 (2007) 44-84.

Virag, L., Szabo, E., Gergely, P., Szabo, C. **Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention.** Toxicol. Lett. 140-141 (2003) 113-124.

Volp, A. C. P.; Renhe, I. R. T.; Barra, K.; Stringueta, P. C. **Flavonoides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde.** Revista Brasileira de Nutrição Clínica, 23(2), Viçosa (2008) 141-149.

Yu, BP. Cellular **defenses against damage from reactive oxygen species.** Physiology Review, 74 (1994) 139-162.

Zárate , N. A. H.; Vieira, M. C.; Minuzzi, A. **Produtividade de cinco clones de inhame, custos e uso na panificação caseira.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 26, n 6, nov./dez. (2002)1236-1242.

Zielinski, H. **Tocotrienols: Distribution and Sources Cereals – Role in Human Health.**In: WATSON, R.R.; PREEDY, V.R. Tocotrienols: vitamin E beyond tocopherols. The American Oil Chemist's Society (AOCS), (2008) cap.3, 24.