

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS



200206326

**DETERMINAÇÃO DE GLICOALCALÓIDES
EM BATATAS IN NATURA: EFEITO DA LUZ E TEMPERATURA**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Rita Margarete Donato Machado**, aprovada pela Comissão Julgadora em 18 de dezembro de 2001.

Campinas, 18 de dezembro de 2001

RITA MARGARETE DONATO MACHADO
Engenheira de Alimentos

m. cecília de f. toledo
Profa. Dra. Maria Cecília de F. Toledo
Presidente da Banca

PROFa. DRa. MARIA CECÍLIA DE FIGUEIREDO TOLEDO
Orientadora

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos
da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção
do título de Mestre em Ciência de Alimentos

2001

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
	UNICAMP
	M18d
V.	
T.	47527
PRIC	837/02
C	☐
D	☒
PREC	R\$ 11,00
DATA	06-02-02
N.º CPD	

CM00163066-9

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

M18d Machado, Rita Margarete Donato
Determinação de glicoalcalóides em batatas in natura: efeito
da luz e temperatura / Rita Margarete Donato Machado. –
Campinas, SP: [s.n.], 2001.

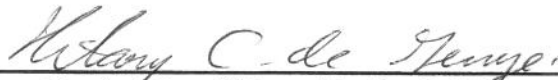
Orientador: Maria Cecília de Figueiredo Toledo
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.*Glicoalcalóides. 2.Batata. 3.Solanina. 4.Cromatografia
liquida de alta eficiência. I.Toledo, Maria Cecília de Figueiredo.
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia
de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

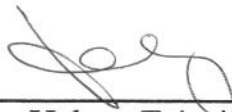


Profa. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo



Profa. Dra. Hilary Castle de Menezes

Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante



Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy
(Suplente)

Aos meus pais João e Izaura e ao
meu marido Ricardo pelo amor e motivação

Dedico

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus pelo amparo em todos os momentos no cumprimento de mais esta etapa e a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho através do incentivo, amizade e sugestões técnicas.

À Professora Maria Cecília de Figueiredo Toledo pela orientação e oportunidade deste incalculável aprendizado.

Aos amigos do Laboratório de Toxicologia, Sílvia Amélia, Antonio, Sílvia Helena, Monica, Gisele e muitos outros que de alguma forma contribuíram para uma estada agradável e produtiva. Em particular, agradeço a Lucila, estagiária de iniciação científica, pelo auxílio durante os experimentos.

À minha família, em particular o meu irmão José Luiz, a minha sobrinha Alexandra e Lúcia, pela ajuda que me motivou a vencer os obstáculos surgidos.

À professora Adilma R. P. Scamparini pela possibilidade de uso dos equipamentos do Laboratório Geral de Ciência de Alimentos e à Karla Nery pela sua paciência e disponibilidade.

Agradeço a todos os professores e funcionários da Faculdade de Engenharia de Alimentos que me auxiliaram durante o desenvolvimento deste trabalho, e em especial à professora Helena Teixeira Godoy pelos inúmeros esclarecimentos de dúvidas surgidas durante a realização das análises cromatográficas.

Ao pessoal da Secretaria do Departamento de Ciência de Alimentos Jardete, Marcos, Marquinhos e Ricardo pelas informações e apoio técnico.

Ao meu marido Ricardo pelo incentivo e pelas inúmeras dicas de informática.

À FAPESP (Fundação de amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo suporte financeiro concedido por intermédio de bolsa e reserva técnica (processo n. 99/08476-5).

“Acorda-nos, Senhor da Vida,
Para a luz das oportunidades presentes;
Para que os atritos da luta não as inutilizem,
Guia-nos os pés para o supremo bem;
Reveste-nos o coração
Com a Tua serenidade paternal,
Robustecendo-nos a resistência!
Poderoso Senhor,
Ampara-nos a fragilidade,
Corrige-nos os erros,
Esclarece-nos a ignorância,
Acolhe-nos em Teu amoroso regaço”

(Eusébio – No Mundo Maior)

SUMÁRIO

Resumo Geral	01
Introdução Geral	03
Referências Bibliográficas	06
Capítulo 1: Revisão Bibliográfica	09
1. Estruturas dos principais glicoalcalóides presentes em tubérculos de batata	10
2. Biossíntese	12
3. Aspectos toxicológicos	13
3.1. Toxicidade	13
3.2. Ingestão diária aceitável (IDA)	18
4. Níveis de glicoalcalóides em batatas <i>in natura</i> e processadas	19
5. Efeito da luz e temperatura na formação de glicoalcalóides	24
6. Metodologia	27
7. Considerações gerais sobre parâmetros de validação de metodologia	32
7.1. Introdução	32
7.2. Exatidão	32
7.3. Precisão	33
7.4. Limite de detecção e limite de quantificação	34
7.5. Linearidade	35
8. Referências bibliográficas	37

Capítulo 2: Determinação de Glicoalcalóides em Batatas <i>in natura</i> (<i>Solanum tuberosum</i> L.) Comercializadas na Cidade de Campinas, Estado de São Paulo	49
Resumo	50
Abstract	51
1. Introdução	52
2. Materiais e métodos	54
2.1. Amostragem	54
2.2. Preparação da amostra	55
2.3. Extração e clarificação	56
2.4. Limpeza em cartucho de extração fase-sólida C18	56
2.5. Análise cromatográfica	56
2.6. Quantificação e identificação dos glicoalcalóides	57
2.7. Validação de metodologia	58
3. Resultados e discussão	58
4. Conclusões	68
5. Referências bibliográficas	69
 Capítulo 3: Estudo do Efeito da Luz e Temperatura na Formação de Glicoalcalóides em Batatas <i>in natura</i>	 73
Resumo	74
Abstract	75
1. Introdução	76
2. Materiais e métodos	78
2.1. Amostragem	78

2.2. Tratamentos	80
2.3. Medição da intensidade de luz	81
2.4. Preparação das amostras, extração e análise cromatográfica	81
2.5. Recuperação	81
3. Resultados e discussão	82
3.1. Parâmetros monitorados e recuperação	82
3.2. Experimento 1	83
3.3. Experimento 2	85
4. Conclusões	90
5. Referências bibliográficas	91

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1: Composição das formas estruturais α , β e γ de solaninas e chaconinas	10
Tabela 2: Níveis de glicoalcalóides totais (GAT) em várias partes da planta de batata	20
Tabela 3: Níveis de glicoalcalóides totais (GAT) em batatas <i>in natura</i> comercializadas na Suécia	22
Tabela 4: Teor de glicoalcalóides totais (mg/kg) em tubérculos de batatas após três semanas de tratamento	26
Tabela 5: Utilização de CLAE com coluna de fase-reversa na determinação de α -solanina e α -chaconina	29
Tabela 6: Níveis de recuperação de padrões dos glicoalcalóides em diferentes adsorventes	31

Capítulo 2

Tabela 1: Valores de recuperação dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina em amostras de tubérculos de batata	60
Tabela 2: Limites de detecção e de quantificação calculados a partir de curvas de calibração construídas com os padrões α -solanina e α -chaconina	61

Tabela 3: Variação dos níveis de glicoalcalóides totais (GAT) (α -solanina + α -chaconina) em amostras de tubérculos inteiros	62
Tabela 4: Aspecto visual dos tubérculos analisados e teor de glicoalcalóides totais (GAT)	66
Capítulo 3	
Tabela 1: Peso médio do tubérculo para cada tratamento	78
Tabela 2: Peso médio do tubérculo para cada tratamento e tamanho	79
Tabela 3: Variação dos parâmetros monitorados nos diferentes tratamentos.....	82
Tabela 4: Concentração de glicoalcalóides totais (mg/kg batata <i>in natura</i>) em tubérculos de batata da variedade Monaliza submetidos a diferentes tratamentos.....	83
Tabela 5 Concentração de glicoalcalóides totais (mg/kg batata <i>in natura</i>) em tubérculos de batata da variedade Monaliza expostos a diferentes tratamentos	86

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1: Estruturas dos principais glicoalcalóides presentes em batata, α -solanina e α -chaconina, e a aglicona solanidina 11

Capítulo 2

- Figura 1: Estruturas dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina, e a aglicona solanidina 53
- Figura 2: Cromatogramas: a) padrões α -solanina e α -chaconina; b) extrato de amostra de tubérculo inteiro de batata *in natura* da variedade Monaliza lavada 59
- Figura 3: Distribuição da frequência (%) dos níveis dos glicoalcalóides totais (α -solanina + α -chaconina) para cada variedade e tipo de batata analisada 64
- Figura 4: Distribuição da frequência (%) dos níveis dos glicoalcalóides totais (α -solanina + α -chaconina) nas diferentes variedades e tipo de batatas analisadas 65
- Figura 5: Cromatogramas: dos extratos das amostras de tubérculos inteiros de batata *in natura* do tipo Bolinha 67

Capítulo 3

Figura 1: Concentração de GAT (mg/kg batata *in natura*) da variedade Monaliza submetida aos seguintes tratamentos: exposição à iluminação natural, exposição à luz fluorescente, estocagem no escuro sob refrigeração e estocagem no escuro à temperatura ambiente. O período de exposição foi de 16 dias 84

Figura 2: Concentração de GAT (mg/kg batata *in natura*) da variedade Monaliza submetida aos seguintes tratamentos: exposição à iluminação natural, exposição à luz fluorescente, estocagem no escuro sob refrigeração e estocagem no escuro à temperatura ambiente. O período de exposição foi de 14 dias 88

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: a) Espectros; b) cromatogramas dos padrões de α -solanina e α -chaconina	97
ANEXO 2: Cromatogramas dos extratos das amostras de tubérculos inteiros de batata <i>in natura</i> das variedades: a) Monaliza escovada; b) Asterix	98
ANEXO 3: Cromatogramas dos extratos das amostras de tubérculos inteiros de batata <i>in natura</i> das variedades: a) Bintje; b) Kennebeck	99
ANEXO 4: Amostra de tubérculos inteiros de batata <i>in natura</i> do tipo Bolinha. A) espectros; b) cromatogramas	100
ANEXO 5: Tubérculos de batata da variedade Monaliza submetidos aos seguintes tratamentos: exposição à luz artificial (fluorescente) e estocagem no escuro à temperatura ambiente. O período de exposição foi de 16 dias	101

RESUMO GERAL

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é um dos mais importantes alimentos na dieta humana em decorrência de sua disponibilidade e características nutricionais. As batatas são ricas em carboidratos, vitamina C, niacina e minerais, como fósforo, cálcio e potássio, além de conter em elevada proporção o aminoácido essencial lisina em suas proteínas. Entretanto, membros da família *Solanaceae* têm como característica, durante crescimento e após colheita, a produção de compostos potencialmente tóxicos denominados glicoalcalóides. No presente estudo, os principais glicoalcalóides da batata, α -solanina e α -chaconina, doravante denominados de glicoalcalóides totais (GAT), foram determinados em amostras de tubérculos *in natura* comercializados na cidade de Campinas, SP. Foram também realizados dois experimentos para verificar o efeito da luz e temperatura na formação dos glicoalcalóides. Tubérculos de batatas da variedade Monaliza, de diferentes tamanhos, foram submetidos por até 16 dias aos seguintes tratamentos: 1) exposição à iluminação natural, 2) exposição à iluminação artificial (fluorescente), 3) estocagem no escuro sob refrigeração (7-8°C) e 4) estocagem no escuro à temperatura ambiente. A técnica utilizada para quantificação foi a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detetor de arranjo de diodos. Os níveis de GAT foram dependentes da variedade, do tamanho do tubérculo e do aspecto visual (textura, cor e presença de pontos pretos). Em amostras individuais de tubérculos das variedades Bintje, Monaliza, Asterix e Kennebeck, e do tipo Bolinha, o teor médio de GAT variou de 22,4 a 246,9 mg/kg batata, sendo o tipo Bolinha aquele que apresentou a maior concentração de GAT. Considerando-se apenas o teor de glicoalcalóides no início e final da exposição a diferentes condições de luz e temperatura, verificou-se que o mesmo aumentou em todos os tratamentos, muito embora os resultados intermediários não tenham sido consistentes. A exposição à luz fluorescente foi a que mais induziu à formação de GAT. Ao final dos experimentos, os tubérculos de menor tamanho foram os que apresentaram os maiores teores de glicoalcalóides totais, independente da fonte luminosa e da temperatura. Em ambos

experimentos, os níveis de GAT determinados foram inferiores a 200 mg/kg batata, valor considerado como concentração segura para consumo humano.

INTRODUÇÃO GERAL

Nutricionalmente, as famílias *Solanaceae* e *Lycopersicon* englobam muitas plantas importantes para o homem, incluindo batata, beringela e tomate. Alguns membros destas famílias, entretanto, produzem compostos potencialmente tóxicos durante crescimento e após colheita, sendo os mais importantes os denominados glicoalcalóides esteroidais (Bushway & Ponnampalam, 1981; Friedman & Dao, 1992).

A cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) constitui uma das mais importantes fontes de alimento em decorrência de sua disponibilidade e características nutricionais. As batatas são ricas em carboidratos, vitamina C, niacina e minerais, como fósforo, cálcio e potássio, além de conter em elevada proporção o aminoácido essencial lisina em suas proteínas (Maga, 1980).

Os principais glicoalcalóides presentes em batatas são α -solanina e α -chaconina, os quais correspondem a 95% ou mais dos glicoalcalóides totais (GAT) (Bushway & Ponnampalam, 1981). Os glicoalcalóides presentes em batatas apresentam reconhecido potencial tóxico aos homens e aos animais, sendo formados e concentrados nas células do parênquima da periderme e córtex dos tubérculos e em áreas de alta atividade metabólica, como aquelas onde ocorrem os brotamentos (Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990). De acordo com Maga (1980) os glicoalcalóides podem ser encontrados praticamente em todas as partes de uma planta normal. Dentre os tecidos que contêm glicoalcalóides estão incluídos folhas, caules, flores, tubérculos, peles e brotos, sendo que as mais altas concentrações ocorrem na casca ou pele dos tubérculos e em seus brotos (Morris & Lee, 1984; Smith et al., 1996).

Estes compostos parecem ter duas ações tóxicas no organismo humano: uma sobre a acetilcolinesterase, afetando o sistema nervoso central, e outra sobre as membranas celulares, causando ruptura das membranas do trato gastrointestinal, com danos hemolíticos e hemorrágicos (Maga, 1980; Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Alguns estudos têm ainda associado níveis de glicoalcalóides totais acima de 220 mg/kg batata com alterações nas características sensoriais em batatas, incluindo sabor amargo e sensação de ardência na garganta (Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Willimott (1933) relatou 810 possíveis casos de intoxicação por ingestão de batatas com níveis elevados de glicoalcalóides, ocorridos em Glasgow, Strasbourg e Berlin. Entre eles, inclui-se o caso de intoxicação de uma família constituída por 8 pessoas que, doze horas após a ingestão de batatas, apresentaram vários sintomas como: gastroenterite, dor de cabeça, cólica abdominal e estomacal, febre, pulso acelerado, vômito, ardência na garganta e depressão, havendo uma vítima fatal.

Os glicoalcalóides foram avaliados pelo JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) em 1992, tendo o Comitê concluído que as informações disponíveis sobre α -chaconina e α -solanina não eram suficientes para o estabelecimento de uma ingestão diária aceitável (IDA) e que os níveis de ocorrência natural em batatas (20-100 mg solanina e/ou chaconina/kg) não representavam uma preocupação toxicológica (FAO/WHO, 1999).

Normalmente, os teores de GAT encontrados em batatas comercializadas *in natura* são inferiores a 200 mg GAT/kg batata, valor recomendado por Slanina (1990) como concentração segura. Porém, os níveis de glicoalcalóides nas batatas podem variar em decorrência de diferenciação genética dos vários cultivares existentes, do tipo e umidade do solo, de tratamentos com fertilizantes e pesticidas, poluição do ar e condições de armazenamento (Patil et al., 1971; Jadhav & Salunke, 1975; Friedman & Dao, 1992).

A síntese de glicoalcalóides é rapidamente estimulada quando tubérculos de batata são expostos a condições de estresse como iluminação ou injúria mecânica (Sinden, 1987; Jadhav & Salunkhe, 1975; Jadhav et al., 1981; Dale et al., 1993). A exposição dos tubérculos à luz e a baixas temperaturas em alguns estágios do processamento e venda resulta em mudanças fisiológicas dos tubérculos, como o esverdeamento (formação de clorofila) e síntese de

glicoalcalóides esteroidais nas camadas mais periféricas da batata, sendo que a taxa de acumulação de glicoalcalóides é dependente do cultivar, da temperatura de estocagem e do tipo de fonte de luz (Griffiths et al., 1997; Griffiths et al., 1998; Percival, 1999).

Os glicoalcalóides podem estar envolvidos no mecanismo de defesa da planta contra a ação de insetos e microrganismos (Jadhav et al., 1997). Resultados de estudos onde se avaliaram os efeitos danosos provocados por insetos (*Leptinotarsa decemlineata* e *Empoasca fabae*) em plantas de batatas indicaram que os cultivos não protegidos de pragas comuns podem produzir elevados níveis de toxinas, possivelmente afetando o grau de segurança alimentar (Hlywka et al., 1994).

No Brasil, Spoladore et al. (1983) e Spoladore et al. (1985) verificaram que os teores de glicoalcalóides totais encontrados em tubérculos expostos à luz natural eram dependentes do cultivar, do período de armazenamento e da interação entre essas variáveis.

A batata é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil. Na década de 90, a área de cultivo oscilava entre 157,7 e 187,6 mil hectares e o volume de produção no ano 2000 atingiu 2,5 milhões de toneladas¹.

Em vista do potencial tóxico dos glicoalcalóides, da contínua variação genética entre os cultivares de batata, das condições inadequadas de colheita e armazenamento ainda existentes e da falta de estudos no país, torna-se importante a determinação dos níveis de glicoalcalóides em tubérculos de batatas usualmente comercializados no mercado nacional. Também é importante o conhecimento do efeito de diferentes condições de luz e temperatura na formação desses compostos, de forma a possibilitar a recomendação de condições mais adequadas de armazenamento.

⁽¹⁾ Fonte: IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível na internet: <http://www.ibge.gov.br>. Capturado em 23/07/2001.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUSHWAY, R. J.; PONNAMPALAM, R. α -Chaconine and α -solanine content of potato products and their stability during several modes of cooking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.29, n.4, p.814-817, 1981.

DALE, M. B. F.; GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; TODD, D. Glycoalkaloid increase in *Solanum tuberosum* on exposure to light. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.123, n.2, p.411-418, Oct., 1993.

FAO/WHO. **Summary of evaluations performed by the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA)**. Washington: ILSI Press, 1999.

FRIEDMAN, M.; DAO, L. Distribution of glycoalkaloids in potato plants and commercial potato products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.3, p.419-423, Mar., 1992.

GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; DALE, M. F. B. Effect of storage temperature on potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber glycoalkaloid content and the subsequent accumulation of glycoalkaloids and chlorophyll in response to light exposure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.46, n.12, p.5262-5268, Dec., 1998.

GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; DALE, M. F. B. The effect of low-temperature storage on the glycoalkaloid content of potato (*Solanum tuberosum*) tubers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.74, n.3, p.301-307, July, 1997.

HLYWKA, J. J.; STEPHENSON, G. R.; SEARS, M. K.; YADA, R. Y. Effects of insect damage on glycoalkaloid content in potatoes (*Solanum tuberosum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.42, n.11, p.2545-2550, Nov., 1994.

JADHAV, S. J.; LUTZ, S. E.; MAZZA, G.; SALUNKHE, D. K. Potato Glycoalkaloids: chemical, analytical, and biochemical perspectives. **ACS Symposium Series**, Washington, v.662, p.94-114, 1997.

JADHAV, S. J.; SALUNKHE, D. K. Formation and control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of *Solanum tuberosum* L. and evaluation of glycoalkaloid toxicity. **Advances in Food Research**, San Diego, v.21, p.307-354, 1975.

JADHAV, S. J.; SHARMA, R. P.; SALUNKHE, D. K. Naturally occurring toxic alkaloids in foods. **CRC Critical Reviews in Toxicology**, v.9, n.1, p.21-104, 1981.

MAGA, J. A. Potato glycoalkaloids. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.12, n.4, p.371-405, July, 1980.

MORRIS, S. C.; LEE, T. H. The toxicity and teratogenicity of *Solanaceae* glycoalkaloids, particularly those of the potato (*Solanum tuberosum*): a review. **Food Technology in Australia**, North Sydney, v.36, n.3, p.118-124, Mar., 1984.

PATIL, B. C.; SALUNKHE, D. K.; SINGH, B. Metabolism of solanine and chlorophyll in potato tubers as affected by light and specific chemicals. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.3, p.474-476, 1971.

PERCIVAL, G. C. The influence upon glycoalkaloid and chlorophyll accumulation in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Science**, Clare, v.145, n.2, p.99-107, July, 1999.

SINDEN, S. L. Potato glycoalkaloids. **Acta Horticulturae**, 207, p.41-47, 1987.

SLANINA, P. Solanine (glycoalkaloids) in potatoes: toxicological evaluation. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.28, n.11, p.759-761, Nov., 1990.

SMITH, D. B.; RODDICK, J. G.; JONES, J. L. Potato glycoalkaloids: some unanswered questions. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, vol.7, n.4, p.126-131, Apr., 1996.

SPOLADORE, D. S.; TEIXEIRA, J. P. F.; ZULLO, M. A. T.; TEIXEIRA, P. R. M.; COELHO, S. M. B. M. & MIRANDA F^O, H. S. Ocorrência de glicoalcalóides e esverdeamento em tubérculos de batata recém-colhidos e armazenados. **Bragantia**, Campinas, v.42, p.221-231, 1983.

SPOLADORE, D. S.; ZULLO, M. A. T.; TEIXEIRA, J. P. F.; COELHO, S. M. B. M.; MIRANDA F^O, H. S. Síntese de clorofilas e glicoalcalóides em tubérculos maduros de batata armazenados à luz natural. **Bragantia**, Campinas, v.44, n.1, p.197-208, 1985.

WILLIMOTT, S. G. An investigation of solanine poisoning. **The Analyst**, v.58, p.431-439; Aug., 1933.

CAPÍTULO 1

REVISÃO

1. Estruturas dos Principais Glicoalcalóides em Batata

Os principais glicoalcalóides presentes em batatas são α -solanina e α -chaconina, ambas formas glicosiladas do alcalóide esteroide solanidina, e estes correspondem a 95% ou mais dos glicoalcalóides totais (Bushway & Ponnampalam, 1981). A razão α -chaconina : α -solanina é cerca de 60:40 e a concentração resultante da soma destes dois compostos é expressa como glicoalcalóides totais (GAT) (Maga, 1980; Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

A estrutura molecular dessas substâncias é formada de duas frações, uma alcalóide e outra glicosídica. A fração alcalóide é a mesma para α -solanina e para α -chaconina, sendo constituída de um “esqueleto” esteroide conhecido como solanidina (Figura 1). O que diferencia os glicoalcalóides é a sua fração glicosídica, a qual pode ser formada por mono, di ou trissacarídeos, os quais estão ligados à solanidina e entre si por ligações glicosídicas. Conforme apresentado na Tabela 1, o número e natureza dos sacarídeos é o que diferencia as formas estruturais α , β e γ , embora todas tenham em comum pelo menos um açúcar, que no caso das solaninas é a galactose, e para as chaconinas é a glicose.

Tabela 1: Composição das formas estruturais α , β e γ de solaninas e chaconinas.

Composto	Composição
α -Solanina	solanidina + galactose + glicose + ramnose
β -Solanina	solanidina + galactose + glicose
γ -Solanina	solanidina + galactose
α -Chaconina	solanidina + glicose + ramnose + ramnose
β -Chaconina	solanidina + glicose + ramnose
γ -Chaconina	solanidina + glicose

Fonte: Maga, 1980

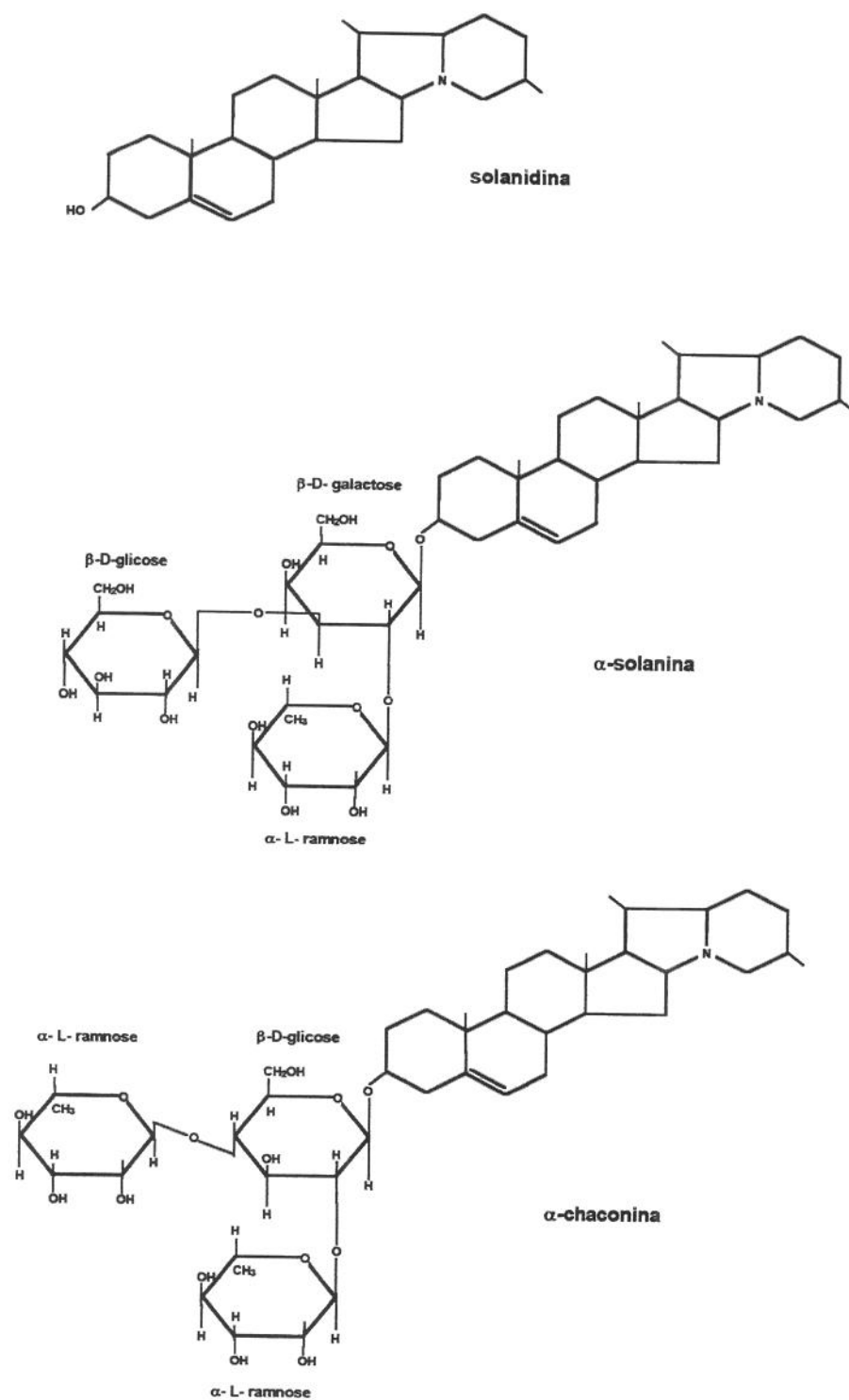


Figura 1: Estruturas dos principais glicoalcalóides presentes em batata, α-solanina e α-chaconina, e a aglicona solanidina.

2. Biossíntese

Segundo Maga (1980), para ocorrer a síntese dos glicoalcalóides são necessários precursores como leucina, alanina, ácido β -hidroxi β -metilglutárico e D-glicose, este último importante para que haja glicosilação da solanidina, a qual ocorre por ação enzimática. As glicosilações do alcalóide solanidina em batatas são consideradas etapas finais na síntese dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina. Para melhor entendimento desta biossíntese, Stapleton et al. (1991) isolaram e caracterizaram a enzima que catalisa tais etapas, identificada como solanidina glicosiltransferase.

Estudos que relacionam a síntese de clorofila e atividade fotossintética com a síntese de glicoalcalóides evidenciaram a necessidade da participação de intermediários para a fixação de CO_2 , entre os quais glicina, serina e piruvato (Maga, 1980).

Griffiths et al. (1998) observaram que o acúmulo de glicoalcalóides pode ocorrer quando tubérculos de batata são expostos a baixas temperaturas. A magnitude deste efeito na biossíntese de glicoalcalóides depende do cultivar, do tempo de exposição relativo à pós-colheita e da temperatura real do local de estocagem. Tubérculos colocados imediatamente após a colheita em temperatura de estocagem de 4°C podem acumular glicoalcalóides rapidamente, como é o caso de batatas das variedades Brodick, Pentland Crown e Pentland Dell, enquanto outras variedades, como Torridon e Eden, são relativamente insensíveis a este tratamento.

A fim de entender o mecanismo de hidrólise ácida dos glicoalcalóides e a subsequente formação de compostos menos polares, Friedman & McDonald (1995) estudaram o efeito de álcoois estruturalmente diferentes na hidrólise parcial de α -chaconina para β_1 -chaconina, β_2 -chaconina, γ -chaconina e solanidina, tendo sido observada a seguinte ordem de velocidade de hidrólise de α -chaconina em soluções alcóolicas: metanol > etanol = 1-butanol > propanol > pentanol >> água. Fatores eletrônicos e estéricos, incluindo o tamanho do anel, configuração,

conformação e polaridade do açúcar e da aglicona influenciaram as taxas de hidrólise.

3. Aspectos Toxicológicos

3.1. Toxicidade

Inúmeros casos de intoxicação por solanina em humanos resultaram em enfermidades graves e, em alguns casos, mortes em várias partes do mundo. Similarmente, perdas de gado e aves têm sido atribuídas à ingestão de diversos subprodutos derivados de batata, os quais foram expostos à luz após terem sido descartados pelo processamento ou deixados no campo (Hanses, 1925; Willimott, 1933).

Acredita-se que os glicoalcalóides tenham duas ações tóxicas no organismo humano: uma sobre a acetilcolinesterase, afetando o sistema nervoso central e considerada responsável por vários dos sintomas neurológicos observados após ingestão de glicoalcalóides, e outra sobre as membranas celulares, causando ruptura das membranas do trato gastrointestinal com danos hemolíticos e hemorrágicos e excesso de fluido nas cavidades corpóreas (Maga, 1980; Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Os sintomas de envenenamento por glicoalcalóides são vários, incluindo vômito, diarreia (às vezes sanguinolenta), dores abdominais severas, sonolência e apatia (em alguns casos: inquietação, tremores e calafrios), confusão, fraqueza e visão distorcida, seguida por inconsciência. Estes sintomas aparecem 8 a 12 horas após a ingestão, num tempo relativamente mais longo que aquele observado para a maioria das toxinas de plantas (15 minutos a 2 horas) e mais rápido que intoxicação bacteriana (18 a 24 horas). Os sinais vitais incluem febre, pulsação fraca e rápida, pressão sangüínea baixa e respiração rápida. Há ainda estudos indicando a associação de glicoalcalóides com anencefalia, *spina bifida* e outros efeitos teratogênicos (Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Em geral, humanos parecem ser mais sensíveis à intoxicação por glicoalcalóides do que outros animais. Através de relatos de intoxicações em humanos decorrentes do consumo de batatas, a dose tóxica estimada para o homem encontra-se na faixa de 2 a 5 mg/kg peso corpóreo (p.c.). Esses valores de toxicidade se comparam àqueles observados para venenos bem conhecidos, tais como estricnina (5 mg/kg p.c.) e arsênico (8 mg/kg p.c.) (Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Caldwell et al. (1991) utilizaram a atividade da Descarboxilase Ornitina Hepática (DOH) como marcador na proliferação de células hepáticas em resposta aos glicoalcalóides. A indução de atividade da DOH em fígado de ratos por ação dos glicoalcalóides de batata, α -solanina e α -chaconina, e a aglicona solanidina, em doses de 7,5; 1,5 e 30 mg/kg p.c., respectivamente, foi observada 4 horas após tratamento, com uma curva dose-resposta linear. A atividade induzida da DOH para α -solanina correspondeu a 2/3 do observado para α -chaconina, enquanto a aglicona solanidina não induziu nenhum aumento na atividade quando comparada com o controle dimetilsulfoxido (DMSO). A atividade da DOH foi medida 1, 2, 3, 4, 5, 6, e 24 horas após exposição a α -solanina. Um aumento estatisticamente significativo na atividade enzimática foi evidente 3 horas após tratamento; a atividade máxima ocorreu após 5 horas e foi aproximadamente 12 vezes maior do que a indução provocada pelo controle DMSO.

Os dois glicoalcalóides, α -chaconina e α -solanina, e sua aglicona solanidina produziram repostas negativas no teste de Ames com *Salmonella typhimurium*. Estes compostos também foram negativos nos testes de micronúcleos de eritrócitos em ratos (adulto e fetal), sugerindo a ausência de danos ao DNA intracelular decorrentes da toxicidade induzida por alcalóides presentes em batatas (Friedman & Henika, 1992).

Em decorrência de um programa de melhoramento na segurança de batatas utilizando genética molecular de plantas e segurança alimentar, Friedman et al. (1991) avaliaram o efeito de diversos glicoalcalóides e agliconas de batatas no teste de teratogenicidade em embrião de rãs. Os resultados sugeriram que a α -

chaconina é teratogênica e mais embriogênica do que α -solanina indicando uma maior toxicidade por um fator de três. Uma vez que estes dois compostos diferem apenas na natureza do carboidrato ligado ao grupo 3-OH de solanidina, a cadeia lateral parece ser um fator importante no comando da teratogenicidade. A aglicona solanidina foi menos tóxica do que α -chaconina e α -solanina. Segundo os autores, a menor toxicidade da aglicona pode ser uma função da estrutura deste composto, visto que características estruturais parecem governar propriedades químicas e teratogênicas.

Com objetivo de avaliar a influência do carboidrato dos glicoalcalóides de batata na manifestação de toxicidade por estes compostos, Rayburn et al. (1994) avaliaram comparativamente as triglicosidases α -chaconina e α -solanina, as diglicosidases β_1 e β_2 -chaconina e β_2 -solanina, e as monoglicosidases γ -chaconina e γ -solanina. Os resultados mostraram que a atividade biológica é influenciada pela estrutura química do carboidrato (galactose, glicose ou ramnose), pelo número de carboidratos agrupados formando a cadeia lateral ligada à posição 3-OH da aglicona solanidina e pela orientação estereoquímica das diglicosidases chaconinas. Em geral, a manifestação de toxicidade destes compostos em FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus*) diminuiu após remoção dos carboidratos das triglicosidases.

Hellenäs et al. (1992^a) estudaram possíveis efeitos teratogênicos de α -chaconina em ratos tratados com este composto durante a gestação. Não foram observadas malformações entre os 143 fetos expostos à α -chaconina e os resultados da investigação não mostraram evidência de embriotoxicidade ou efeitos teratogênicos deste glicoalcalóide em ratos. Estes registros apoiam a idéia de que glicoalcalóides de batata, nos níveis normalmente encontrados, não representam um risco teratogênico em humanos.

Friedman et al. (1993) observaram que aproximadamente 1% de α -chaconina e 1% de α -solanina são hidrolisados em sistemas aquosos após 1 hora, sob condições presentes no trato digestivo de animais (HCl 1 N, 38°C), sendo que este valor aumenta para 5% após 3 horas.

Em estudos realizados com ratos, observou-se que durante as primeiras 24 horas 78% da dose de glicoalcalóides totais administrada oralmente eram excretadas na urina e fezes, sendo o restante eliminado nos 4 dias seguintes (Dalvi & Bowie, 1983).

Hellenäs et al. (1992^b) avaliaram a aplicabilidade da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na determinação das concentrações de glicoalcalóides em amostras de soro de sangue coletadas de 7 voluntários, após o consumo de batatas. Os glicoalcalóides foram detectados no período de 1 a 25 horas após a ingestão de uma única refeição de batatas, equivalente à exposição a 0,4 e 0,6 mg/kg p.c. de α -solanina e α -chaconina, respectivamente. Os picos de concentração no soro para α -solanina e α -chaconina tiveram médias de 7,7 e 14,4 ng/mL (8,8 e 16,9 nmol/L), e foram alcançados após 5,1 e 6,0 horas, respectivamente. A vida média biológica para α -chaconina foi maior do que para α -solanina (19,1 e 10,7 horas, respectivamente). Em amostras coletadas 1 hora após a ingestão, o quociente médio de α -solanina/ α -chaconina foi 0,81 e, após 25 horas, este valor caiu para 0,29.

Os glicoalcalóides possuem ação sinérgica diferenciada na ruptura de membranas, dependendo do tipo e concentração na mistura. Tal fato sugere não ser possível prever o potencial tóxico de uma mistura de 2 glicoalcalóides a partir de efeitos individuais conhecidos. Em conclusão, o sinergismo observado entre α -chaconina e α -solanina demonstra uma necessidade adicional de estudos sobre interações entre glicoalcalóides, bem como estudos de mecanismos celulares e fisiológicos sobre como estas interações ocorrem (Roddick et al. 1988; Rayburn et al. 1995). Segundo Rayburn et al. (1995), estudos de avaliação do risco de ingestão de glicoalcalóides devem levar em consideração interações químicas entre estes compostos e componentes da dieta para prever com precisão os danos em humanos. O consumo de alimentos como batata, tomate e berinjela pode resultar na ingestão de, no mínimo, cinco glicoalcalóides diferentes estruturalmente (α -chaconina e α -solanina de batata, α -tomatina de tomate e solamargina e solasonina de berinjela), resultando em interações adicionais.

Phillips et al. (1996) analisaram folhas de cinco variedades de batata quanto ao teor de glicoalcalóides e citotoxicidade. As concentrações médias de α -chaconina e α -solanina variaram de 42 a 316 mg/kg folhas e de 40,4 a 104 mg/kg folhas, respectivamente. Na maioria das amostras de folhas, o conteúdo de α -chaconina foi aproximadamente 2 a 4 vezes o conteúdo de α -solanina. Os resultados deste estudo sugeriram que α -solanina e, particularmente, α -chaconina são citotoxinas potentes com rápida ação na indução de ruptura celular, e que a mistura era mais citotóxica do que os compostos individualmente, indicando uma ação sinérgica dos dois glicoalcalóides.

Keukens et al. (1996) avaliaram os efeitos da α -solanina e da α -chaconina em diferentes membranas biológicas. Os autores observaram que os lipídeos das biomembranas eram o principal alvo para os glicoalcalóides e que estas tornavam-se permeabilizadas, resultando em escape de vários tipos de compostos. Os autores sugeriram que o efeito de ruptura de membrana induzido por glicoalcalóides é o causador dos diferentes sintomas após intoxicação, como distúrbios gastrointestinais e hemolíticos, e que os efeitos neurotóxicos são provavelmente causados pela inibição da acetilcolinesterase.

Os glicoalcalóides das plantas da família *Solanaceae* alteraram o potencial iônico da membrana de embriões de rãs (*Xenopus laevis*) e o transporte ativo de sódio através da pele (Blankemeyer et al., 1992; Blankemeyer et al., 1995). Esses resultados sugerem que um possível mecanismo de ação dos glicoalcalóides deve envolver efeitos diretos ou indiretos no transporte ativo através das membranas celulares. Segundo McWilliams et al. (2000), o potencial da membrana celular é afetado pelas concentrações iônicas dentro e fora da célula e pelas atividades de moléculas transportadoras e bombas iônicas localizadas na membrana ou em sua proximidade. Segundo os mesmos autores, a consequência da variação no potencial iônico da membrana é a morte celular, sendo que as alterações nos canais iônicos poderiam explicar a toxicidade dos glicoalcalóides, inclusive sua teratogenicidade.

Em estudo realizado por Friedman et al. (1997) constatou-se que o ácido fólico protegia as membranas celulares dos embriões de rãs da ação de ruptura, mortalidade e malformação provocadas pela exposição à α -chaconina. Neste estudo verificou-se também que para se obter um efeito protetor do ácido fólico era necessária uma concentração elevada (10 mg/mL).

A inibição da enzima acetilcolinesterase pelos glicoalcalóides α -chaconina e α -solanina foi testada em sistema *in vitro* (Bushway et al., 1987). Os autores observaram que 33,8 ppm de α -chaconina e 33,4 ppm de α -solanina induziam 26% de inibição na atividade da acetilcolinesterase. O alcalóide solanidina apresentou menor ação anticolinesterase (15,4%) em relação aos glicoalcalóides.

Roddick (1989) observou que α -solanina e α -chaconina inibiam significativamente a acetilcolinesterase bovina e humana na concentração de 100 μ M, independentemente do valor de pH. Tratamentos com a enzima acetilcolinesterase durante vários períodos de tempo (acima de 2 horas) não resultaram em intensificação de inibição. Este estudo verificou que estes compostos eram igualmente efetivos na ação inibitória da enzima e que os tratamentos com os dois glicoalcalóides combinados não evidenciavam sinergismo.

3.2. Ingestão Diária Aceitável (IDA)

A IDA, conceito introduzido pelo JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), representa a quantidade de uma substância química que se pode ingerir diariamente, por toda a vida, sem riscos apreciáveis à saúde humana, à luz dos estudos toxicológicos disponíveis na época da avaliação, sendo expressa em mg/kg peso corpóreo (WHO, 1987).

A IDA é calculada dividindo o NOEL (No Observed Effect Level), dose experimental sem efeitos adversos observados em animais de laboratório, por um fator de segurança que leva em consideração possíveis diferenças entre as espécies animais e o homem e entre a espécie humana.

Os glicoalcalóides foram avaliados pelo JECFA em 1992, tendo o Comitê concluído que as informações disponíveis sobre α -chaconina e α -solanina não eram suficientes para o estabelecimento de uma IDA e que os níveis de ocorrência natural em batatas (20-100 mg solanina e/ou chaconina/kg) não representavam preocupação toxicológica (FAO/WHO, 1999).

Entretanto, Slanina (1990), levando em conta o histórico de consumo de batata pelo homem e os dados de intoxicação em humanos, estimou em 1 mg GAT/kg p.c. a IDA para um adulto com peso corpóreo de 60 kg. Este valor foi obtido com base em uma concentração máxima de 200 mg de glicoalcalóides totais/kg de batatas e uma ingestão diária média de 300 g deste tubérculo.

Nas investigações com humanos, a dose de 2 mg de glicoalcalóides/kg p.c foi identificada como a mais baixa dose associada à indução de sintomas tóxicos (LOEL - Lowest Observed Effect Level) (Slanina, 1990). De acordo com o autor, a comparação dos valores estimados de LOEL e de IDA indica que o fator de segurança incorporado na IDA é igual a 2, evidenciando uma grande discrepância entre a avaliação de risco de toxinas que ocorrem naturalmente e de substâncias químicas sintéticas, como os resíduos de pesticidas, cujos valores de IDA incorporam, geralmente, um fator de segurança de pelo menos 100.

4. Níveis de Glicoalcalóides em Batatas *in natura* e Processadas

De acordo com Maga (1980) os glicoalcalóides podem ser encontrados praticamente em todas as partes de uma planta normal. Entre os tecidos que contêm glicoalcalóides estão incluídos folhas, caules, flores, tubérculos, peles e brotos, sendo que as mais altas concentrações ocorrem na casca ou pele dos tubérculos e em seus brotos (Morris & Lee, 1984; Smith et al., 1996).

O teor de glicoalcalóides totais (GAT) pode variar consideravelmente nos diferentes órgãos da planta de batata (Tabela 2) (Smith et al., 1996).

Tabela 2. Níveis de glicoalcalóides totais (GAT) em várias partes da planta de batata.

Local na planta de batata	GAT (mg/kg)
Flores	2150-5000
Folhas	230-1000
Caules	23-33
Raízes	180-400
Tubérculo inteiro	10-150
Pele	150-1068
Polpa	12-125
Broto	2000-7300

Fonte: Tabela adaptada de Smith et al. (1996)

Vários estudos indicam que descascando-se as batatas ocorre uma remoção significativa de glicoalcalóides. Por outro lado, se os glicoalcalóides estão presentes na pele em concentrações elevadas, eles podem difundir-se através de todo o tubérculo (Maga, 1980).

Estudos realizados com os cultivares Pentland Dell e Estima, colhidos de campos experimentais na Irlanda do Norte em 2 anos consecutivos (1994 e 1995), indicaram que a concentração de glicoalcalóides no tubérculo era altamente afetada pelo genótipo, sendo muito maior em plantas do cultivar Pentland Dell (100 e 163 mg/kg batata *in natura* em 1994 e 1995, respectivamente) do que no cultivar Estima (40 e 43 mg/kg batata *in natura* em 1994 e 1995, respectivamente). Observou-se ainda que a posição do tubérculo na planta não influenciava a concentração de glicoalcalóides em tubérculos de tamanhos similares. Uma relação inversa entre concentração de glicoalcalóides totais e peso dos tubérculos individuais foi encontrada para os dois cultivares (Papathanasiou et al., 1999).

Os glicoalcalóides estão normalmente presentes em níveis baixos em batatas saudáveis disponíveis para consumo. Entretanto, segundo Friedman & Dao (1992), altos níveis podem ser encontrados em batatas esverdeadas, estocadas ou danificadas.

Analisando mais de 300 lotes comerciais de batata da variedade Magnum Bonum cultivada na Suécia no ano de 1986, Hellenäs et al. (1995^b) encontraram em amostras individuais níveis de GAT variando entre 61 e 665 mg/kg batata *in natura*, com uma média de 254 mg/kg. Destas amostras, 66% excederam o valor de 200 mg GAT/kg de batata, considerado como limite seguro para ingestão (Slanina, 1990) e 8% continham teores de GAT acima de 400 mg. Segundo os autores, a retirada da pele não removeu significativamente os glicoalcalóides em tubérculos com alto teor destes compostos. A variabilidade dos níveis de glicoalcalóides nas amostras analisadas foi atribuída a variações climáticas e à predisposição da variedade.

Hellenäs et al. (1995^a) avaliaram o teor de α -solanina e α -chaconina em oito variedades de batatas precoces normalmente comercializadas na Suécia. As variedades estudadas e seus teores de glicoalcalóides estão apresentados na Tabela 3. A concentração média de glicoalcalóides totais variou de 51 a 221 mg/kg batata *in natura* e o percentual médio de α -solanina esteve entre 35 a 41% deste valor. A concentração de glicoalcalóides totais em cada amostra variou de 31 a 344 mg/kg. Os resultados obtidos foram consistentes com os valores encontrados em tubérculos cultivados em campo experimental em dois diferentes anos, 1986 e 1987.

Tabela 3: Níveis de glicoalcalóides totais (GAT) em batatas *in natura* comercializadas na Suécia.

Variedade	Peso médio dos tubérculos (g)	GAT *	
		Média ± DP	Mín. – Máx.
Ulster Chieftain	30	221 ± 50	154 – 344
Silla	39	162 ± 26	116 – 215
Early Puritan	34	143 ± 24	110 – 199
Maria	46	98 ± 23	57 – 143
Evergood Eldorado	50	95 ± 29	49 – 132
Provita	42	85 ± 22	58 – 139
Ukama	43	60 ± 14	44 – 96
Maria Bard	44	51 ± 12	31 – 75

Fonte: Tabela adaptada de Hellenäs et al. (1995^a)

* α -solanina + α -chaconina

Sotelo & Serrano (2000) determinaram os teores de glicoalcalóides na pele e polpa de 12 variedades comerciais de batatas mexicanas utilizando CLAE. Em comparação às amostras de polpa, as amostras de pele apresentaram níveis mais elevados dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina, sendo que α -chaconina correspondeu a 65-71% do total dos glicoalcalóides. Os teores de glicoalcalóides totais em amostras de pele das variedades *Alpha*, *Juanita*, *Michoacan*, *Nortenã*, *Rosita* e *Tollocan* foram maiores do que o limite máximo recomendado para consumo humano, que é 200 mg GAT/kg batata. Já para as variedades *Atzimba*, *Lopes*, *Marciana*, *Montsama*, *Murca* e *Puebla*, os teores de GAT foram inferiores a este valor. Em face a estes resultados, os autores concluíram que o consumo das 12 variedades comerciais de batatas mexicanas não representava dano à saúde humana.

Com relação ao processo de cozimento, os estudos disponíveis indicam que os níveis de glicoalcalóides após cozimento a vapor não se alteram significativamente, embora os teores encontrados em batatas cozidas sejam mais baixos que aqueles presentes em batatas cruas (Maga, 1980). Um outro estudo conduzido por Bushway & Ponnampalam (1981) sobre a estabilidade de glicoalcalóides submetidos a quatro tipos de cozimento (microondas, fritura, assadura e fervura) indicou que apenas a fritura parece diminuir significativamente o conteúdo de glicoalcalóides. Em contrapartida, estudo semelhante indicou que durante a fritura de batatas o nível de glicoalcalóides aumentava, provavelmente pela desidratação das mesmas (Morris & Lee, 1984).

Friedman & Dao (1992) obtiveram um fator de variação ao redor de 500 para as concentrações de α -solanina e α -chaconina nas várias partes dos tubérculos e de brotos de batata, e ampla variação na razão entre esses glicoalcalóides: 1,2 a 2,7, sendo esta faixa mais estreita para batatas processadas (1,0 a 2,2). Também neste estudo verificou-se uma variação no teor destes glicoalcalóides entre amostras de vários produtos de batata, como batatas fritas não congeladas, com faixa de 25 a 110 mg de glicoalcalóides totais/kg de produto.

O uso de irradiação gama para controlar a brotação e aumentar o tempo de estocagem de batatas tem sido proposto como uma alternativa à estocagem refrigerada ou à utilização de supressores químicos de broto. Em pesquisa realizada para avaliar os efeitos de diferentes níveis de irradiação gama (50–450 Gy) no controle da síntese de glicoalcalóides e clorofila induzida pela luz, verificou-se que a redução dos teores de glicoalcalóides nos diferentes cultivares estudados foi variável, indicando que cada cultivar respondeu distintamente aos diferentes níveis de irradiação (Dale et al., 1997).

5. Efeito da Luz e Temperatura na Formação de Glicoalcalóides

Segundo Salunkhe et al. (1972), a exposição de batatas à luz, seja ela natural ou artificial, aumenta a síntese de glicoalcalóides para níveis 3 ou 4 vezes superiores aos encontrados quando as batatas são mantidas no escuro.

A exposição dos tubérculos à luz e a baixas temperaturas em alguns estágios do processamento e venda resulta em mudanças fisiológicas dos tubérculos, como o esverdeamento (formação de clorofila) e síntese de glicoalcalóides esteroidais nas camadas mais periféricas da batata, sendo que a taxa de acumulação de glicoalcalóides é dependente do cultivar, da temperatura de estocagem e do tipo de fonte de luz (Griffiths et al., 1997; Griffiths et al., 1998; Percival, 1999).

Embora a síntese de clorofila e de solanina ocorra por processos independentes, alguns estudos demonstraram que estas substâncias estão relacionadas e que batatas esverdeadas contêm mais solanina que aquelas não esverdeadas (Patil et al., 1971; Jadhav & Salunke, 1975). Entretanto, estudo realizado por Percival et al. (1994) constatou que todos os tubérculos gradualmente produziam clorofila em consequência da exposição à luz, independente da formação de glicoalcalóides.

Em estudo realizado por Percival et al. (1994) com o intuito de verificar a influência de três diferentes fontes de iluminação na concentração de glicoalcalóides em tubérculos de batatas do cultivar Pentland Hawk, constatou-se o aumento da concentração dos glicoalcalóides após 13 dias de exposição, independente do estado do tubérculo (brotado ou não) e da fonte luminosa. A concentração inicial de GAT em relação às fontes de luz (mercúrio, sódio e fluorescente) aumentou de 22,8 para 558,4; 698,0 e 211,5 mg/kg batata *in natura*, respectivamente. Os valores para tubérculos não brotados excederam aqueles encontrados para tubérculos brotados, indicando uma maior sensibilidade à luz dos tubérculos imaturos na formação de glicoalcalóides. Tubérculos de batata (brotados ou não) expostos à iluminação por mercúrio apresentaram uma redução

da síntese de glicoalcalóides após 5 dias de exposição. A iluminação por luz fluorescente e de sódio contribuiu para a síntese de glicoalcalóides durante os 13 dias de experimento sem interrupção. A partir destes resultados os autores concluíram que as condições de comercialização dos tubérculos de batata, normalmente submetidos à luz fluorescente, têm importância fundamental no acúmulo destes compostos e na manutenção da concentração de GAT abaixo do valor de 200 mg/kg sugerido por Slanina (1990) como concentração segura.

Em estudo realizado por Rosenfeld et al. (1995), o conteúdo de glicoalcalóides em tubérculos de batata aproximadamente duplicou em amostras estocadas por 1 semana a 23°C quando comparadas com amostras estocadas por 1 semana a 5°C.

Maine et al. (1988) observaram aumento significativo ($p < 0,001$) da concentração de glicoalcalóides totais em 8 dos 10 cultivares estudados (Kingston, Estima, King Edward, Maris Piper, Moira, Pentland Squire, Desirée, Pentland Ivory, Record e Dr. McIntosh) após exposição à luz (9600 lux) por 42 horas, quando comparados com tubérculos mantidos no escuro. Exposição à luz não resultou em aumento do conteúdo de GAT para os cultivares Maria Piper e Désirée, nos quais ocorreu leve diminuição no teor destes compostos. De acordo com o mesmo estudo, a identificação da variedade de batata amostrada é importante em decorrência das diferenças nos níveis iniciais de glicoalcalóides e na sensibilidade à luz.

No Brasil, em estudo realizado por Spoladore et al. (1985), os teores de glicoalcalóides na porção superficial dos tubérculos de batatas dos cultivares Aracy (IAC-2), Bintje e Porta, armazenados à luz natural por 24 dias, variaram de 57,3 a 119,7; 54,4 a 105,1 e 62,7 a 144,1 mg GAT/kg batatas, respectivamente. Verificou-se também que os teores dessas substâncias eram dependentes do cultivar, do período de armazenamento e da interação entre essas variáveis.

Ao pesquisar a relação entre a luz natural e a síntese de glicoalcalóides em tubérculos de três diferentes variedades de batata (Kerrs Pink, Pentland Hawk e Desirée), Percival et al. (1996) verificaram que, independentemente do cultivar, as

concentrações de glicoalcalóides aumentavam após exposição à luz natural por 21 dias. Em todos os cultivares as concentrações de GAT flutuaram durante o período de exposição, não tendo sido observado o acúmulo contínuo de glicoalcalóides no decorrer do experimento.

Na Jordânia, em virtude da prática de se deixar, após colheita, tubérculos de batatas expostos diretamente à luz do sol nos campos ou em locais de venda, Haddadin et al. (2001) determinaram os teores de glicoalcalóides em batatas após exposição a diferentes graus de intensidade luminosa natural por um período de até três semanas. Os autores compararam as concentrações de GAT determinadas em tubérculos inteiros expostos à luz solar direta, à luz solar refletida por objetos ao redor e estocados no escuro, e verificaram que os tubérculos expostos à luz solar direta apresentavam teores de glicoalcalóides totais superiores ao limite máximo recomendado de 200 mg/kg batata *in natura*, conforme dados da Tabela 4.

Tabela 4: Teor de glicoalcalóides totais (mg/kg) em tubérculos de batata após três semanas de tratamento.

Tratamento	Variedade	
	<i>Sponta</i>	<i>Draga</i>
Estocagem no escuro	31	84
Exposição indireta à luz solar	178	209
Exposição direta à luz solar	294	445

Fonte: Haddadin et al. (2001).

6. Metodologia

As primeiras determinações de glicoalcalóides empregaram métodos gravimétricos, seguidos por extração em Soxhlet, utilizando-se volumes elevados de álcoois e tempo excessivo para o ensaio (Maga, 1980).

Fitzpatrick et al. (1978) utilizaram na determinação de GAT em batatas extração com metanol-clorofórmio, seguida de precipitação em meio alcalino, digestão com ácido sulfúrico 2N (a aproximadamente 70°C por 30 minutos) e centrifugação. A separação de α -solanina e α -chaconina foi obtida com cromatografia de camada delgada em placa de sílica gel.

Coxon et al. (1979), através da extração com ácido sulfúrico e quantificação pela adição de azul de bromotimol, desenvolveram um procedimento mais simples e rápido para a determinação de glicoalcalóides por colorimetria.

Em face às limitações apresentadas pelos reagentes utilizados na determinação colorimétrica dos glicoalcalóides, incluindo custo, corrosividade, toxicidade e potencial para reagir com esteróides, várias outras técnicas foram e estão sendo utilizadas para a determinação do teor de glicoalcalóides em batatas (Maga, 1980). Dentre elas, destacam-se as análises cromatográficas, como a cromatografia gasosa, que separa os glicoalcalóides após derivação. Entretanto, a desvantagem desta técnica é a utilização de altas temperaturas para análise dos compostos, limitando o tempo de vida da coluna.

Um dos primeiros métodos para determinação dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina utilizando CLAE foi descrito por Bushway et al. (1979). Os autores utilizaram uma coluna para análise de carboidratos e fase móvel composta por tetrahidrofurano-água-acetonitrila (56:14:30, v/v/v).

Kobayashi et al. (1989) utilizaram CLAE com coluna μ Bondapak de NH_2 , detetor UV (leitura a 205 nm) e fase móvel contendo etanol para análise dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina. O uso de coluna de sílica gel e cartucho Sep-Pak C18 foi efetivo nos procedimentos de purificação e extração. Utilizou-se

etanol em substituição ao tetrahidrofurano na fase móvel em virtude de sua baixa absorção no UV.

Segundo Carman et al. (1986) e Saito et al. (1990), a utilização de tetrahidrofurano na fase móvel pode ocasionar a presença de interferentes, devido à formação de produtos de decomposição como os peróxidos. A utilização de coluna C8 (5 μ m) e fase móvel composta por acetonitrila-água-fosfato de amônio proporcionaram boa definição na separação dos glicoalcalóides, com valores médios de recuperação de 90% para α -solanina e 96% para α -chaconina. (Carman et al., 1986).

Saito et al. (1990) descreveram um método por CLAE para a determinação de α -solanina e α -chaconina em produtos comerciais de batata e amido de batata. Os glicoalcalóides foram extraídos com metanol e purificados utilizando cartuchos Sep Pak C18 e NH₂ com adequada sensibilidade e reprodutibilidade. A coluna empregada foi a Nucleosil 5-NH₂ e a fase móvel constituída por acetonitrila-fosfato de potássio 20 mM (75:25, v/v). Os valores de recuperação variaram de 82,4 a 92,6% para α -solanina e de 86,5 a 97,4% para α -chaconina. Os autores verificaram que o uso de coluna com fase reversa não é apropriado para a separação de α -solanina e α -chaconina, uma vez que estes glicoalcalóides possuem a mesma aglicona, solanidina, em suas estruturas.

Entretanto, vários autores têm empregado CLAE com coluna de fase-reversa para determinação do teor de glicoalcalóides em batatas, conforme apresentado na Tabela 5:

Tabela 5: Utilização de CLAE com coluna de fase-reversa na determinação de α -solanina e α -chaconina.

Amostra	Extração	Coluna	Fase Móvel	Referência
Batatas <i>in natura</i>	Solução aquosa ácido acético 2%	Hypersil ODS (250 x 4,6)mm	Acetonitrila+Água+ Etanolamina, pH 4,5–4,6; (35:65:0,05; v/v)	Hellenäs (1986)
Batatas <i>in natura</i>	Sol. aq. ácido acético 0,17M (+ par-iônico)	Nucleosil 5 C18 (250 x 4,0)mm	Acetonitrila-Água (60:40; v/v)	Houben & Brunt (1994)
Batatas liofilizadas	Solução aquosa ácido acético 2%	Hypersil ODS (250 x 4,6)mm	Acetonitrila+Água+ Etanolamina, pH 4,5–4,6; (35:65:0,05; v/v)	Percival & Dixon (1996)
Batatas <i>in natura</i>	Solução aquosa ácido acético 5%	Hypersil ODS (250 x 4,6)mm	Acetonitrila-Tampão fosfato K ₂ HPO ₄ 0,025 M, pH 7,6; (60:40; v/v)	Hellenäs & Branzell (1997)
Batatas <i>in natura</i> e processadas	Solução aquosa ácido acético 2%	Resolve C18 (300 x 3,9)mm	Acetonitrila-Tampão Fosfato KH ₂ PO ₄ 0,1M, pH 3,5; (35:65; v/v)	Friedman et al., 1998
Folhas de batatas	Solução aquosa ácido acético 2%	Resolve C18 (300 x 3,9)mm	Acetonitrila-Tampão Fosfato KH ₂ PO ₄ 0,1M, pH 3,5; (35:65; v/v)	Brown et al., 1999
Peles e polpa de batatas	Solução aquosa ácido acético 5%	μ Bonda-PakC18; (300 x 3,9)mm	Acetonitrila:Tampão Fosfato Amônio 0,05M, pH 6,5, (30:70; v/v)	Sotelo & Serrano (2000)
Batatas liofilizadas	Sol. ácido acético 2% em metanol + água (80:20, v/v)	Ultracarb ODS (250 x 4,6)mm	Acetonitrila:Tampão fosfato Amônio; (50:50; v/v)	Hlywka et al., 1994
Batatas <i>in natura</i>	Solução aquosa ácido acético 5%	Spherisorb ODS2 (250 x 4,6)mm	Acetonitrila:Tampão Fosfato K ₂ HPO ₄ 0,01M, pH 7,05, (50:50; v/v)	Papathanasiou et al., 1999

Kuronen et al. (1999) desenvolveram condições otimizadas para cromatografia líquida (LC) de fase-reversa na separação simultânea dos glicoalcalóides e aglicona. As condições empregadas no estudo minimizaram problemas com compostos básicos e possibilitaram a separação dos glicoalcalóides e aglicona durante uma única corrida cromatográfica sob condições de eluição por gradiente. Alfa-solanina, α -chaconina e solanidina foram separados utilizando as colunas Zorbax-RX C18 e Zorbax-SB C18 e fase móvel nas concentrações 20, 25, 35, 45 e 65% de acetonitrila em tampão fosfato 25 mM (pH 3,0), nos tempos de 0, 12, 15, 17 e 25 minutos, respectivamente. Os tempos de retenção nas duas colunas foram 12,98 e 16,31 para α -solanina, 13,59 e 17,81 para α -chaconina e 19,17 e 20,59 para solanidina, respectivamente. Os espectros dos compostos foram adquiridos utilizando detetor de arranjo de diodos (190 a 400 nm) e os cromatogramas monitorados a 205 nm.

A fim de desenvolver um procedimento de limpeza em cartucho de extração de fase sólida para determinação de glicoalcalóides por cromatografia líquida, Väänänen et al. (2000) avaliaram a recuperação dos glicoalcalóides em diferentes adsorventes: C18; trocador catiônico benzenosulfonado (SCX); cianopropil (CN); C8 e SCX combinados (Certify) e copolímero macroporoso (Oasis HLB) (Tabela 6). Os padrões foram dissolvidos em solução de ácido acético 5% e uma alíquota de 2mL foi aplicada em cada cartucho. A solução de ácido acético foi utilizada devido ao baixo custo e a sua não toxicidade, além de que amostras em ácido acético podem ser aplicadas na maioria dos adsorventes de extração de fase sólida.

Tabela 6. Níveis de recuperação de padrões dos glicoalcalóides em diferentes adsorventes.

Adsorvente	Recuperação (%) ^a	
	<i>α-Solanina</i>	<i>α-Chaconina</i>
C18 (100 mg)	67 ± 5,4	84 ± 4,0
SCX (100 mg)	95 ± 1,5	96 ± 1,5
SCX (500 mg)	59 ± 0,7	69 ± 2,8
Certify (300 mg)	67 ± 38	76 ± 32
Oasis (60 mg)	104 ± 2,9	102 ± 1,3
CN (500 mg)	67 ± 5,1	63 ± 2,9

Fonte: Tabela adaptada de Väänänen et al. (2000)

^a Valores médios das porcentagens de recuperação dos padrões ± Desvio Padrão, onde n = 3.

Estudos utilizando imunoensaios para determinação de glicoalcalóides forneceram dados altamente correlacionados quando comparados com CLAE (>0,90) (Hellenäs, 1986; Glorio-Paulet & Durst, 2000). A vantagem deste teste é fornecer medidas extra-laboratoriais, bem como uma identificação rápida de amostras que devem ser rejeitadas devido a um elevado teor de glicoalcalóides totais. Por outro lado, têm a desvantagem de apenas fornecer dados quantitativos dos glicoalcalóides totais, não podendo quantificar separadamente *α*-solanina e *α*-chaconina, fato este importante na avaliação de toxicidade dos cultivares de batatas (Glorio-Paulet & Durst, 2000).

7. Considerações Gerais sobre Parâmetros de Validação de Metodologia

7.1. Introdução

A validação de metodologias analíticas é amplamente reconhecida como um importante aspecto do desenvolvimento e/ou utilização de procedimentos analíticos. A literatura estabelece que determinados parâmetros de validação, como exatidão e precisão, são aplicáveis em todas as situações analíticas. Outros parâmetros, tais como especificidade e linearidade, são menos universalmente aplicáveis. Os parâmetros mais citados na literatura, em ordem decrescente, são: exatidão, precisão, especificidade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação e robustez (Jenke, 1996^a).

De acordo com Chasin et al. (1998), a qualidade e a credibilidade de um trabalho analítico se fundamentam nos cuidados com os quais o analista se cerca para produzir dados que expressem o valor real da medida obtida. A validação de um método analítico pode ser realizada de diversas maneiras e depende do objetivo da análise. A validação tem por objetivo assegurar que o método utilizado é adequado ao que se propõe identificar ou quantificar, ou seja, produzir resultados que atendam às necessidades do problema em questão.

7.2. Exatidão

De acordo com a literatura (Chasin et al. 1994; Chasin et al. 1998), a exatidão é a concordância entre o valor real da concentração da substância na amostra e o valor estimado pelo processo analítico. A baixa exatidão é proveniente de erros sistemáticos que contribuem para desvios e tendências nos resultados, sendo avaliada pela diferença sistemática entre o valor real e o obtido. A média da concentração obtida pode ter variação de até 20% em relação à concentração adicionada e o coeficiente de variação (CV), que corresponde ao Desvio Padrão Relativo, deve ser menor que 15%. Para amostras com

concentração do analito ao redor do limite de quantificação, aceita-se um coeficiente de variação de 20%.

Existem, basicamente, dois tipos de amostras para o estudo da exatidão:

- a) amostra certificada ou amostra de estudo colaborativo;
- b) amostra adicionada de padrão.

Em decorrência das dificuldades apresentadas na obtenção de amostras de referência certificadas, em geral faz-se o uso do estudo de recuperação onde amostras são adicionadas de quantidades conhecidas de padrão (são conhecidas como amostras fortificadas, pois já contêm o analito de interesse).

A recuperação está relacionada à exatidão, uma vez que reflete a quantidade de uma determinada substância recuperada em processo analítico em relação à quantidade real presente na amostra. Para assegurar a recuperação adequada e consistente, sua determinação deverá ser feita para cada matriz em separado. Seu cálculo pode ser feito da seguinte maneira:

$$\% \text{ Recuperação} = [(C_f - C_a) / C_p] * 100, \text{ onde:}$$

C_f = Concentração obtida das amostras fortificadas

C_a = Concentração obtida da mesma amostra sem adição de padrão

C_p = Concentração do padrão adicionado na amostra

7.3. Precisão

De acordo com Chasin et al. (1994), a precisão reflete a variação dos resultados quando análises repetidas são feitas na mesma amostra, e diz respeito aos erros aleatórios que produzem flutuações ocasionais nos resultados. A medida da precisão pode ser expressa através do cálculo do desvio padrão e do coeficiente de variação (CV), sendo que este deve ser referido como “imprecisão”, uma vez que valores elevados de CV refletem elevada imprecisão e, conseqüentemente, baixa precisão. Para a verificação da precisão intra-

laboratorial, conhecida como repetibilidade (r), deve-se considerar um coeficiente de variação menor que 15%. Quando se trabalha com concentração ao redor do limite de quantificação, aceita-se a variação de 20% para a imprecisão. A estimativa do desvio padrão e do coeficiente de variação podem ser calculados como:

$$CV = \left(\frac{s}{\bar{x}} \right) \times 100 \qquad s = \sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 / (n-1)}$$

onde: s = estimativa do desvio padrão das análises

$\bar{x}$ = média dos resultados obtidos em n análises

Horwitz (1980) fez uma análise de dados obtidos de estudos colaborativos inter-laboratoriais conduzidos pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists) com a utilização de mais de cinquenta métodos, tendo demonstrado que o coeficiente de variação inter-laboratorial de qualquer método não depende do instrumento utilizado, da matriz, ou da técnica empregada, e sim do teor em que o componente analisado se encontra no alimento. Critérios razoáveis para reprodutibilidade inter-laboratorial (expresso como Coeficiente de Variação) de métodos analíticos utilizados rotineiramente são de 16% para compostos presentes em nível de mg/kg (ppm) e 32% para $\mu\text{g/kg}$ (ppb). Precisão intra-laboratorial ou repetibilidade (r) é usualmente $\frac{1}{2}$ a $\frac{2}{3}$ da reprodutibilidade ao mesmo nível ou, seja, aproximadamente 10% e 20-25% para ppm e ppb, respectivamente. Ainda, segundo Horwitz (1993), quando se trabalha com analitos na ordem de ppm (10^{-6}) e ppb (10^{-9}), as variabilidades analíticas são da ordem de magnitude de 10-20% do valor analítico.

7.4. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

De acordo com Chasin et al. (1998), pode-se utilizar as seguintes definições:

- *Limite de detecção*: menor concentração ou quantidade de uma substância química que pode ser identificada por um procedimento analítico, com

um nível de confiança especificado ou, ainda, que pode ser estatisticamente diferenciada do ruído;

- *Limite de quantificação*: é a menor concentração do analito que pode ser medida com uma precisão especificada e que deve estar incluída na curva de calibração.

De acordo com Miller & Miller (1993), pode-se calcular os limites de detecção e de quantificação utilizando dados da regressão da curva de calibração montada para quantificação dos compostos de análise, conforme a seguinte equação:

$$x = (K * S_{y/x}) / b$$

onde: $S_{y/x}$ = estimativa do desvio padrão da curva

K = coeficiente estimado em decorrência da probabilidade dos erros α e β acontecerem. É considerado igual a 3 para o limite de detecção e igual a 10 para o limite de quantificação

b = inclinação da curva de regressão

a = intercepto da curva de regressão

Os valores dos limites de detecção e quantificação são expressos na mesma unidade de concentração utilizada nos padrões da curva de calibração.

Quando no decorrer do trabalho forem construídas mais de uma curva de calibração, os valores finais dos limites de detecção e quantificação serão considerados como sendo as medianas dos limites calculados com as diferentes curvas de calibração, conforme proposto por Currie (1999).

7.5. Linearidade

Chasin et al. (1998) definem linearidade como a capacidade de um método analítico gerar resultados proporcionais à concentração da espécie em análise, dentro de uma faixa analítica especificada. O número de calibradores (soluções padrão do analito em diferentes concentrações) é definido em função da faixa de

concentração de interesse, devendo ser, no mínimo, igual a seis. A análise de regressão normalmente utilizada é a dos mínimos quadrados, na qual a variável independente refere-se à concentração teórica da substância em questão presente na matriz.

A curva de calibração deve apresentar tratamento estatístico, com valores como interseção, equação de regressão linear, coeficiente de correlação (r) ou determinação (r^2) (Chasin et al., 1994).

De acordo com Jenke (1996^b), um método validado por linearidade só produz valores exatos na faixa de concentração em uso, sendo que a faixa de concentração da curva de calibração varia em função da concentração esperada do analito na amostra e pode ser de 25 a 125%; 10% a 200% ou de 50 a 150% da faixa de trabalho. Como um dos critérios de aceitação da curva de calibração, o coeficiente de correlação (r) deve estar entre 0,98 e 1,0.

8. Referências Bibliográficas

BLANKEMEYER, J. T.; ATHERTON, R.; FRIEDMAN, M. Effect of potato glycoalkaloids α -chaconine and α -solanine on sodium active transport in frog skin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.43, n.3, p.636-639, Mar., 1995.

BLANKEMEYER, J. T.; STRINGER, B. K.; RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A.; FRIEDMAN, M. Effect of potato glycoalkaloids, α -chaconine and α -solanine, on membrane potential of frog embryos. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.10, p.2022-2025, Oct., 1992.

BROWN, M. S.; McDONALD, G. M.; FRIEDMAN, M. Sampling leaves of young potato (*Solanum tuberosum*) plants for glycoalkaloid analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.47, n.6, p.2331-2334, June, 1999.

BUSHWAY, R. J.; BARDEN, E.S.; BUSHWAY, A. W.; BUSHWAY, A. A. High performance liquid chromatographic separation of potato glycoalkaloids. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.178, n.2, p.533-541, 1979.

BUSHWAY, R. J.; PONNAMPALAM, R. α -Chaconine and α -solanine content of potato products and their stability during several modes of cooking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.29, n.4, p.814-817, 1981.

BUSHWAY, R. J.; SAVAGE, S. A.; FERGUSON, B. S. Inhibition of acetyl cholinesterase by solanaceous glycoalkaloids and alkaloids. **American Potato Journal**, Orono, vol.64, n.8, p.409-413, Aug., 1987.

CALDWELL, K. A.; GROSJEAN, O. K.; HENIKA, P. R.; FRIEDMAN, M. Hepatic ornithine decarboxylase induction by potato glycoalkaloids in rats. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, vol.29, n.8, p.531-535, Aug., 1991.

CARMAN, A. S. JR.; KUAN, S. S.; WARE, G. M.; FRANCIS, O. J. JR.; KIRSCHENHEUTER, G. P. Rapid high-performance liquid chromatographic determination of the potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.34, n.2, p.279-282, Mar./Apr., 1986.

CHASIN, A. A. M.; CHASIN, M.; SALVADORI, M. C. Validação de métodos em análises toxicológicas. **Revista Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.30, n.2, p.49-53, jul./dez., 1994.

CHASIN, A. A. M.; NASCIMENTO, E. S.; RIBEIRO-NETO, L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; ANDRAUS, M. H.; SALVADORI, M. C.; FERNÍCOLA, N. A. G.; GORNI, R.; SALCEDO, S. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.11, n.1, p.1-6, 1998.

COXON, D. T.; PRICE, K. R.; JONES, P. G. A simplified method for the determination of total glycoalkaloids in potato tubers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.30, n.11, p.1043-1049, 1979.

CURRIE, L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.391, n.2, p.127-134, May, 1999.

DALE, M. F. B.; GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; GOODMAN, B. A. The effect of gamma irradiation on glycoalkaloid and chlorophyll synthesis in seven potato cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.75, n.2, p.141-147, Oct., 1997.

DALVI, R. R.; BOWIE, W. C. Toxicology of solanine: an overview. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, vol.25, n.1, p.13-15, Feb., 1983.

FAO/WHO. **Summary of evaluations performed by the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA)**. Washington: ILSI Press, 1999.

FITZPATRICK, T. J.; MACKENZIE, J. D.; GREGORY, P. Modifications of the comprehensive method for total glycoalkaloid determination. **American Potato Journal**, Orono, vol.55, n.5, p.247-248, May, 1978.

FRIEDMAN, M.; BAUTISTA, F. F.; STANKER, L. H.; LARKIN, K. A. Analysis of potato glycoalkaloids by a new ELISA kit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.46, n.12, p.5097-5102, Dec., 1998.

FRIEDMAN, M.; BURNS, C. F.; BUTCHKO, C. A.; BLANKEMEYER, J. T. Folic acid protects against potato glycoalkaloid α -chaconine induced disruption of frog embryo cell membranes and developmental toxicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.45, n.10, p.3991-3994, Oct., 1997.

FRIEDMAN, M.; DAO, L. Distribution of glycoalkaloids in potato plants and commercial potato products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.3, p.419-423, Mar., 1992.

FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R. Absence of genotoxicity of potato alkaloids α -chaconine, α -solanine and solanidine in the Ames *Salmonella* and adult and foetal erythrocyte micronucleus assays. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, vol.30, n.8, p.689-694, Aug., 1992.

FRIEDMAN, M.; McDONALD, G. Acid-catalyzed partial hydrolysis of carbohydrate groups of the potato glycoalkaloid α -chaconine in alcoholic solutions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.43, n.6, p.1501-1506, June, 1995.

FRIEDMAN, M.; McDONALD, G.; HADDON, W. F. Kinetics of acid-catalyzed hydrolysis of carbohydrate groups of potato glycoalkaloids α -chaconine and α -solanine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.41, n.9, p.1397-1406, Sept., 1993.

FRIEDMAN, M.; RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A. Developmental toxicology of potato alkaloids in the frog embryo teratogenesis assay - *Xenopus* (FETAX). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, vol.29, n.8, p.537-547, Aug., 1991.

GLORIO-PAULET, P.; DURST, R. A. Determination of potato glycoalkaloids using a liposome immunomigration, liquid-phase competition immunoassay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.48, n.5, p.1678-1683, May, 2000.

GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; DALE, M. F. B. Effect of storage temperature on potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber glycoalkaloid content and the subsequent accumulation of glycoalkaloids and chlorophyll in response to light exposure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.46, n.12, p.5262-5268, Dec., 1998.

GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; DALE, M. F. B. The effect of low-temperature storage on the glycoalkaloid content of potato (*Solanum tuberosum*) tubers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.74, n.3, p.301-307, July, 1997.

HADDADIN, M. S. Y.; HUMEID, M. A.; QAROOT, F. A.; ROBINSON, R. K. Effect of exposure to light on the solanine content of two varieties of potato (*Solanum tuberosum*) popular in Jordan. **Food Chemistry**, vol.73, n.2, p.205-208, May, 2001.

HANSES, A. A. Two fatal cases of potato poisoning. **Science**, v.61, n.1578, p.340-341, 1925.

HELLENÄS, K. E. A simplified procedure for quantification of potato glycoalkaloids in tuber extracts by H.p.l.c.; comparison with ELISA and a colorimetric method. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.37, p.776-782, Aug., 1986.

HELLENÄS, K. E.; BRANZELL, C. Liquid chromatographic determination of the glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in potato tubers: NMKL interlaboratory study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, Gaithersburg, v.80, n.3, p.549-554, May/June, 1997.

HELLENÄS, K. E.; BRANZELL, C.; JOHNSON, H.; SLANINA, P. Glycoalkaloid content of early potato varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.67, n.1, p.125-128, Jan., 1995^a.

HELLENÄS, K. E.; BRANZELL, C.; JOHNSON, H.; SLANINA, P. High levels of glycoalkaloids in the established Swedish potato variety Magnum Bonum. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.68, n.2, p.249-255, June, 1995^b.

HELLENÄS, K.-E.; CEKAN, É.; SLANINA, P.; BERGMAN, K. Studies of embryotoxicity and the incidence of external malformations after continuous intravenous infusion of α -chaconine in pregnant rats. **Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, vol.70, n.5, p.381-383, May, 1992^a.

HELLENÄS, K.-E.; NYMAN, A.; SLANINA, P.; LÖÖF, L.; GABRIELSSON, J. Determination of potato glycoalkaloids and their aglycona in blood serum by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography – Biomedical Applications**, Amsterdam, vol.573, n.1, p.69-78, Jan., 1992^b.

HLYWKA, J. J.; STEPHENSON, G. R.; SEARS, M. K.; YADA, R. Y. Effects of insect damage on glycoalkaloid content in potatoes (*Solanum tuberosum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.42, n.11, p.2545-2550, Nov., 1994.

HORWITZ, W. International coordination and validation of analytical methods. **Food Additives and Contaminants**, London, v.10, n.1, p.61-69, Jan./Feb., 1993.

HORWITZ, W.; KAMPS, L. R.; BOYER, K. W. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Gaithersburg, v.63, n.6, p.1344-1354, 1980.

HOUBEN, R. J.; BRUNT, K. Determination of glycoalkaloids in potato tubers by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.661, n.1-2, p.169-174, Feb., 1994.

JADHAV, S. J.; SALUNKHE, D. K. Formation and control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of *Solanum tuberosum* L. and evaluation of glycoalkaloid toxicity. **Advances in Food Research**, San Diego, v.21, p.307-354, 1975.

JENKE, D. R. Chromatography method validation: a review of current practices and procedures. I. General concepts and guidelines. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, New York, v.19, n.5, p.719-736, 1996^a.

JENKE, D. R. Chromatography method validation: a review of current practices and procedures. II. Guidelines for primary validation parameters. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, New York, v.19, n.5, p.737-757, 1996^b.

KEUKENS, E. A. J.; VRIJE, T.; JANSSEN, L. A. M.; HILDE, B.; JANSSEN, M.; KROON, A. I. P. M.; JONGEN, W. M. F.; KRUIJFF, B. Glycoalkaloids selectively cholesterol containing biomembranes. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v.1279, n.2, p.243-250, Mar., 1996.

KOBAYASHI, K.; POWELL, A. D.; TOYODA, M; SAITO, Y. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous analysis of α -solanine and α -chaconine in potato plants cultured *in vitro*. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.462, n.13, p.357-364, Jan., 1989.

KURONEN, P.; VÄÄNÄNEN, T.; PEHU, E. Peversed-phase liquid chromatography separation and simultaneous profiling of steroidal glycoalkaloids and their aglycones. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.863, n.1, p.25-35, Nov., 1999.

MAGA, J. A. Potato glycoalkaloids. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.12, n.4, p.371-405, July, 1980.

MAINE, M. J.; BAIN, H. & JOYCE, J. A. L. Changes in the total tuber glycoalkaloid content of potato cultivars on exposure to light. **Journal of the Agricultural Science**, Cambridge, v.111, n.1, p.57-58, Aug., 1988.

McWILLIAMS, M. L.; BLANKEMEYER, J. T.; FRIEDMAN, M. The folic acid analogue methotrexate protects frog embryo cell membranes against damage by the potato glycoalkaloid α -chaconine. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, vol.38, n.10, p.853-859, Oct., 2000.

MILLER, J. C.; MILLER, J. M. Errors in instrumental analysis: regression and correlation. In: MILLER, J. C.; MILLER, J. M. **Statistics for analytical chemistry**, 3.ed., Chichester: Ellis Horwood, 1993. Chapter 5, p.101-141.

MORRIS, S. C.; LEE, T. H. The toxicity and teratogenicity of *Solanaceae* glycoalkaloids, particularly those of the potato (*Solanum tuberosum*): a review. **Food Technology in Australia**, North Sydney, v.36, n.3, p.118-124, Mar., 1984.

PAPATHANASIOU, F.; MITCHELL, S. H.; HARVEY, B. M. R. Variation in glycoalkaloid concentration of potato tubers harvested from mature plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, vol.79, n.1, p.32-36, Jan., 1999.

PATIL, B. C.; SALUNKHE, D. K.; SINGH, B. Metabolism of solanine and chlorophyll in potato tubers as affected by light and specific chemicals. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.3, p.474-476, 1971.

PERCIVAL, G. C. The influence upon glycoalkaloid and chlorophyll accumulation in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Science**, Clare, v.145, n.2, p.99-107, July, 1999.

PERCIVAL, G.; DIXON, G. R. Glycoalkaloid concentrations in aerial tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, vol.70, n.4, p.439-448, Apr., 1996.

PERCIVAL, G.; DIXON, G. R.; SWORD, A. Glycoalkaloid concentration of potato tubers following exposure to daylight. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.71, n.1, p.59-63, May, 1996.

PERCIVAL, G.; DIXON, G.; SWORD, A. Glycoalkaloid concentration of potato tubers following continuous illumination. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.66, n.2, p.139-144, Oct., 1994.

PHILLIPS, B. J.; HUGHES, J. A.; PHILLIPS, J. C.; WALTERS, D. G.; ANDERSON, D.; TAHOURDIN, C. S. M. A study of the toxic hazard that might be associated with the consumption of green potato tops. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.34, n.5, p.439-448, May, 1996.

RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A.; FRIEDMAN, M. Role of carbohydrate side chains of potato glycoalkaloids in developmental toxicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.42, n.7, p.1511-1515, July, 1994.

RAYBURN, J. R.; FRIEDMAN, M. & BANTLE, J. A. Synergistic interaction of glycoalkaloids α -chaconine and α -solanine on developmental toxicity in xenopus embryos. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, vol.33, n.12, p.1013-1019, Dec., 1995.

RODDICK, J. G. The acetylcholinesterase-inhibitory activity of steroidal glycoalkaloids and their aglycones. **Phytochemistry**, Oxford, v.28, n.10, p.2631-2634, 1989.

RODDICK, J. G.; RIJNENBERG, A. L.; OSMAN, S. F. Synergistic interaction between potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in relation to destabilization of cell membranes: Ecological implications. **Journal of Chemical Ecology**, New York, vol.14, n.3, p.889-902, Mar., 1988.

ROSENFELD, H. J.; SUNDELL, H. A.; LEA, P.; RINGSTAD, M. Influence of packaging materials and temperature on the glycoalkaloid content of potato tubers. **Food Research International**, Amsterdam, vol.28, n.5, p.481-484, 1995.

SAITO, K.; HORIE, M.; HOSHINO, Y.; NOSE, N.; NAKAZAWA, H. High-performance liquid chromatographic determination of glycoalkaloids in potato products. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.508, n.1, p.141-147, May, 1990.

SALUNKHE, D. K.; WU, M. T.; JADHAV, S. J. Effects of light and temperature on the formation of solanine in potato slices. **Journal of Food Science**, Chicago, v.37, n.6, p.969-970, 1972.

SLANINA, P. Solanine (glycoalkaloids) in potatoes: toxicological evaluation. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.28, n.11, p.759-761, Nov., 1990.

SMITH, D. B.; RODDICK, J. G.; JONES, J. L. Potato glycoalkaloids: some unanswered questions. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, vol.7, n.4, p.126-131, Apr., 1996.

SOTELO, A.; SERRANO, B. High-performance liquid chromatographic determination of the glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in 12 commercial varieties of Mexican potato. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.48, n.6, p.2472-2475, June, 2000.

SPOLADORE, D. S.; ZULLO, M. A. T.; TEIXEIRA, J. P. F.; COELHO, S. M. B. M.; MIRANDA F^O., H. S. Síntese de clorofilas e glicoalcalóides em tubérculos maduros de batata armazenados à luz natural. **Bragantia**, Campinas, v.44, n.1, p.197-208, 1985.

STAPLETON, A.; ALLEN, P. V.; FRIEDMAN, M.; BELKNAP, W. R. Purification and characterisation of solanidine glucosyltransferase from the potato (*Solanum tuberosum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.39, n.6, p.1187-1193, June, 1991.

VÄÄNÄNEN, T.; KURONEN, P.; PEHU, E. Comparison of commercial solid-phase extraction sorbents for the sample preparation of potato glycoalkaloids. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, vol.869, n.1-2, p.301-305, Feb., 2000.

WHO. Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. **Environmental Health Criteria**, 70, Geneva, 1987.

WILLIMOTT, S. G. An investigation of solanine poisoning. **The Analyst**, v.58, p.431-439; Aug., 1933.

CAPÍTULO 2

**DETERMINAÇÃO DE GLICOALCALÓIDES EM BATATAS *IN NATURA*
(*SOLANUM TUBEROSUM* L.) COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE
CAMPINAS, ESTADO DE SÃO PAULO**

**DETERMINAÇÃO DE GLICOALCALÓIDES EM BATATAS *IN NATURA*
(*SOLANUM TUBEROSUM* L.) COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE
CAMPINAS, ESTADO DE SÃO PAULO**

RESUMO

A batata é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil, constituindo-se em um dos mais importantes alimentos na dieta humana, em decorrência de sua disponibilidade e características nutricionais. Entretanto, membros da família *Solanaceae* produzem, durante crescimento e após colheita, compostos potencialmente tóxicos denominados glicoalcalóides, dos quais α -solanina e α -chaconina são os predominantes. A concentração máxima desses compostos considerada segura para consumo humano é estimada em 200 mg/kg de batata *in natura*, expressa como glicoalcalóides totais (GAT). No presente estudo, foram extraídos e quantificados os GAT em amostras de tubérculos de batata *in natura* comercializados na cidade de Campinas, SP. A técnica utilizada foi a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com coluna de fase reversa C18 e detetor de arranjo de diodos. O valor médio de recuperação foi 102,6% para α -solanina e 100,2% para α -chaconina. Os limites de quantificação foram 2,5 μ g/mL para α -solanina e 1,4 μ g/mL para α -chaconina, e os coeficientes de correlação foram maiores que 0,999. As concentrações de GAT em amostras individuais de tubérculos inteiros das diferentes variedades e tipo estudados (Bintje, Monaliza, Asterix, Kennebeck e Bolinha) variaram de 22,4 a 246,9 mg/kg batata. Das amostras analisadas, 83% apresentaram níveis de GAT inferiores a 100 mg/kg batata, o que indica que as variedades de batatas estudadas podem ser consideradas seguras para consumo humano.

Palavras chaves: batata, glicoalcalóides, α -solanina, α -chaconina

**DETERMINATION OF GLYCOALKALOIDS IN POTATO TUBERS
(*SOLANUM TUBEROSUM* L.) MARKETED IN THE CITY OF
CAMPINAS, STATE OF SÃO PAULO**

ABSTRACT

Potato is included among the main horticultural crops in Brazil. Due to its broad availability and nutritional characteristics, it has been considered one of the most important components in the human diet. Nevertheless, members of the family *Solanaceae* produce potentially toxic compounds known as glycoalkaloids during growth and post-harvest, amongst which α -solanine and α -chaconine predominate. The recommended safety level for these compounds in unprocessed potato tubers for human consumption, expressed as total glycoalkaloids, is 200 mg/kg. In this study, samples of potato tubers of different commercial varieties collected in the city of Campinas, State of São Paulo, were extracted and analysed for their total glycoalkaloid (TGA) content using a reversed phase C18 HPLC column with a photodiode array detector. The mean recoveries of α -solanine and α -chaconine were 102.6% and 100.2%, respectively. The limit of quantitation was 2.5 μ g/mL for α -solanine and 1.4 μ g/mL for α -chaconine, and the correlation coefficients were greater than 0.999. The levels of TGA in individual samples of whole tubers of different varieties and type (Bintje, Monaliza, Asterix, Kennebeck, and Bolinha), ranged from 22.4 to 246.9 mg/kg potato. In 83% of the samples the levels of TGA were below 100 mg/kg potato, which indicates that the studied potatoes were safe for human consumption.

Keywords: potato, glycoalkaloids, α -solanine, α -chaconine

1. INTRODUÇÃO

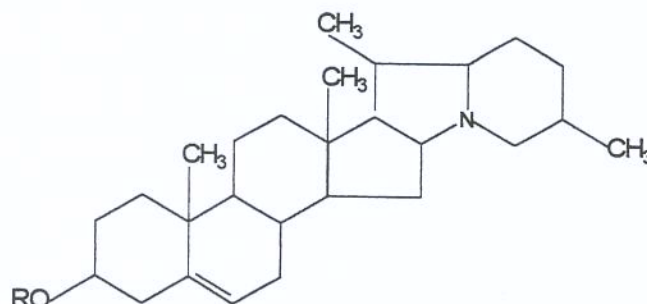
Glicoalcalóides são compostos tóxicos naturalmente presentes em todas as partes da planta de batata (*Solanum tuberosum* L.) e podem estar envolvidos no mecanismo de defesa da planta contra ação de insetos e microrganismos (Jadhav et al., 1997). As mais altas concentrações destes compostos se encontram na casca ou pele dos tubérculos e em seus brotos (Morris & Lee, 1984; Smith et al., 1996).

Os principais glicoalcalóides presentes em batatas são α -solanina e α -chaconina, ambos formas glicosiladas do alcalóide esteroideal solanidina (Figura 1), e estes correspondem a 95% ou mais dos glicoalcalóides totais (Bushway & Ponnampalam, 1981). A razão α -chaconina : α -solanina é cerca de 60:40 e a concentração resultante da soma destes dois compostos é expressa como glicoalcalóides totais (GAT) (Maga, 1980; Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990). Os glicoalcalóides parecem ter duas ações tóxicas no organismo humano: uma sobre a acetilcolinesterase, afetando o sistema nervoso central e considerada responsável por vários dos sintomas neurológicos observados após ingestão de glicoalcalóides, e outra sobre as membranas celulares, causando ruptura das membranas do trato gastrointestinal com danos hemolíticos e hemorrágicos e excesso de fluido nas cavidades corpóreas (Maga, 1980; Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Alguns estudos têm associado níveis de glicoalcalóides totais (GAT) acima de 220 mg/kg com alterações nas características sensoriais em batatas, incluindo sabor amargo e sensação de ardência na garganta (Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Em geral, humanos parecem ser mais sensíveis à intoxicação por glicoalcalóides do que outros animais. Através de relatos de intoxicações em humanos decorrentes do consumo de batatas, estimou-se uma dose tóxica para o homem na faixa de 2 a 5 mg/kg peso corpóreo (p.c.). Esses valores de toxicidade se comparam àqueles observados para venenos bem conhecidos, tais como

estricnina (5 mg/kg p.c.) e arsênico (8 mg/kg p.c.) (Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).



Solanidina:	R = OH
α -solanina:	R = α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2 gal) - β -D-glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3 gal)- β -D-galactopiranosil
α -chaconina:	R = α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2 gli) - α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4 gli)- β -D-glicopiranosil

Figura 1: Estruturas dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina e a aglicona solanidina.

Os glicoalcalóides foram avaliados pelo JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) em 1992, tendo o Comitê concluído que as informações disponíveis sobre α -chaconina e α -solanina não eram suficientes para o estabelecimento de um valor para uma ingestão diária aceitável (IDA) e que os níveis de ocorrência natural em batatas (20-100 mg solanina e/ou chaconina/kg) não representavam uma preocupação toxicológica (FAO/WHO, 1999).

Entretanto, Slanina (1990), levando em conta o histórico de consumo de batata pelo homem e os dados de intoxicação em humanos, estimou em 1 mg GAT/kg p.c. a IDA para um adulto com peso corpóreo de 60 kg. Este valor foi obtido com base numa concentração máxima de 200 mg de glicoalcalóides totais/kg de batatas e uma ingestão diária média de 300 g deste tubérculo.

Sabe-se que os níveis de glicoalcalóides totais podem variar em decorrência da diferenciação genética dos vários cultivares existentes, do tipo e umidade do solo, tratamentos com fertilizantes e pesticidas, poluição do ar e condições de armazenamento (Patil et al., 1971; Jadhav & Salunke, 1975; Friedman & Dao, 1992). Além disso, estudos conduzidos para avaliar a estabilidade de glicoalcalóides submetidos a quatro tipos de cozimentos (microondas, fritura, assadura e fervura) indicaram que os mesmos são termoresistentes (Bushway & Ponnampalam, 1981; Morris & Lee, 1984).

Em decorrência do potencial tóxico dos glicoalcalóides e da pouca disponibilidade de dados sobre o conteúdo de α -solanina e de α -chaconina em batata de variedades nacionais, este trabalho teve como objetivo a determinação dos teores desses compostos em tubérculos de batatas *in natura* comercializados na região de Campinas, Estado de São Paulo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Foram analisados tubérculos de batatas *in natura* comercializados em hipermercados, varejões e feiras-livres da cidade de Campinas. As amostras foram coletadas em diferentes locais de venda durante o período de 18 meses, de janeiro/2000 a junho/2001.

As variedades de batata analisadas foram: Bintje (com pele e sem pele), Monaliza lavada (com pele), Monaliza escovada (com pele), Asterix (com pele),

Kennebeck (com pele), e o tipo Bolinha ou Pirulito (com pele e sem pele). Analisaram-se também pele e brotos de batatas da variedade Bintje.

Os tubérculos denominados comercialmente Bolinha não constituem uma variedade de batata e sim de um tipo comercial que tem como característica básica o seu tamanho. Os tubérculos menores das diferentes variedades são separados durante lavagem e vendidos como Bolinha ou Pirulito.

Cada amostra consistiu de 600 a 800 g de tubérculos de batata. O número de tubérculos de cada amostra foi variável em decorrência da grande heterogeneidade de tamanhos. Os tubérculos de cada amostra foram pesados e registradas as características relativas à aparência, incluindo textura (firme ou murcha), homogeneidade da cor (amarela), uniformidade no tamanho, presença de pontos pretos e de manchas esverdeadas.

2.2. Preparação da amostra

Os tubérculos de batata de cada amostra foram lavados em água corrente e deixados secar em temperatura ambiente. Em seguida, foram cortados em 4 partes, sendo duas delas (correspondentes a posições opostas) fatiadas, congeladas em "freezer" a -15°C por 24 horas e liofilizadas (Liofilizador LabConco *Lyph Lock* 18). Após a liofilização, as fatias foram moídas e misturadas para compor uma amostra. As amostras trituradas foram estocadas em "freezer" a -15°C até o momento da análise. O teor de água retirado durante o processo de liofilização foi verificado para cada amostra.

Para obtenção de tubérculos de batata sem pele, esta foi uniformemente retirada com faca (profundidade de 2-3 mm) e, em seguida, fatiada e congelada seguindo o procedimento já descrito.

2.3. Extração e Clarificação

A técnica de extração utilizada foi baseada em Percival & Dixon (1996). Pesou-se 0,5 g de amostra liofilizada em tubo de centrífuga, adicionando-se em seguida 10 mL de solução de extração (1 litro água purificada em sistema de purificação MilliQ-Plus, 20 mL de ácido acético glacial, 5 g de bissulfito de sódio). Os tubos foram agitados durante 15 minutos e as amostras clarificadas por centrifugação (Centrífuga Hitachi *himac CR 21*) a 4000 rpm por 20 minutos.

As análises de cada amostra foram feitas em duplicata e o valor final de concentração foi a média calculada dos dois valores de concentração encontrados.

2.4. Limpeza em cartucho de extração fase-sólida C18

A limpeza do extrato clarificado em cartucho de extração fase-sólida C18 (Sep Pak C18 Plus, Waters Co) foi realizada segundo Hellenäs & Branzell (1997). Os cartuchos foram pré-condicionados com 5 mL de acetonitrila, seguidos por 5 mL de solução de extração. Foram aplicados 5 mL de amostra clarificada e os cartuchos foram lavados com 4 mL de acetonitrila:água (15:85, v/v). A eluição dos glicoalcalóides, α -solanina e α -chaconina, ocorreu com 4 mL da solução acetonitrila:tampão fosfato dibásico (K_2HPO_4) 0,01M (misturaram-se 100 mL de tampão fosfato dibásico 0,1M, pH ajustado para 7,6, com 300 mL de água e 600 mL de acetonitrila). O volume final do eluente foi ajustado para 5 mL com a mesma solução de eluição. Uma alíquota de 20 μ L foi injetada no sistema cromatográfico.

2.5. Análise Cromatográfica

A técnica cromatográfica empregada para a separação de α -solanina e α -chaconina foi a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O sistema

cromatográfico utilizado consistiu de bomba quaternária (*Waters 600E Multisolvent Delivery System*); detector de arranjo de diodos (*Waters 996 PDA detector*); injetor automático (*Waters 717 Plus Autosampler*) e um degaseficador de linha (*Waters In-Line Degasser*). A coluna analítica utilizada foi uma Hypersil ODS 5 μm (250 x 4,6) mm e a fase móvel empregada foi acetonitrila:água:etanolamina (35:65:0,05) com pH ajustado para 4,5 - 4,6 com solução de ácido ortofosfórico 10%. O eluente foi monitorado a 200 nm numa vazão de 1 mL/minuto. A faixa de aquisição dos espectros foi de 190 a 400 nm. Utilizou-se acetonitrila grau cromatográfico e água purificada em sistema de purificação MilliQ-Plus (Millipore). Os outros solventes utilizados foram de grau PA.

2.6. Quantificação e Identificação dos Glicoalcalóides

As áreas dos picos nos cromatogramas das amostras de batata foram comparadas com as áreas obtidas de análises de soluções dos padrões puros de α -solanina e α -chaconina dissolvidos em tampão fosfato KH_2PO_4 0,05 M. Para tanto, foram utilizadas curvas de calibração externa em 7 níveis de concentrações para a quantificação dos compostos de interesse (α -solanina e α -chaconina), sendo que cada padrão foi injetado 3 vezes no sistema cromatográfico. Os calibradores (padrões dissolvidos em solução tampão KH_2PO_4 0,05 M) foram mantidos em temperatura de aproximadamente 5°C e utilizados durante o período máximo de três meses, conforme indicação de Hellenäs & Branzell (1997).

A concentração dos padrões variou de 0,7 $\mu\text{g/mL}$ a 61 $\mu\text{g/mL}$ para α -solanina e de 0,8 $\mu\text{g/mL}$ a 64 $\mu\text{g/mL}$ para α -chaconina, correspondendo a teores de 2,9 a 244 e 3,0 a 256 mg/kg de batata *in natura* para α -solanina e α -chaconina, respectivamente.

A identificação dos picos nos cromatogramas das amostras analisadas foi feita por comparação com o tempo de retenção e com espectros dos padrões de α -solanina ($\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{15}$) e α -chaconina ($\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{14}$), adquiridos da Sigma Co.

2.7. Validação de Metodologia

Em face da não disponibilidade de amostras certificadas, a exatidão do método foi calculada através dos valores de recuperação obtidos a partir das análises de amostras fortificadas. Os padrões foram adicionados nas amostras liofilizadas antes da adição da solução de extração, em quantidades equivalentes a 21,1 - 64,7 mg/kg de batata *in natura* para α -solanina, e a 19,0 - 59,1 mg/kg de batata *in natura* para α -chaconina. A repetibilidade da recuperação, realizada para o maior nível de fortificação, foi obtida através das análises de uma mesma amostra em dias diferentes.

A fim de verificar a repetibilidade do método, foram realizadas 8 determinações em uma única amostra em um mesmo dia, e calculados o desvio padrão e coeficiente de variação. Subseqüentemente, a amostra controle foi analisada durante o decorrer do experimento.

Os limites de detecção e quantificação foram obtidos de acordo com Miller & Miller (1993), utilizando dados da regressão da curva de calibração montada para quantificação dos compostos de interesse. Como no decorrer do trabalho várias curvas de calibração foram construídas, os valores finais dos limites de detecção e quantificação foram considerados como sendo as medianas dos limites calculados com as diferentes curvas de calibração, conforme proposto por Currie (1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média do teor de água retirado das amostras pelo processo de liofilização variou de 75,0 a 88,3%, valores estes utilizados nos cálculos de concentração. A fase móvel escolhida composta por acetonitrila, água e etanolamina, resultou em adequada separação e resolução dos picos nos cromatogramas das amostras analisadas, conforme pode ser observado na Figura 2.

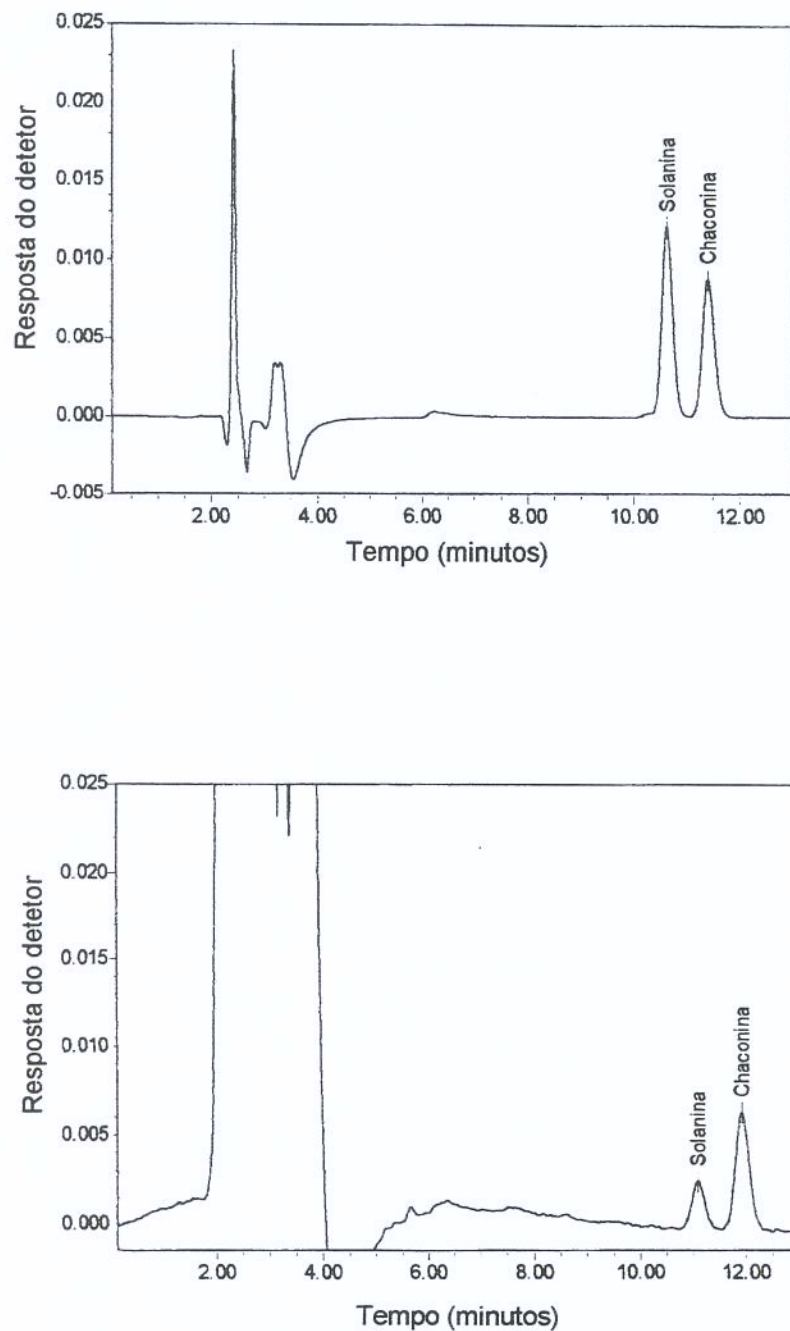


Figura 2: Cromatogramas: a) padrões α -solanina e α -chaconina; b) extrato de amostra de tubérculo inteiro de batata *in natura* da variedade Monaliza lavada. Condições de análise: Coluna Hypersil ODS 5 μ m (250 x 4,6) mm; fase móvel: acetonitrila : água : etanolamina (35:65:0,05; v/v/v), pH 4,5-4,6 ajustado com ácido ortofosfórico 10%; vazão de 1 mL/min.; leitura a 200 nm.

A Tabela 1 mostra os valores de recuperação de α -solanina e α -chaconina para cada amostra fortificada. Os valores médios de recuperação foram 102,6% e 100,2% para α -solanina e α -chaconina, respectivamente. Estes resultados mostram que os valores médios de recuperação para estes glicoalcalóides foram superiores a 94%, concordando com os resultados encontrados em estudo interlaboratorial realizado por Hellenäs & Branzell (1997). Os coeficientes de variação (CV) das médias de recuperação foram condizentes com a literatura, que sugere para estudos de recuperação CV inferiores a 15% e médias de concentração obtida com variação máxima de 20% (Chasin et al., 1994; Chasin et al., 1998).

Tabela 1: Valores de recuperação dos glicoalcalóides α -solanina e α -chaconina em amostras de tubérculos de batata.

Amostra	Quantidade de padrão adicionado (mg /kg batata)		% recuperação	
	α -solanina	α -chaconina	α -solanina	α -chaconina
1	51,2	59,1	101,0	92,0
2	25,8	29,7	108,8	97,3
3	21,1	19,0	107,9	103,2
4	42,6	38,3	100,5	105,3
5	63,9	57,6	101,5	97,3
6	64,1	57,7	103,2	107,6
7	64,7	58,2	104,4	101,7
8	64,6	58,2	101,3	99,3
9	63,9	57,5	95,6	86,4
10	64,6	58,2	101,8	111,7
			$\bar{x} = 102,6$	$\bar{x} = 100,2$
			DP = 3,8	DP = 7,4
			CV = 3,7	CV = 7,4

DP = Desvio Padrão

CV = Coeficiente de Variação

A repetibilidade da recuperação, avaliada através dos resultados obtidos de amostras fortificadas com um mesmo nível de adição de padrões e analisadas em dias diferentes ($n=6$), resultou em valores de CV iguais a 3,0 % para α -solanina e 8,8 % para α -chaconina.

A precisão do método, avaliada durante todo o período analítico através de uma amostra controle ($n=7$), apresentou coeficiente de variação de 9,7 e 7,1% para α -solanina e α -chaconina, respectivamente. Estes valores estão abaixo do valor limite de 15% sugerido por Horwitz (1980) para compostos presentes em alimentos em níveis de ppm.

Os limites medianos de quantificação obtidos para α -solanina e α -chaconina foram 2,5 $\mu\text{g/mL}$ e 1,4 $\mu\text{g/mL}$, e os limites medianos de detecção foram 0,8 $\mu\text{g/mL}$ e 0,4 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2: Limites de detecção e de quantificação calculados a partir de curvas de calibração construídas com os padrões α -solanina e α -chaconina.

Glicoalcalóide	Limite de Detecção [$\mu\text{g/mL}$]	Limite de Quantificação [$\mu\text{g/mL}$]
α -Solanina	0,5	1,6
	0,8	2,7
	0,9	2,9
	0,7	2,3
	0,6	2,1
	0,9	3,0
	Mediana = 0,8	Mediana = 2,5
α -Chaconina	0,4	1,4
	0,6	2,0
	0,3	0,9
	0,4	1,3
	0,4	1,4
	0,9	2,9
	Mediana = 0,4	Mediana = 1,4

A resposta do detector foi linear na faixa de 0,7 µg/mL a 61 µg/mL para α-solanina e de 0,8 µg/mL a 64 µg/mL para α-chaconina. Estas faixas de concentração compreendem o limite de quantificação, bem como a concentração mais alta utilizada nas curvas de calibração. Todas as curvas de calibração apresentaram, até o nível de concentração mais alto, valores do coeficiente de Pearson (r) acima de 0,999.

A Tabela 3 mostra os resultados obtidos das análises das amostras de batata coletadas em diferentes locais de venda durante o período de 18 meses, compreendendo janeiro/2000 a junho/2001.

Tabela 3: Variação dos níveis de glicoalcalóides totais (GAT) (α-solanina + α-chaconina) em amostras de tubérculos inteiros.

Variedade / Tipo	n	α -Solanina	α -Chaconina	GAT		CV (%)
		(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)		
		Mín. – Máx.	Mín. – Máx.	Mín. – Máx.	Média $\pm$ D.P.	
Bintje	7	7,5 – 30,3	25,6 – 65,0	33,1 – 95,3	59,6 $\pm$ 20,9	1,5 – 7,3
Bolinha	9	22,8 – 88,1	38,4 – 158,8	61,2 – 246,9	112,4 $\pm$ 55,5	0,7 – 10,1
Monaliza lavada	12	4,6 – 31,3	17,8 – 69,5	22,4 – 100,8	63,9 $\pm$ 23,3	0,2 – 7,3
Monaliza escovada	04	10,9 – 46,0	28,1 – 83,1	39,0 – 129,1	80,3 $\pm$ 40,1	0,1 – 10,5
Asterix	02	19,7 – 31,0	42,6 – 74,6	62,0 – 105,6	84,0 $\pm$ 30,6	0,2

n = número de coletas

CV = Coeficiente de Variação obtido entre duplicatas de uma amostra

As concentrações de glicoalcalóides totais (GAT) em amostras individuais de tubérculos inteiros das diferentes variedades e tipo estudados (Bintje, Monaliza, Bolinha, Asterix e Kennebeck) variaram de 22,4 a 246,9 mg/kg de batata. A maioria das amostras analisadas (83%) apresentou teor de glicoalcalóides totais inferior a 100 mg/kg batata, independentemente da variedade/tipo e do tamanho do tubérculo. Estes valores estão dentro da faixa de concentração de GAT relatada pela literatura para outras variedades de batata comercializadas no Brasil (Spoladore et al., 1983).

A concentração de GAT determinada para a variedade de batata Kennebeck (94mg/kg) não foi incluída na Tabela 1 porque apenas uma amostra foi analisada. Esta variedade é utilizada com fins industriais e apenas uma amostra foi obtida através de doação da CEASA-Campinas.

A razão entre α -chaconina e α -solanina nas diferentes amostras variou de 57:43 a 80:20. A importância de se conhecer a razão entre estes glicoalcalóides fundamenta-se em estudos que indicam que o potencial tóxico de α -chaconina é maior do que o de α -solanina (Caldwell et al., 1991; Friedman et al., 1991; Rayburn et al., 1994). Em estudos de rupturas de membranas por α -solanina e α -chaconina, Roddick et al. (1988) identificaram uma interação sinérgica entre estes glicoalcalóides, sugerindo que as proporções relativas destes glicoalcalóides podem influenciar sua toxicidade mais do que as concentrações absolutas dos glicoalcalóides totais, com conseqüente implicação para a recomendação de 200 mg GAT/kg de batata como concentração segura.

O valor de 200 mg GAT/kg batata, estimado por Slanina (1990) como limite máximo recomendado, foi excedido por uma única amostra, do tipo Bolinha, que continha 246,9 mg GAT/kg. Esta amostra apresentou tubérculos com peso ao redor de 15 g, com pontos pretos, manchas verdes em sua superfície e murchamento.

De acordo com os gráficos da Figura 3 e 4 verifica-se que, além de uma acentuada variação nos teores de glicoalcalóides totais entre as diferentes variedades, houve diferenças marcantes entre amostras de uma mesma variedade, evidenciando uma grande variabilidade individual nos níveis destes compostos em batatas.

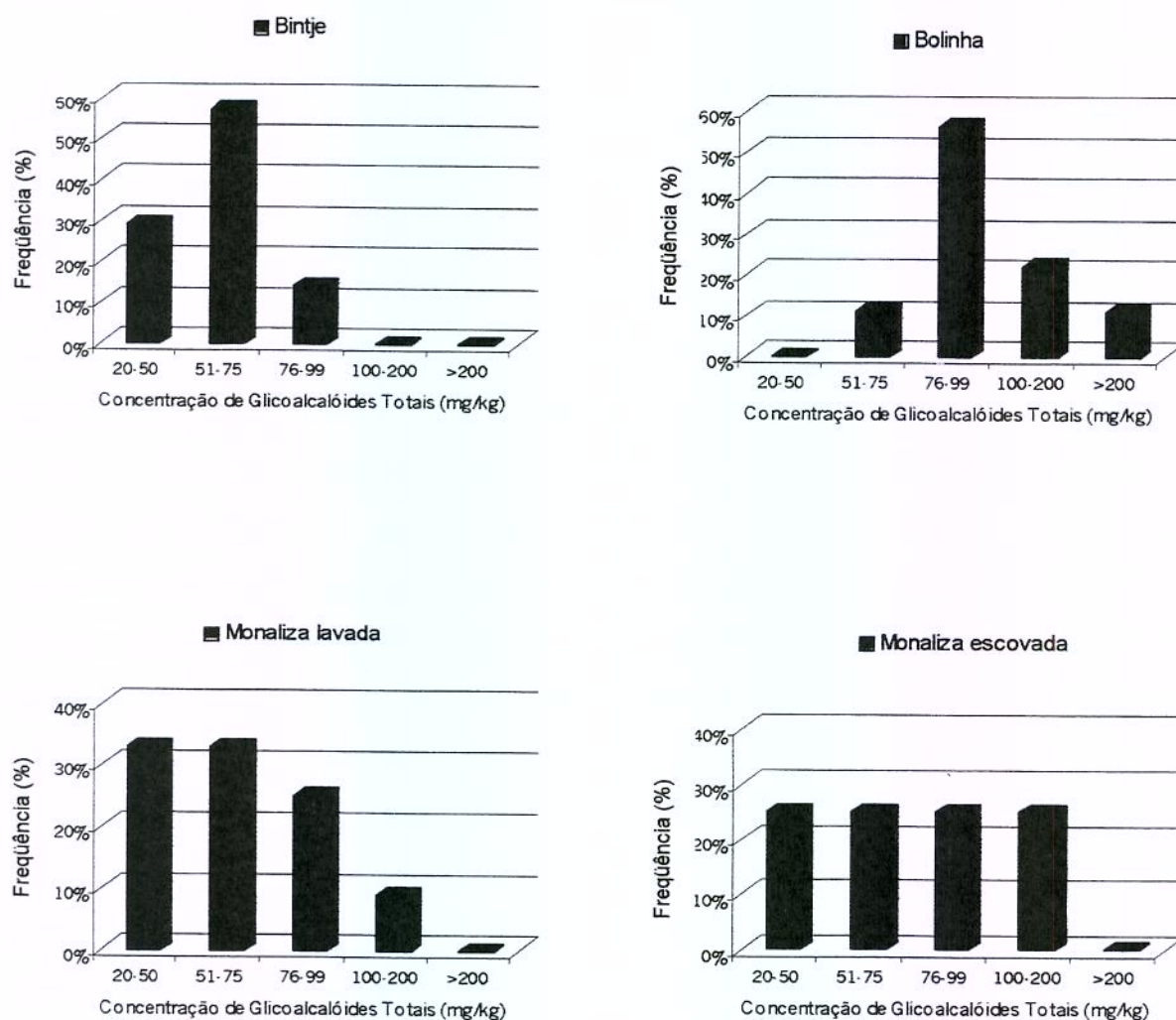


Figura 3: Distribuição da frequência (%) dos níveis de glicoalcalóides totais (α -solanina + α -chaconina) para cada variedade e tipo de batata analisada.

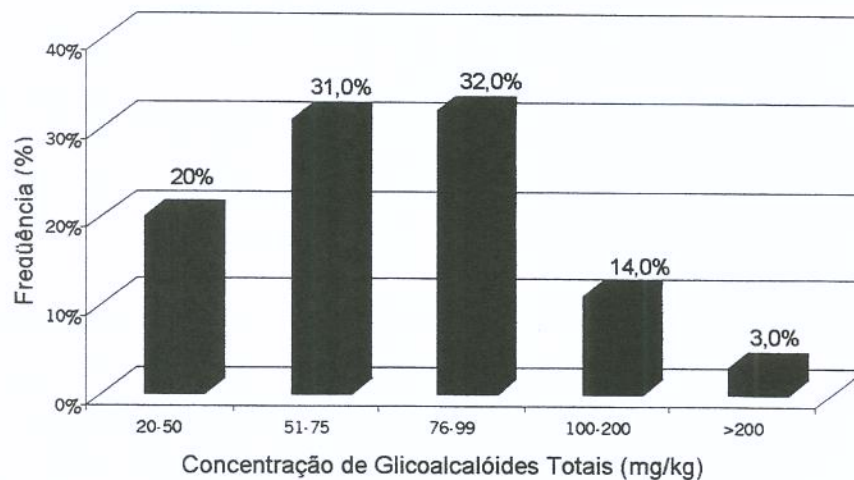


Figura 4: Distribuição da frequência (%) dos níveis de glicoalcalóides totais (α -solanina + α -chaconina) nas diferentes variedades e tipo de batatas analisadas.

Para a maioria das amostras, obteve-se uma relação inversa entre tamanhos de tubérculos de batata e teor de glicoalcalóides totais. No caso da variedade Bintje, o peso médio dos tubérculos variou de 72 a 145 g, sendo que a concentração de GAT para os respectivos tamanhos foi 95,3 mg/kg e 33,1 mg/kg. O mesmo foi observado para a variedade Monaliza lavada, sendo que neste caso a concentração foi de 46,6 mg GAT/kg para os tubérculos de maior tamanho (212 g) e 100,8 mg GAT/kg para os tubérculos de menor tamanho (70g).

Acredita-se que esta relação inversa entre tamanho e concentração não tenha sido mantida para todas as amostras analisadas de uma mesma variedade em face ao estado em que o tubérculo se encontrava. Amostras de tubérculos de batata de uma mesma variedade, mas que apresentavam forma heterogênea, pontos pretos, pele esverdeada e textura murcha, apresentaram maiores concentrações de glicoalcalóides totais em relação a tubérculos com pesos

inferiores, mas que apresentavam características homogêneas de forma, cor amarelada da pele e textura firme (Tabela 4 e Figura 5).

Tabela 4: Aspecto visual dos tubérculos analisados e teor de glicoalcalóides totais (GAT).

Variedade / Tipo	Descrição			
	Características homogêneas de forma, cor amarelada da pele e textura firme,		Heterogeneidade na forma, pontos pretos, pele esverdeada e textura murcha	
	n	GAT (mg/kg)	n	GAT (mg/kg)
Bintje	4	33,1 – 61,7	3	65,6 – 95,3
Bolinha	4	61,2 – 91,8	5	81,4 – 246,9
Monaliza lavada	8	22,4 – 88,7	4	45,7 – 100,8
Monaliza escovada	1	39	3	57,9 – 129,1
Asterix	1	62,3	1	105,6

n = número de coletas

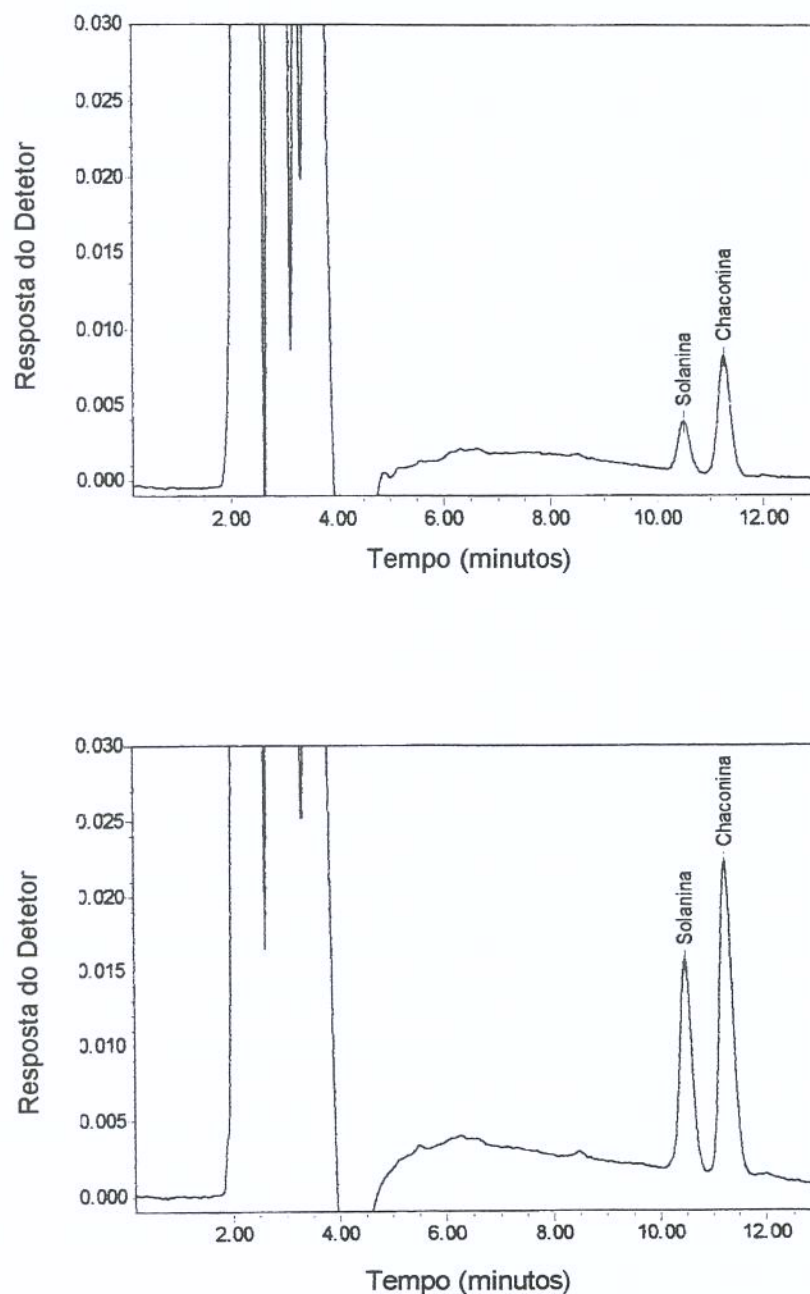


Figura 5: Cromatogramas dos extratos das amostras de tubérculos inteiros de batata *in natura* do tipo Bolinha. a) amostra com características homogêneas de forma, cor da pele amarelada e textura firme; b) amostra com forma heterogênea, pontos pretos, pele esverdeada e textura murcha. Condições de análise: Coluna Hypersil ODS 5 μm (250 x 4,6) mm; fase móvel: acetonitrila:água:etanolamina (35:65:0,05; v/v/v), pH 4,5-4,6 ajustado com ácido ortofosfórico 10%; vazão de 1 mL/min.; leitura a 200 nm.

O teor de GAT (mg/kg) das amostras de batata da variedade Bintje e tipo Bolinha analisadas sem a pele foi 14,7 e 3,7 mg/kg, respectivamente. Quando analisadas com a pele, o teor de GAT foi 61,7 mg/kg para a variedade Bintje e 61,2 mg/kg para o tipo Bolinha, o que confirma a maior concentração de glicoalcalóides na pele relativamente à polpa. Pele e brotos de tubérculos da variedade Bintje apresentaram níveis de GAT de 342 mg/kg e 1.370 mg/kg, respectivamente, o que comprova a maior concentração de α -solanina e α -chaconina na região periférica dos tubérculos de batata.

4. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados indicam que:

1 - A concentração de glicoalcalóides totais (GAT) em batatas depende da variedade e do tamanho do tubérculo. Para tubérculos de uma mesma variedade e de peso semelhante, o teor de GAT varia em função da textura, cor e presença de pontos pretos: tubérculos murchos, de cor esverdeada e com pontos pretos tendem a apresentar níveis mais elevados de glicoalcalóides.

2 - Os teores de glicoalcalóides totais de batatas das variedades Bintje, Monaliza lavada, Monaliza escova, Asterix e Kennebeck comercializadas na região de Campinas, são inferiores à concentração máxima recomendada como segura para consumo humano.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUSHWAY, R. J.; PONNAMPALAM, R. α -Chaconine and α -solanine content of potato products and their stability during several modes of cooking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.29, n.4, p.814-817, 1981.

CALDWELL, K. A.; GROSJEAN, O. K.; HENIKA, P. R.; FRIEDMAN, M. Hepatic ornithine decarboxylase induction by potato glycoalkaloids in rats. **Food and Chemical Toxicology**, vol.29, n.8, p.531-535, Aug., 1991.

CHASIN, A. A. M.; CHASIN, M.; SALVADORI, M. C. Validação de métodos em análises toxicológicas. **Revista Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.30, n.2, p.49-53, jul./dez., 1994.

CHASIN, A. A. M.; NASCIMENTO, E. S.; RIBEIRO-NETO, L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; ANDRAUS, M. H.; SALVADORI, M. C.; FERNÍCOLA, N. A. G.; GORNI, R.; SALCEDO, S. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.11, n.1, p.1-6, 1998.

CURRIE, L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.391, n.2, p.127-134, May, 1999.

FAO/WHO. **Summary of evaluations performed by the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA)**. Washington: ILSI Press, 1999.

FRIEDMAN, M.; DAO, L. Distribution of glycoalkaloids in potato plants and commercial potato products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.3, p.419-423, Mar., 1992.

FRIEDMAN, M.; RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A. Developmental toxicology of potato alkaloids in the frog embryo teratogenesis assay - *Xenopus* (FETAX). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, vol.29, n.8, p.537-547, Aug., 1991.

HELLENÄS, K. E.; BRANZELL, C. Liquid chromatographic determination of the glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in potato tubers: NMKL interlaboratory study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, Gaithersburg, v.80, n.3, p.549-554, May/June, 1997.

HORWITZ, W.; KAMPS, L. R.; BOYER, K. W. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Gaithersburg, v.63, n.6, p.1344-1354, 1980.

JADHAV, S. J.; LUTZ, S. E.; MAZZA, G.; SALUNKHE, D. K. Potato Glycoalkaloids: chemical, analytical, and biochemical perspectives. **ACS Symposium Series**, Washington, v.662, p.94-114, 1997.

JADHAV, S. J.; SALUNKHE, D. K. Formation and control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of *Solanum tuberosum* L. and evaluation of glycoalkaloid toxicity. **Advances in Food Research**, San Diego, v.21, p.307-354, 1975.

MAGA, J. A. Potato glycoalkaloids. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.12, n.4, p.371-405, July, 1980.

MILLER, J. C.; MILLER, J. M. Errors in instrumental analysis: regression and correlation. In: MILLER, J. C.; MILLER, J. M. **Statistics for analytical chemistry**, 3.ed., Chichester: Ellis Horwood, 1993. Chapter 5, p.101-141.

MORRIS, S. C.; LEE, T. H. The toxicity and teratogenicity of *Solanaceae* glycoalkaloids, particularly those of the potato (*Solanum tuberosum*): a review. **Food Technology in Australia**, North Sydney, v.36, n.3, p.118-124, Mar., 1984.

PATIL, B. C.; SALUNKHE, D. K.; SINGH, B. Metabolism of solanine and chlorophyll in potato tubers as affected by light and specific chemicals. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.3, p.474-476, 1971.

PERCIVAL, G.; DIXON, G. R. Glycoalkaloid concentrations in aerial tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, vol.70, n.4, p.439-448, Apr., 1996.

RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A.; FRIEDMAN, M. Role of carbohydrate side chains of potato glycoalkaloids in developmental toxicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.42, n.7, p.1511-1515, July, 1994.

RODDICK, J. G.; RIJNENBERG, A. L.; OSMAN, S. F. Synergistic interaction between potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in relation to destabilization of cell membranes: Ecological implications. **Journal of Chemical Ecology**, New York, vol.14, n.3, p.889-902, Mar., 1988.

SLANINA, P. Solanine (glycoalkaloids) in potatoes: toxicological evaluation. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.28, n.11, p.759-761, Nov., 1990.

SMITH, D. B.; RODDICK, J. G.; JONES, J. L. Potato glycoalkaloids: some unanswered questions. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, vol.7, n.4, p.126-131, Apr., 1996.

SPOLADORE, D. S.; TEIXEIRA, J. P. F.; ZULLO, M. A. T.; TEIXEIRA, P. R. M.; COELHO, S. M. B. M. & MIRANDA F^O., H. S. Ocorrência de glicoalcalóides e esverdeamento em tubérculos de batata recém-colhidos e armazenados. **Bragantia**, Campinas, v.42, p.221-231, 1983.

CAPÍTULO 3

ESTUDO DO EFEITO DA LUZ E TEMPERATURA NA FORMAÇÃO DE GLICOALCALÓIDES EM BATATAS *IN NATURA*

ESTUDO DO EFEITO DA LUZ E TEMPERATURA NA FORMAÇÃO DE GLICOALCALÓIDES EM BATATAS *IN NATURA*

RESUMO

Com o objetivo de estudar o efeito da luz e temperatura na formação de glicoalcalóides em batatas, foram realizados dois experimentos com tubérculos da variedade Monaliza, de diferentes tamanhos. Os tubérculos foram submetidos por até 16 dias aos seguintes tratamentos: 1) exposição à iluminação natural, 2) exposição à iluminação artificial (fluorescente), 3) estocagem no escuro sob refrigeração (7-8°C) e 4) estocagem no escuro à temperatura ambiente. Os níveis dos glicoalcalóides totais (α -solanina + α -chaconina) foram determinados utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com coluna de fase reversa C18 e detetor de arranjo de diodos. Considerando-se apenas o teor de glicoalcalóides no início e final dos experimentos, verificou-se que o mesmo aumentou em todos os tratamentos, muito embora os resultados intermediários não tenham sido consistentes. Os tubérculos de menor tamanho foram os que apresentaram os maiores teores de GAT, independente da fonte luminosa e da temperatura. A exposição à luz fluorescente, relativamente aos demais tratamentos, resultou nos maiores teores de GAT ao final dos experimentos. Em todos os tratamentos os níveis de GAT foram inferiores a 200 mg/kg batata, valor considerado como concentração segura para consumo humano.

Palavras chaves: batata, glicoalcalóides, luz, temperatura

EFFECT OF EXPOSURE TO LIGHT AND TEMPERATURE ON THE GLYCOALKALOID ACCUMULATION IN POTATO TUBERS

ABSTRACT

Two experiments were designed to study the effect of light exposure and storage temperature on the total glycoalkaloid (TGA) content of potato tubers of different sizes. Potato tubers of Monaliza variety were exposed during 16 days to the following conditions: 1) indirect sunlight exposure, 2) fluorescent light exposure, 3) refrigeration (7-8°C), and 4) storage in darkness under room temperature. The glycoalkaloids α -solanine e α -chaconine were determined using a reversed phase C18 HPLC column with a photodiode array detector. TGA levels at the end of the experiments were higher than the correspondent initial content, although the intermediate results were not consistent. Smaller tubers presented the highest TGA concentrations, irrespective of the treatment. Exposure of potato tubers to fluorescent light resulted in the highest TGA levels, as compared to the other conditions. In both experiments the levels of TGA found in the analysed potato samples were below 200 mg/kg, value that has been considered the recommended safety level for human consumption.

Keywords: potato, glycoalkaloids, light, temperature

1. INTRODUÇÃO

Os principais glicoalcalóides presentes em batatas são α -solanina e α -chaconina, os quais correspondem a 95% ou mais dos glicoalcalóides totais (GAT) (Bushway & Ponnampalam, 1981). De acordo com Maga (1980) os glicoalcalóides podem ser encontrados praticamente em todas as partes de uma planta normal. Entre os tecidos que contêm glicoalcalóides estão incluídos folhas, caules, flores, tubérculos, peles e brotos, sendo que as mais altas concentrações ocorrem na casca ou pele dos tubérculos e em seus brotos (Morris & Lee, 1984; Smith et al., 1996).

Acredita-se que estes compostos tenham duas ações tóxicas no organismo humano: uma sobre a acetilcolinesterase, afetando o sistema nervoso central e outra sobre as membranas celulares, causando ruptura das membranas do trato gastrointestinal com danos hemolíticos e hemorrágicos (Maga, 1980; Morris & Lee, 1984; Slanina, 1990).

Em geral, os teores de GAT encontrados em batatas comercializadas *in natura* são inferiores a 200 mg GAT/kg, que é o valor considerado seguro por Slanina (1990). Entretanto, os níveis destes compostos podem variar em decorrência da diferenciação genética dos vários cultivares existentes, do tipo e umidade do solo, tratamentos com fertilizantes e pesticidas, poluição do ar e condições de armazenamento (Patil et al., 1971; Jadhav & Salunke, 1975; Friedman & Dao, 1992).

Além disto, a síntese de glicoalcalóides é rapidamente estimulada quando tubérculos de batata são expostos a condições de estresse como iluminação ou injúria mecânica (Sinden, 1987; Jadhav & Salunkhe, 1975; Jadhav et al., 1981; Dale et al., 1993). A exposição dos tubérculos à luz e a baixas temperaturas em alguns estágios do processamento e venda resulta em mudanças fisiológicas dos tubérculos, como o esverdeamento (formação de clorofila) e síntese de glicoalcalóides esteroidais nas camadas mais periféricas da batata, sendo que a taxa de acumulação de glicoalcalóides é dependente do cultivar, da temperatura

de estocagem e do tipo de fonte de luz (Griffiths et al., 1997; Griffiths et al., 1998; Percival, 1999).

Maine et al. (1988) verificaram que a concentração de glicoalcalóides totais em 8 dos 10 cultivares estudados aumentou significativamente ($p < 0,001$) após exposição à luz (9600 lux) por 42 horas, quando comparados com tubérculos mantidos no escuro. De acordo com os mesmos autores, a identificação da variedade de batata amostrada é importante em decorrência das diferenças nos níveis de glicoalcalóides e na sensibilidade à luz.

Alguns estudos têm mostrado que a acumulação de glicoalcalóides em tubérculos de batata pode ser influenciada, significativamente, pelo espectro de composição da fonte luminosa. No caso de tubérculos do cultivar Pentland Hawk, o acúmulo de glicoalcalóides foi 4 a 6 vezes maior quando expostos à fonte luminosa fluorescente ou sódio, comparativamente a tubérculos expostos à fonte luminosa de mercúrio. Resultados similares foram obtidos com o cultivar Désirée (Percival et al., 1993; Percival et al., 1994).

No Brasil, Spoladore et al. (1983) e Spoladore et al. (1985) verificaram que os teores de glicoalcalóides totais encontrados em tubérculos expostos à luz natural eram dependentes do cultivar, do período de armazenamento e da interação entre essas variáveis.

De forma a obter resultados que pudessem ter uma aplicação prática no sentido de orientar as donas de casa e comerciantes sobre como armazenar corretamente as batatas, com o intuito de reduzir a formação de glicoalcalóides, o presente estudo teve como objetivo determinar o teor de α -solanina e α -chaconina em batatas *in natura*, quando submetidas a diferentes condições de luz e temperatura.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Foram analisados tubérculos de batata *in natura* da variedade Monaliza, que é uma das variedades mais consumidas na região de Campinas. Os lotes de tubérculos de batata, constituídos de 30 e 50 quilos, foram adquiridos na CEASA – Campinas, no período de Novembro de 2000 a Abril de 2001. De acordo com informações fornecidas pelos atacadistas, os tubérculos haviam sido colhidos três dias antes da coleta. A umidade média dos tubérculos, determinada no início dos tratamentos, foi $82\% \pm 0,74$.

Em um primeiro ensaio utilizaram-se, para cada tratamento, 30 tubérculos lavados e pesados. O intervalo de amostragem foi: 0, 4, 8, 12 e 16 dias. As médias dos pesos dos tubérculos em cada tratamento e seus respectivos desvios padrões estão relacionados na Tabela 1.

Tabela 1: Peso médio do tubérculo para cada tratamento.

Tratamento	Peso Médio do Tubérculo
Exposição à iluminação natural	$\bar{X} = 220,66 \pm 54,05$
Exposição à iluminação artificial	$\bar{X} = 204,84 \pm 46,89$
Estocagem no escuro sob refrigeração	$\bar{X} = 212,35 \pm 37,48$
Estocagem no escuro à temperatura ambiente	$\bar{X} = 216,46 \pm 51,06$

Em cada amostragem, cerca de 4 batatas (600 a 800 gramas) foram retiradas e cortadas em 4 partes, sendo uma das partes (correspondente a uma

posição previamente definida) fatiada, congelada e liofilizada. Após a liofilização, as fatias foram moídas e misturadas para compor uma amostra.

Com base nos resultados do primeiro experimento, foi delineado um segundo ensaio, utilizando-se tubérculos de batata pré-selecionados, os quais foram separados em dois tamanhos, pequeno (A) e médio (B). Tal procedimento foi adotado para minimizar a influência do tamanho das batatas nos resultados do experimento. As médias dos pesos dos tubérculos utilizados em cada tratamento e seus respectivos desvios padrões estão relacionados na Tabela 2:

Para cada tratamento, em diferentes intervalos de tempo durante o período de 14 dias, foram retirados quatro tubérculos de tamanhos A e B, os quais foram fatiados, congelados a -15°C e liofilizados. Após a liofilização, as fatias foram moídas e misturadas para compor as amostras.

Tabela 2: Peso médio do tubérculo para cada tratamento e tamanho.

Tratamento	Peso Médio do Tubérculo	
	A	B
Exposição à iluminação natural	$\bar{X} = 73,29 \pm 9,50$	$\bar{X} = 123,80 \pm 18,79$
Exposição à iluminação artificial	$\bar{X} = 70,33 \pm 3,44$	$\bar{X} = 112,24 \pm 17,91$
Estocagem no escuro sob refrigeração	$\bar{X} = 63,72 \pm 7,29$	$\bar{X} = 121,44 \pm 23,06$
Estocagem no escuro à temperatura ambiente	$\bar{X} = 67,76 \pm 9,72$	$\bar{X} = 112,98 \pm 13,64$

2.2. Tratamentos

Os tubérculos de batata foram submetidos às seguintes condições :

- 1) *Exposição à iluminação natural*: as batatas foram deixadas em ambiente coberto, onde apenas houve incidência indireta da luz solar;
- 2) *Exposição à iluminação artificial* (lâmpadas fluorescentes de 40 W): os tubérculos de batata foram deixados em bancada de laboratório, onde a distância entre a fonte de luz e as amostras foi aproximadamente dois metros. A exposição das batatas à luz foi de forma ininterrupta (dia e noite), à temperatura ambiente. Através de entrevistas, verificou-se que esta fonte de luz é a mais utilizada tanto nos locais de venda (hipermercados e varejões) como em residências (cozinha e área de serviço).
- 3) *Estocagem no escuro sob refrigeração (7-8°C)*: as batatas foram armazenadas em geladeira, sendo expostas à luz somente quando a porta era aberta para retirada de amostras.
- 4) *Estocagem no escuro à temperatura ambiente*: as amostras foram estocadas dentro de armários ventilados, sem exposição à luz.

Os tubérculos de batata foram colocados em bandejas retangulares (uma para cada tratamento) e mantidos nas diferentes condições por até 16 dias, tempo estimado de permanência do alimento nas prateleiras dos hipermercados e varejões na região de Campinas. Este também é o período aproximado de estocagem de batatas em residências, e corresponde ao tempo necessário para o tubérculo de batata produzir brotos e adquirir a coloração verde, comprometendo a sua comercialização e/ou consumo.

As batatas expostas à luz (natural ou artificial) foram viradas a cada vinte e quatro horas, de modo a proporcionar a exposição uniforme do tubérculo. A cada amostragem as batatas foram retiradas ao acaso, através de sorteio, e em seguida preparadas para liofilização e posterior análise por cromatografia líquida

de alta eficiência (CLAE). No caso dos tratamentos 1 e 2, a área de apoio das batatas foi demarcada em quadrados para se efetuarem as medidas de intensidade luminosa.

Ao final de cada tratamento, as batatas foram avaliadas visualmente quanto à aparência (brotamento, manchas verdes e presença de pontos pretos) e textura (murchamento).

2.3. Medição da intensidade de luz

As medições da intensidade luminosa foram realizadas com o aparelho Luxímetro (*testo 545 – Lux, fc*). As medidas no experimento com luz natural (luz do sol) foram feitas em dias que apresentaram temperatura e luminosidade diferentes (dias ensolarados e nublados). O experimento com as lâmpadas fluorescentes foi realizado longe de janelas e, portanto, ao abrigo da luz natural. Foram feitas medidas em dias e horários intercalados.

2.4. Preparação das Amostras, Extração e Análise Cromatográfica

As amostras de tubérculos de batata correspondentes a cada tratamento foram analisadas por CLAE, conforme metodologia já descrita no capítulo 2, itens 2.2 a 2.5 (páginas 55 a 57).

2.5. Recuperação

Os valores de recuperação foram obtidos ao longo do experimento. A amostra correspondente ao tempo zero foi utilizada como controle em todas os testes, que foram conduzidos em três níveis de fortificação (em quantidades

equivalentes a 21,1 – 64,7 mg/kg batata para α -solanina e 19,0 – 58,2 mg/kg batata para α -chaconina).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Parâmetros Monitorados e Recuperação

A tabela 3 apresenta os resultados das medidas de temperatura e intensidade luminosa, feitas no decorrer dos diferentes tratamentos.

Tabela 3: Variação dos parâmetros monitorados nos diferentes tratamentos

Tratamentos	Temperatura ^(a) (°C)	Intensidade Luminosa ^(b) (Lux)
Iluminação natural	23 – 29	131 – 868
Iluminação artificial	24 – 30	458 – 960
Estocagem no escuro sob refrigeração	7 – 8	—
Estocagem no escuro à temperatura ambiente	19 – 26	—

^(a) Temperaturas medidas durante o decorrer do experimento

^(b) A intensidade luminosa foi medida pelo aparelho Luxímetro (testo 545 – Lux, fc)

O valor médio de recuperação foi 102% para α -solanina e 101,6% para α -chaconina, e o coeficiente de variação das concentrações de glicoalcalóides das análises realizadas em duplicata para cada amostra fortificada variou de 0,3 a 5,2% para α -solanina e de 0,6 a 8,6% para α -chaconina.

3.2. Experimento 1

A Tabela 4 apresenta os níveis de glicoalcalóides totais obtidos nos diferentes tratamentos. Os resultados indicam uma flutuação de valores no decorrer do experimento, o que dificultou a interpretação dos dados e a comparação do efeito dos diferentes tratamentos na formação dos glicoalcalóides. Entretanto, quando se considera apenas o teor de glicoalcalóides no início e final dos experimentos, verifica-se que o mesmo aumentou, muito embora os resultados intermediários não tenham sido consistentes.

Tabela 4: Concentração de Glicoalcalóides Totais (mg/kg batata *in natura*) em tubérculos de batata da variedade Monaliza submetidos a diferentes tratamentos.

Tratamento	Período de exposição (dias)				
	0	4	8	12	16
Exposição à luz natural	46,6 ^(a) (± 3,4) ^(b)	40,5 (± 1,2)	38,2 (± 5,2)	49,1 (± 7,7)	97,8 (± 3,1)
Exposição à luz fluorescente	46,6 (± 3,4)	70,3 (± 4,5)	44,4 (± 1,1)	74,3 (± 4,5)	67,8 (± 4,2)
Estocagem no escuro sob refrigeração	46,6 (± 3,4)	44,6 (± 2,5)	57,1 (± 5,2)	42,3 (± 1,0)	73,9 (± 9,2)
Estocagem no escuro à temperatura ambiente	46,6 (± 3,4)	63,7 (± 2,5)	40,8 (± 1,7)	54,8 (± 3,7)	87,0 (± 6,6)

^(a) Valor médio de duplicatas para cada amostra

^(b) Desvio padrão das duplicatas para cada amostra

(

Conforme ilustrado na Figura 1, a formação de glicoalcalóides foi evidenciada mesmo nos tubérculos estocados no escuro, em níveis comparáveis àqueles obtidos nos demais tratamentos. Após 16 dias, os tubérculos mantidos no escuro apresentaram manchas pretas (podridão) e formação de brotos, o que confirma o metabolismo ativo da batata, independente da presença de luz. Alguns autores (Maine et al., 1988; Percival, 1999; Griffiths et al., 2000; Haddadin et al., 2001) utilizaram a estocagem no escuro como tratamento controle a fim de avaliar a variação da concentração de glicoalcalóides em tubérculos de batatas expostos à luz. Entretanto, tendo em vista os nossos resultados, considera-se que este procedimento pode não ser adequado para todas as variedades de batata.

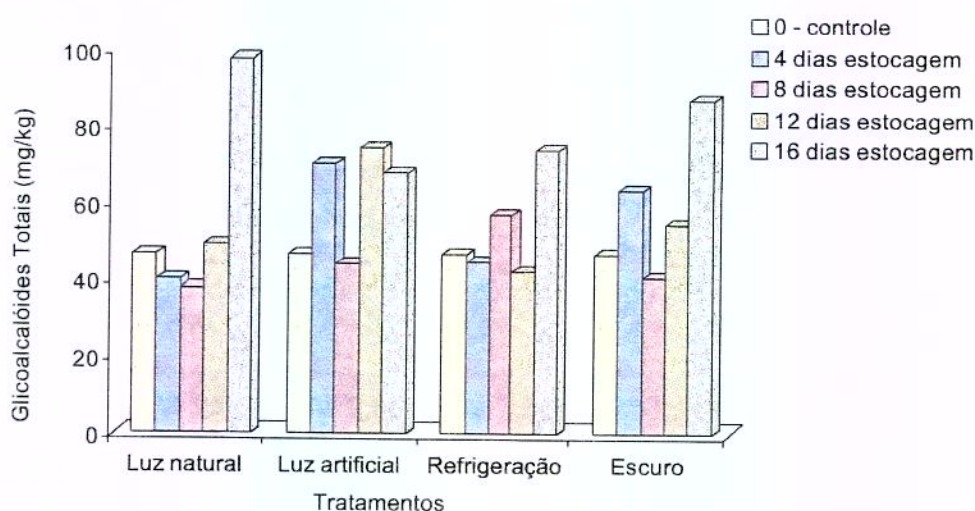


Figura 1. Concentração de GAT (mg/kg batata *in natura*) da variedade Monaliza submetida aos seguintes tratamentos: exposição à iluminação natural, exposição à luz fluorescente, estocagem no escuro sob refrigeração e estocagem no escuro. O período de exposição foi de 16 dias.

De acordo com Percival & Dixon (1996) e Spoladore et al. (1985), durante o armazenamento de batatas no escuro pode ocorrer atividade residual de crescimento, permitindo assim que aconteçam as reações de síntese e de degradação de compostos e, portanto, a biossíntese de glicoalcalóides.

Os tubérculos que foram expostos à luz artificial (fluorescente) apresentaram maior intensidade de cor esverdeada em sua superfície, denotando uma maior produção de clorofila relativamente àqueles mantidos no escuro a temperatura ambiente (ANEXO 5). Os tubérculos mantidos no escuro e expostos à luz natural, por sua vez, apresentaram grande formação de brotos e murchamento.

A variabilidade dos teores de glicoalcalóides evidenciada no decorrer de todos os tratamentos pode ter sido decorrente de diferenças individuais no teor de glicoalcalóides e da heterogeneidade de distribuição dos glicoalcalóides num mesmo tubérculo. Conforme mencionado anteriormente, a amostragem dos tubérculos para análise foi aleatória e incluiu 4 tubérculos de diferentes tamanhos. Estes, por sua vez, foram cortados em porções e apenas uma porção de cada tubérculo foi liofilizada, combinada com as outras porções (4 porções foram utilizadas para compor uma amostra) e então analisada.

Acredita-se, portanto, que a amostragem tenha sido insuficiente e ou inadequada para refletir o efeito dos diferentes tratamentos na formação dos glicoalcalóides. Além disso, ao final do experimento os tubérculos apresentaram pontos pretos (podridão) e aparência imprópria ao consumo. Concluiu-se, portanto, que o tempo de exposição de 16 dias foi demasiado longo.

3.3. Experimento 2

A fim de minimizar a influência do tamanho dos tubérculos na formação de glicoalcalóides ao final dos tratamentos, e de evitar que os mesmos se apresentassem impróprios para o consumo (brotos e murchamento) ao final do tratamento, decidiu-se por uma pré-seleção dos tubérculos em tamanhos mais uniformes e uma redução do período de exposição de 16 para 14 dias, respectivamente. Os teores de glicoalcalóides determinados nas diferentes amostras estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Concentração de Glicoalcalóides Totais (mg/kg batata *in natura*) em tubérculos de batata da variedade Monaliza expostos a diferentes tratamentos.

Tratamento	Tamanho	Período de exposição aos tratamentos (dias)			
		0	3	7	14
Exposição à luz natural	A	51,4 ^(a) ± 0,59 ^(b)	96,9 ± 0,51	73,3 ± 2,38	92,5 ± 0,11
		(72:28) ^(c)	(71:29)	(70:30)	(68:32)
	B	51,4 ± 0,59	42,7 ± 1,02	64,6 ± 4,75	58,9 ± 2,26
		(72:28)	(73:27)	(67:33)	(70:30)
Exposição à luz fluorescente	A	51,4 ± 0,59	59,9 ± 0,71	103,6 ± 1,44	107,8 ± 11,60
		(72:28)	(72:28)	(64:36)	(61:39)
	B	51,4 ± 0,59	49,8 ± 4,57	67,9 ± 1,56	103,2 ± 8,41
		(72:28)	(72:28)	(67:33)	(66:34)
Estocagem sob refrigeração	A	51,4 ± 0,59	74,9 ± 1,75	87,2 ± 4,30	81,8 ± 8,70
		(72:28)	(73:27)	(71:29)	(69:31)
	B	51,4 ± 0,59	58,7 ± 3,49	50,8 ± 4,84	65,0 ± 1,22
		(72:28)	(72:28)	(68:32)	(70:30)
Estocagem no escuro	A	51,4 ± 0,59	76,5 ± 4,53	76,9 ± 2,57	60,8 ± 2,96
		(72:28)	(72:28)	(72:28)	(73:27)
	B	51,4 ± 0,59	72,2 ± 2,96	59,6 ± 7,37	57,0 ± 1,44
		(72:28)	(73:27)	(71:29)	(72:28)

^(a) Valor médio de duplicatas para cada amostra

^(b) Razão entre α -chaconina: α -solanina

Analizando-se o perfil dos gráficos na Figura 2, observa-se novamente que os teores de glicoalcalóides flutuaram durante os experimentos, apesar da alteração feita na seleção dos tubérculos. Apenas os tubérculos expostos à luz fluorescente apresentaram aumento contínuo do teor de glicoalcalóides.

As concentrações finais de glicoalcalóides nos tubérculos de menor tamanho (A) foram maiores do que as concentrações nos tubérculos de maior tamanho (B), independente do tratamento. Estudos realizados com os cultivares Pentland Dell e Estima indicaram que a concentração de glicoalcalóides no tubérculo era altamente afetada pelo genótipo, e que havia uma relação inversa entre concentração de glicoalcalóides totais e peso de tubérculos individuais para os dois cultivares (Papathanasiou et al., 1999).

Para ambos os tamanhos de tubérculos, o tratamento com exposição à luz fluorescente foi o que mais induziu a formação de glicoalcalóides totais, dobrando praticamente sua concentração inicial (máximo de 107,8 mg GAT/kg batata) ao final dos 14 dias de experimento.

Um aumento do teor de glicoalcalóides totais equivalente a 534% e 173% do teor inicial foi observado em batatas das variedades Brodick e Eden, respectivamente, após exposição a lâmpadas de sódio por um período de 5 dias (Griffiths et al., 2000). Estudos conduzidos por Percival et al. (1994) com batata da variedade Pentland Hawk evidenciaram um efeito superior da luz fluorescente relativamente à luz de mercúrio, e inferior em relação à de sódio, na formação de glicoalcalóides após 13 dias de exposição. As concentrações de glicoalcalóides em batatas expostas às fontes de luz fluorescente, sódio e mercúrio aumentaram de 22,8 para 558,4, 698,0 e 211,5 mg GAT/kg de batata *in natura*, respectivamente. Comparando-se estes valores com os obtidos no presente estudo, verifica-se que a variedade de batata tem uma grande influência na formação de GAT, independente da fonte de luz.

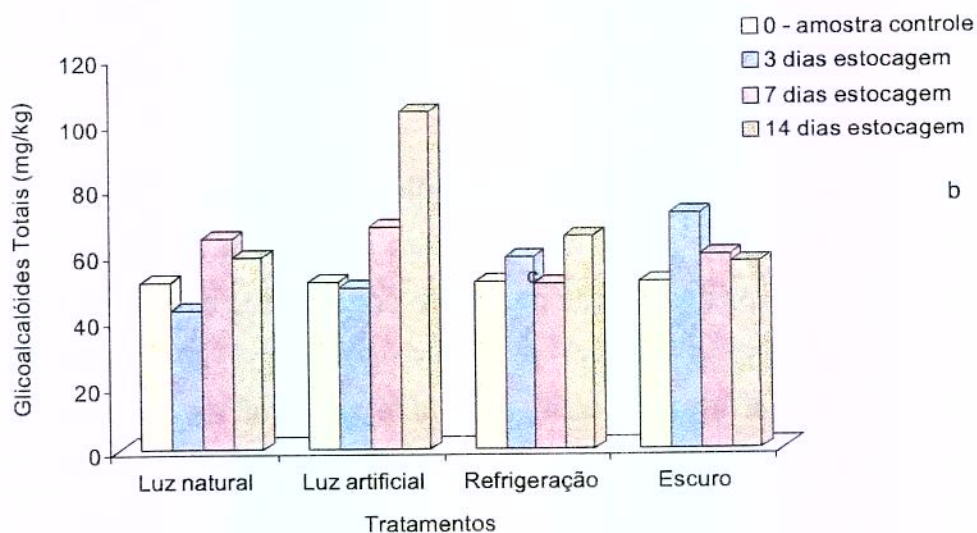
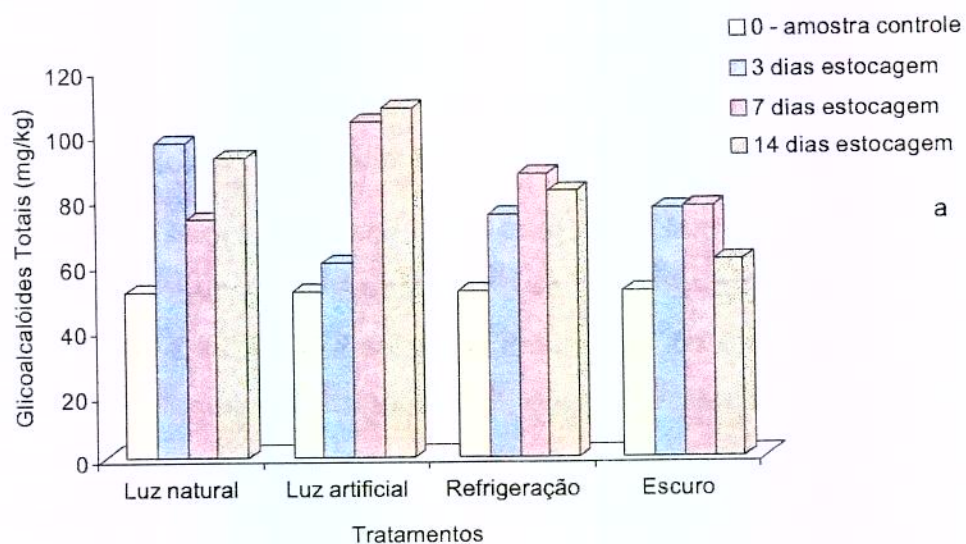


Figura 2. Concentração de GAT (mg/kg batata *in natura*) da variedade Monaliza submetida aos seguintes tratamentos: exposição à iluminação natural, exposição à luz fluorescente, estocagem no escuro sob refrigeração e estocagem no escuro. O período de exposição foi de 14 dias: a) tamanho A; b) Tamanho B.

Conforme já comentado, os tubérculos de ambos tamanhos expostos à luz natural apresentaram flutuações nos teores de glicoalcalóides durante o período de tratamento. Para os tubérculos de menor tamanho (A), onde se verificou maior formação de glicoalcalóides, a concentração dos mesmos aumentou de 51,4 para 96,9 mg/kg batata nos três primeiros dias, diminuindo em seguida para 73,3 e por último aumentou para 92,5 mg/kg batata. Percival et al. (1996) ao estudar três cultivares de batata (Kerrs Pink, Pentland Hawk e Desirée), verificaram que, independente do cultivar, a concentração de glicoalcalóides era maior em batatas após exposição à luz natural por 21 dias, quando comparadas com concentrações iniciais, sendo que em cada cultivar as concentrações também flutuaram durante o período de exposição, não tendo sido observada a formação contínua de glicoalcalóides.

Os resultados da tabela 5 indicam que o percentual de aumento do teor de glicoalcalóides totais (GAT) nos tubérculos de menor tamanho (A) ao final dos tratamentos com luz artificial e natural foi aproximadamente 6 e 4 vezes superior ao de tubérculos estocados no escuro, respectivamente. Também Salunkhe et al. (1972) verificaram que a exposição de batatas à luz, seja ela natural ou artificial, pode ocasionar aumento da síntese de glicoalcalóides para níveis 3 ou 4 vezes superiores aos encontrados quando as batatas são mantidas no escuro.

As batatas estocadas sob refrigeração (7-8°C), embora também mantidas na ausência de luz, sintetizaram glicoalcalóides (máximo de 81,8 mg GAT/kg batata) em níveis acima daqueles encontrados para tubérculos estocados no escuro à temperatura ambiente (60,8 mg GAT/kg batata). Griffiths et al. (1998) observaram que o acúmulo de glicoalcalóides pode ocorrer quando tubérculos de batata são expostos a baixas temperaturas (10 e 4°C), e que a magnitude deste efeito na biossíntese de glicoalcalóides depende da variedade.

Os dados obtidos mostram que a exposição contínua à luz fluorescente diminuiu a razão de α -chaconina: α -solanina de 75:25 para 61:39 para o tamanho de tubérculo A e para 66:36 para o tamanho B, indicando um aumento da síntese de α -solanina em detrimento da síntese de α -chaconina.

Alfa-solanina e α -chaconina possuem ação sinérgica diferenciada na ruptura de membranas, dependendo do tipo e concentração na mistura (Roddick et al., 1988; Rayburn et al., 1995). Phillips et al. (1996) observaram que a mistura destes glicoalcalóides era mais citotóxica do que os compostos individualmente, e que estes glicoalcalóides, particularmente α -chaconina, são citotoxinas potentes com rápida ação na indução de ruptura celular. Como o potencial tóxico de α -chaconina é maior do que o da α -solanina, a α -chaconina pode ser mais proeminente em caso de intoxicação por batatas. Assim, as proporções relativas de glicoalcalóides podem influenciar a toxicidade mais do que as concentrações absolutas dos glicoalcalóides totais, com conseqüente implicação para a recomendação de 200 mg GAT/kg batata como concentração segura. Já na ação inibitória da enzima acetilcolinesterase, estes glicoalcalóides foram igualmente efetivos e os tratamentos combinados não promoveram evidência de sinérgismo (Roddick, 1989).

4. CONCLUSÕES

Em vista dos resultados obtidos neste estudo e, considerando-se as flutuações observadas, pode-se concluir o seguinte:

1 - Não é possível recomendar a estocagem sob refrigeração e/ou no escuro como medidas práticas eficazes para inibir a formação de glicoalcalóides em batatas.

2 - Independente das condições de estocagem, tubérculos de batata de menor tamanho (A) tendem a acumular mais glicoalcalóides que os de maior tamanho (B).

3 - A exposição à luz fluorescente favorece a formação de α -solanina e α -chaconina, independente do tamanho do tubérculo, dobrando praticamente sua concentração inicial ao final de 14 dias.

4 - A estocagem de batatas da variedade Monaliza sob luz fluorescente, no escuro, na geladeira ou sob luz natural por até 14 dias não resulta em concentrações de α -solanina e α -chaconina que possam torná-las impróprias para o consumo, tomando-se como referência o limite de 200 mg GAT/kg batata recomendado por Slanina (1990).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUSHWAY, R. J.; PONNAMPALAM, R. α -Chaconine and α -solanine content of potato products and their stability during several modes of cooking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.29, n.4, p.814-817, 1981.

DALE, M. B. F.; GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; TODD, D. Glycoalkaloid increase in *Solanum tuberosum* on exposure to light. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.123, n.2, p.411-418, Oct., 1993.

FRIEDMAN, M.; DAO, L. Distribution of glycoalkaloids in potato plants and commercial potato products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, n.3, p.419-423, Mar., 1992.

GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; DALE, M. F. B. Effect of storage temperature on potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber glycoalkaloid content and the subsequent accumulation of glycoalkaloids and chrotophyll in response to light exposure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, vol.46, n.12, p.5262-5268, Dec., 1998.

GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; DEIGHTON, N.; ROBERTSON, G. W.; DALE, M. F. B. Photo-induced synthesis of tomatidenol-based glycoalkaloids in *Solanum phureja* tubers. **Phytochemistry**, Oxford, vol.53, n.7, p.739-745, Apr., 2000.

GRIFFITHS, D. W.; BAIN, H.; DALE, M. F. B. The effect of low-temperature storage on the glycoalkaloid content of potato (*Solanum tuberosum*) tubers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.74, n.3, p.301-307, July, 1997.

HADDADIN, M. S. Y.; HUMEID, M. A.; QAROOT, F. A.; ROBINSON, R. K. Effect of exposure to light on the solanine content of two varieties of potato (*Solanum tuberosum*) popular in Jordan. **Food Chemistry**, vol.73, n.2, p.205-208, May, 2001.

JADHAV, S. J.; SALUNKHE, D. K. Formation and control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of *Solanum tuberosum* L. and evaluation of glycoalkaloid toxicity. **Advances in Food Research**, San Diego, v.21, p.307-354, 1975.

JADHAV, S. J.; SHARMA, R. P.; SALUNKHE, D. K. Naturally occurring toxic alkaloids in foods. **CRC Critical Reviews in Toxicology**, v.9, n.1, p.21-104, 1981.

MAGA, J. A. Potato glycoalkaloids. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.12, n.4, p.371-405, July, 1980.

MAINE, M. J.; BAIN, H. & JOYCE, J. A. L. Changes in the total tuber glycoalkaloid content of potato cultivars on exposure to light. **Journal of the Agricultural Science**, Cambridge, v.111, n.1, p.57-58, Aug., 1988.

MORRIS, S. C.; LEE, T. H. The toxicity and teratogenicity of Solanaceae glycoalkaloids, particularly those of the potato (*Solanum tuberosum*): a review. **Food Technology in Australia**, North Sydney, v.36, n.3, p.118-124, Mar., 1984.

PAPATHANASIOU, F.; MITCHELL, S. H.; HARVEY, B. M. R. Variation in glycoalkaloid concentration of potato tubers harvested from mature plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, vol.79, n.1, p.32-36, Jan., 1999.

PATIL, B. C.; SALUNKHE, D. K.; SINGH, B. Metabolism of solanine and chlorophyll in potato tubers as affected by light and specific chemicals. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.3, p.474-476, 1971.

PERCIVAL, G. C. The influence upon glycoalkaloid and chlorophyll accumulation in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Science**, Clare, v.145, n.2, p.99-107, July, 1999.

PERCIVAL, G. C.; HARRISON, J. A. C.; DIXON, G. R. The influence of temperature on light enhanced glycoalkaloid synthesis in potato. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.123, n.1, p.141-153, Aug., 1993.

PERCIVAL, G.; DIXON, G. R. Glycoalkaloid concentrations in aerial tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, vol.70, n.4, p.439-448, Apr., 1996.

PERCIVAL, G.; DIXON, G. R.; SWORD, A. Glycoalkaloid concentration of potato tubers following exposure to daylight. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.71, n.1, p.59-63, May, 1996.

PERCIVAL, G.; DIXON, G.; SWORD, A. Glycoalkaloid concentration of potato tubers following continuous illumination. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W Sussex, v.66, n.2, p.139-144, Oct., 1994.

PHILLIPS, B. J.; HUGHES, J. A.; PHILLIPS, J. C.; WALTERS, D. G.; ANDERSON, D.; TAHOURDIN, C. S. M. A study of the toxic hazard that might be associated with the consumption of green potato tops. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.34, n.5, p.439-448, May, 1996.

RAYBURN, J. R.; FRIEDMAN, M. & BANTLE, J. A. Synergistic interaction of glycoalkaloids α -chaconine and α -solanine on developmental toxicity in xenopus embryos. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, vol.33, n.12, p.1013-1019, Dec., 1995.

RODDICK, J. G. The acetylcholinesterase-inhibitory activity of steroidal glycoalkaloids and their aglycones. **Phytochemistry**, Oxford, v.28, n.10, p.2631-2634, 1989.

RODDICK, J. G.; RIJNENBERG, A. L.; OSMAN, S. F. Synergistic interaction between potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in relation to destabilization of cell membranes: Ecological implications. **Journal of Chemical Ecology**, New York, vol.14, n.3, p.889-902, Mar., 1988.

SALUNKHE, D. K.; WU, M. T.; JADHAV, S. J. Effects of light and temperature on the formation of solanine in potato slices. **Journal of Food Science**, Chicago, v.37, n.6, p.969-970, 1972.

SINDEN, S. L. Potato glycoalkaloids. **Acta Horticulturae**, 207, p.41-47, 1987.

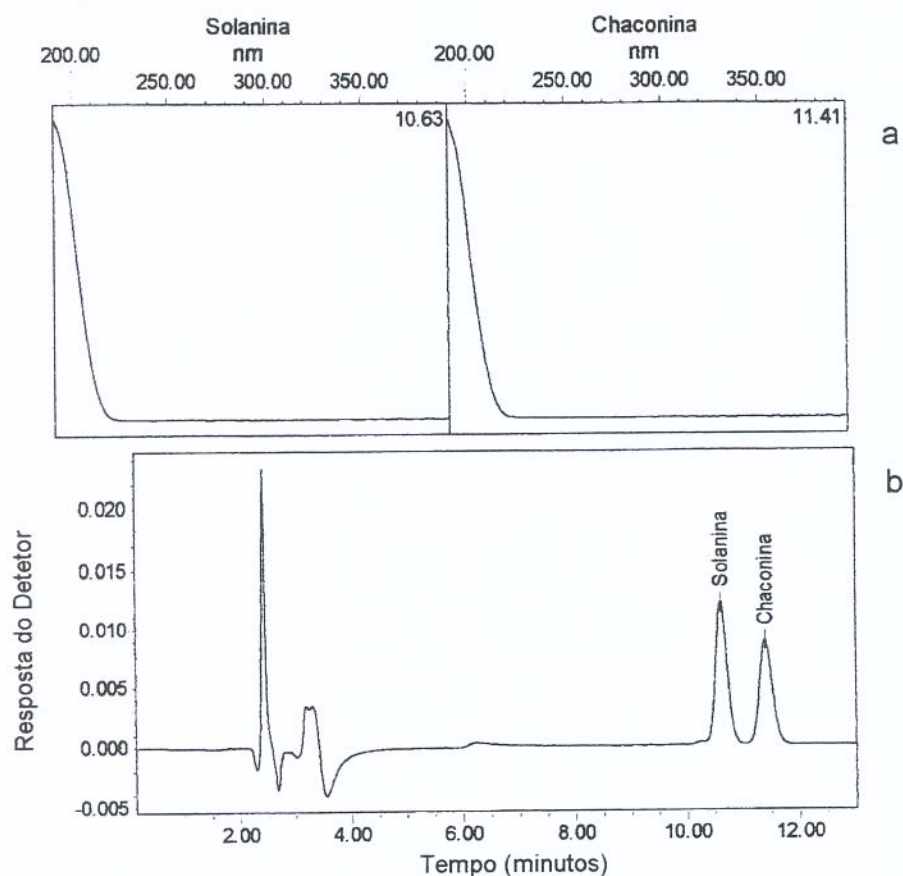
SLANINA, P. Solanine (glycoalkaloids) in potatoes: toxicological evaluation. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.28, n.11, p. 759-761, Nov., 1990.

SMITH, D. B.; RODDICK, J. G.; JONES, J. L. Potato glycoalkaloids: some unanswered questions. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, vol.7, n.4, p.126-131, Apr., 1996.

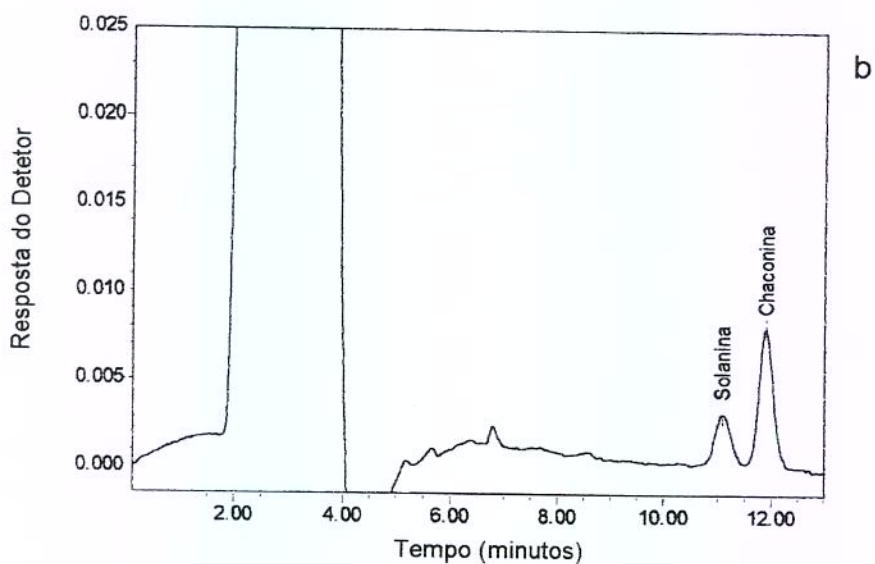
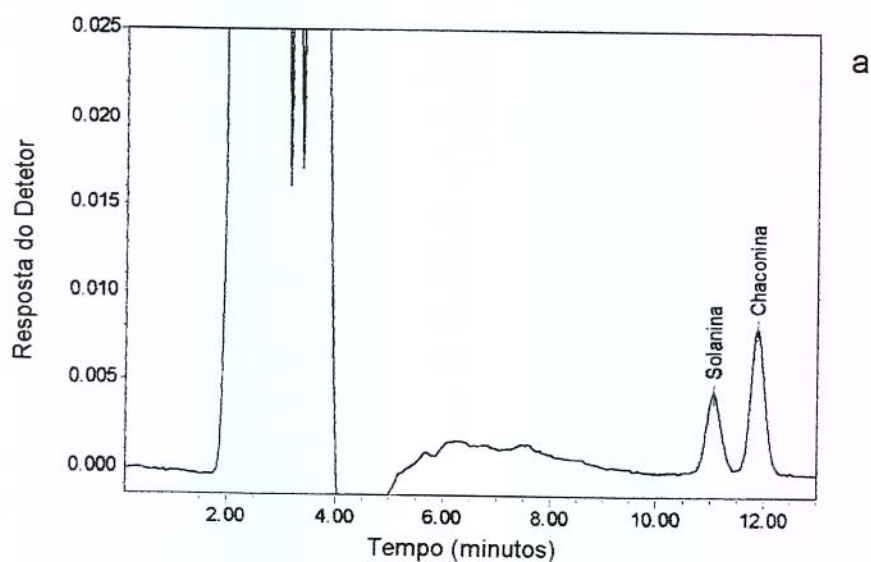
SPOLODORE, D. S.; TEIXEIRA, J. P. F.; ZULLO, M. A. T.; TEIXEIRA, P. R. M.; COELHO, S. M. B. M. & MIRANDA F^O., H. S. Ocorrência de glicoalcalóides e esverdeamento em tubérculos de batata recém-colhidos e armazenados. **Bragantia**, Campinas, v.42, p.221-231, 1983.

SPOLODORE, D. S.; ZULLO, M. A. T.; TEIXEIRA, J. P. F.; COELHO, S. M. B. M.; MIRANDA F^O., H. S. Síntese de clorofilas e glicoalcalóides em tubérculos maduros de batata armazenados à luz natural. **Bragantia**, Campinas, v.4, n.1, p.197-208, 1985.

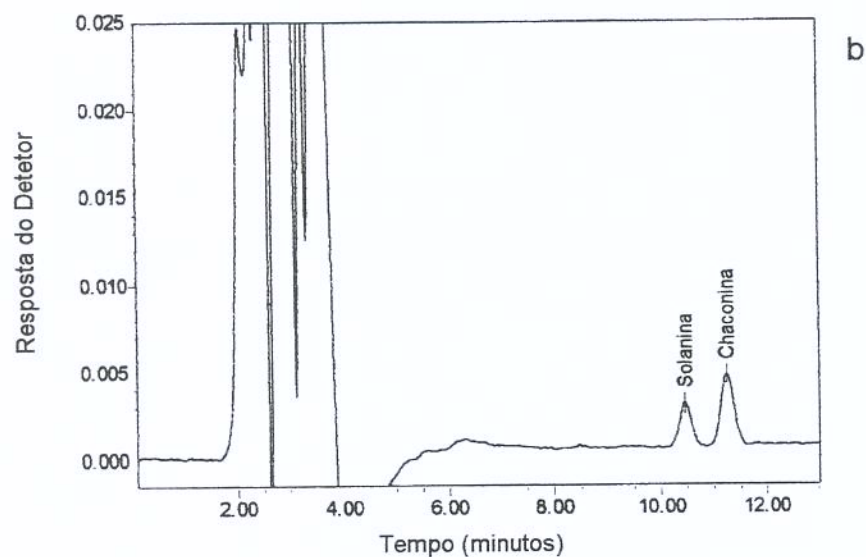
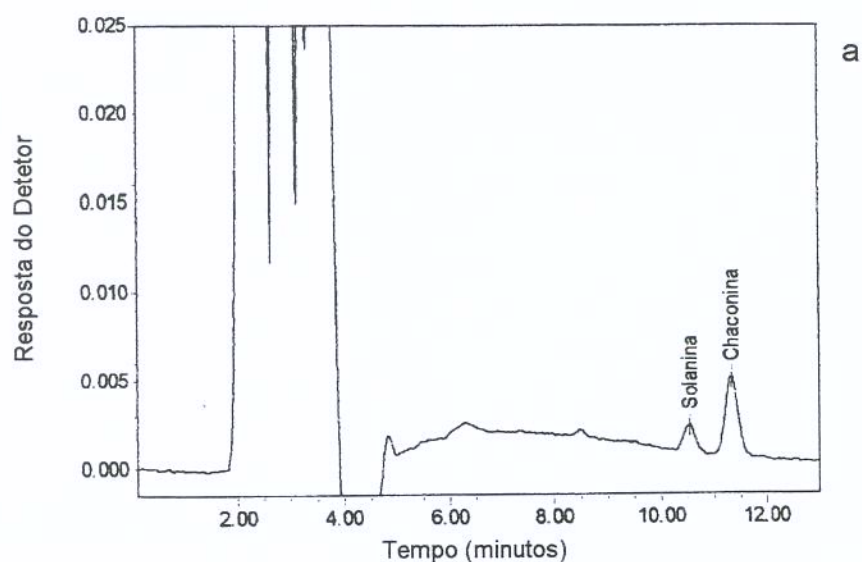
ANEXO 1: a) Espectros dos padrões α -solanina e α -chaconina (faixa de aquisição: 190 a 400 nm); b) Cromatograma dos padrões de α -solanina e α -chaconina (leitura a 200 nm), dissolvidos em tampão fosfato monobásico 0,05 M. Condições de análise: Coluna Hypersil ODS 5 μ m (250 x 4,6) mm; fase móvel: acetonitrila:água:etanolamina (35:65:0,05; v/v/v), pH 4,5-4,6 ajustado com ácido ortofosfórico 10%; vazão de 1 mL/min..



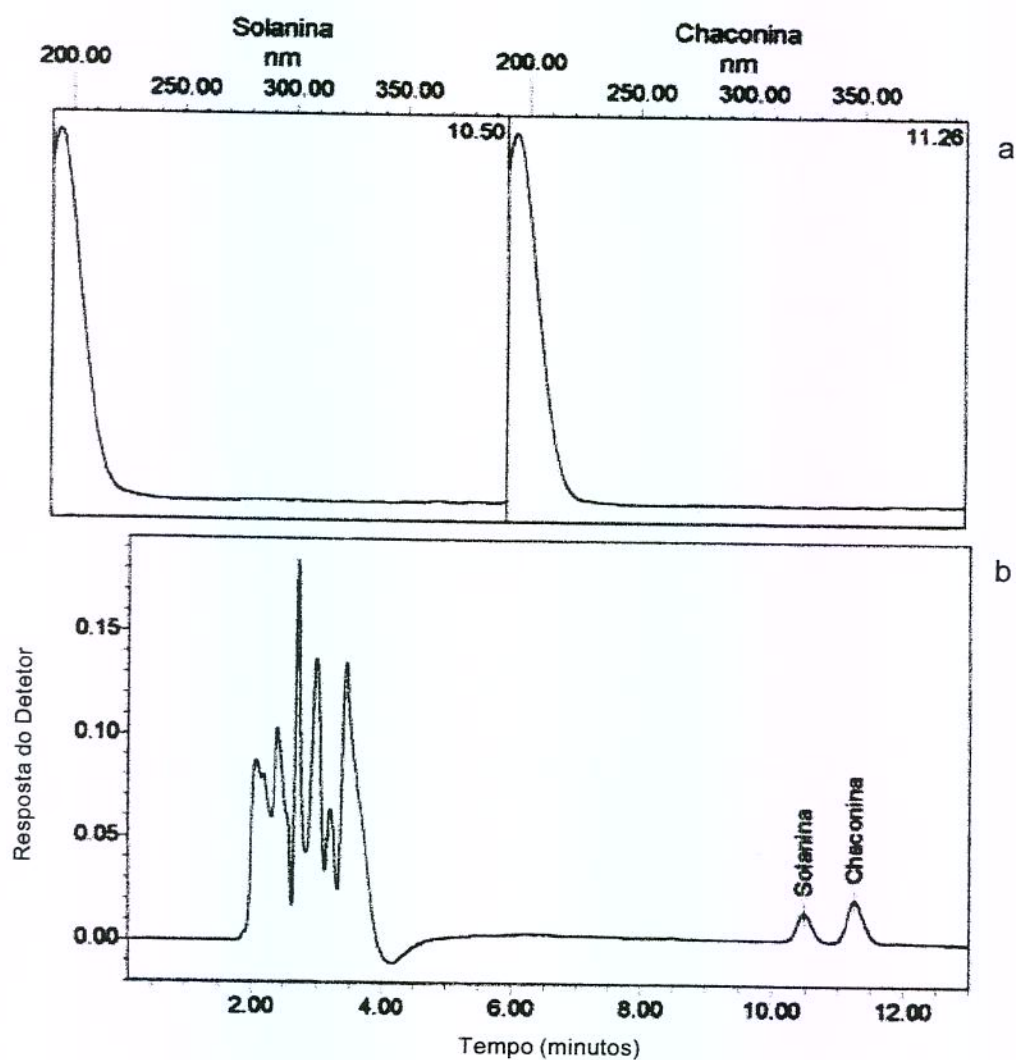
ANEXO 2: Cromatogramas dos extratos das amostras de tubérculos inteiros de batata *in natura* das variedades. a) Monaliza escovada; b) Asterix. Condições de análise: Coluna Hypersil ODS 5 μm (250 x 4,6) mm; fase móvel: acetonitrila:água:etanolamina (35:65:0,05; v/v/v), pH 4,5-4,6 ajustado com ácido ortofosfórico 10%; vazão de 1 mL/min.; leitura a 200 nm.



ANEXO 3: Cromatogramas dos extratos das amostras de tubérculos inteiros de batata *in natura* das variedades: a) Bintje; b) Kennebeck. Condições de análise: Coluna Hypersil ODS 5 μ m (250 x 4,6) mm; fase móvel: acetonitrila:água:etanolamina (35:65:0,05; v/v/v), pH 4,5-4,6 ajustado com ácido ortofosfórico 10%; vazão de 1 mL/min.; leitura a 200 nm.



ANEXO 4: Amostra de tubérculos inteiros de batata *in natura* do tipo Bolinha: a) Espectros (faixa de aquisição: 190 a 400 nm); b) Cromatogramas (leitura a 200 nm). Condições de análise: Coluna Hypersil ODS 5 μ m (250 x 4,6) mm; fase móvel: acetonitrila:água:etanolamina (35:65:0,05; v/v/v), pH 4,5-4,6 ajustado com ácido ortofosfórico 10%; vazão de 1 mL/min..



ANEXO 5: Tubérculos de batata da variedade Monaliza submetidos aos seguintes tratamentos: estocagem no escuro à temperatura ambiente e exposição à iluminação artificial (fluorescente). O período de exposição foi de 16 dias.



Tratamento: Estocagem no escuro



Tratamento: Exposição à luz fluorescente