

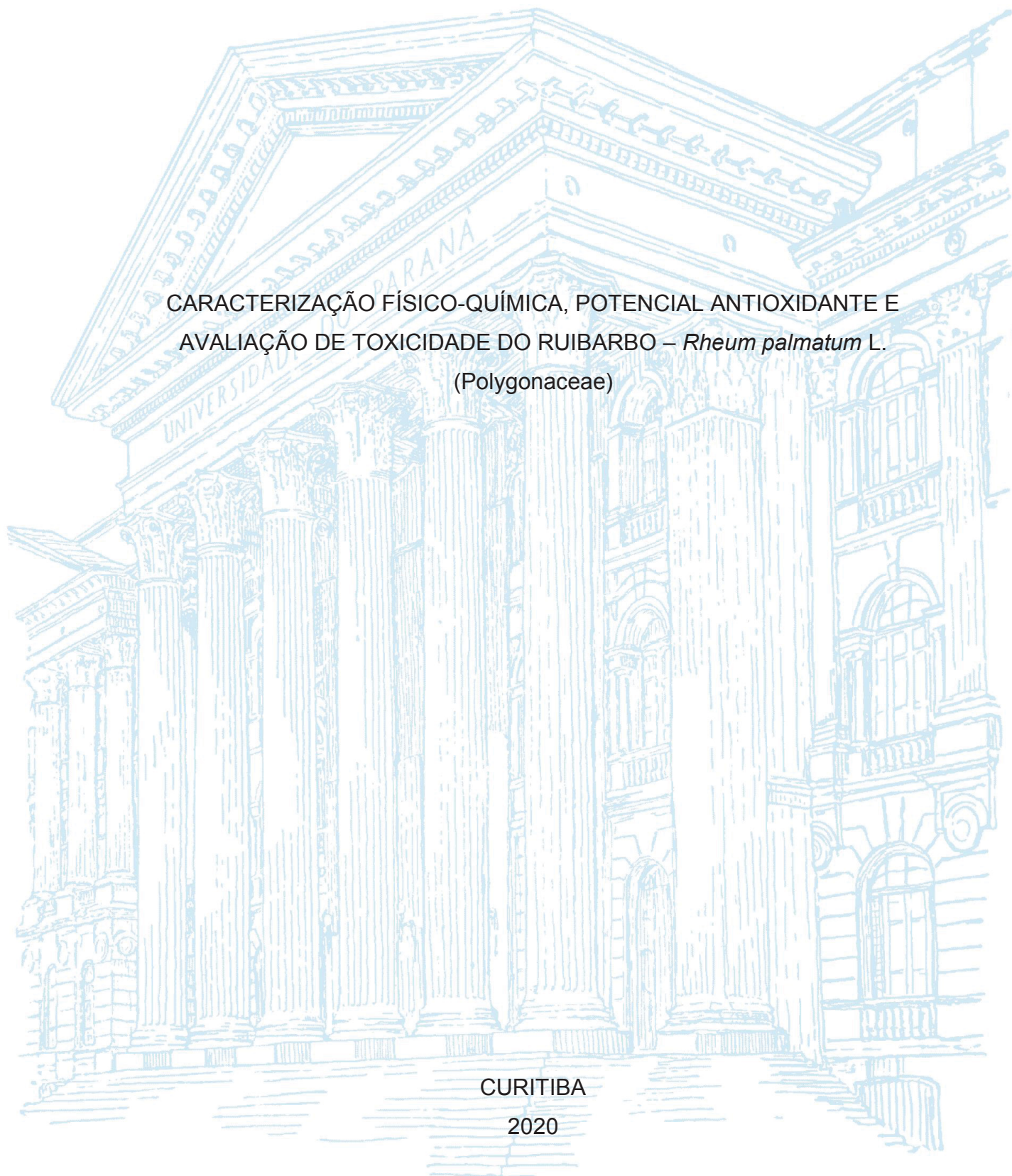
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANDRESSA KUDIESS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E
AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE DO RUIBARBO – *Rheum palmatum* L.
(Polygonaceae)

CURITIBA

2020



ANDRESSA KUDIESS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E
AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE DO RUIBARBO – *Rheum palmatum* L.
(Polygonaceae)

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre em Alimentação e Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia C. H. Kruger
Coorientadora: Profa. Dra. Sheila Maria B.
Winnischofer

CURITIBA

2020

Kudiess, Andressa

Caracterização físico-química, potencial antioxidante e avaliação de toxicidade do ruibarbo [recurso eletrônico]- *Rheum palmatum* L. (Polygonaceae) / Andressa Kudiess – Curitiba, 2020.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2020.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Carneiro Hecke Kruger

Coorientadora: Profa. Dra. Sheila Maria Brochado Winnischofer

1. *Rheum palmatum*. 2. Ruibarbo. 3. Ação antioxidante. 4. Nutrição. I. Kruger, Claudia Carneiro Hecke. II. Winnischofer, Sheila Maria Brochado. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 612.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ALIMENTAÇÃO E
NUTRIÇÃO - 40001016074P7

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ANDRESSA KUDIESS** intitulada: **CARACTERIZACAO FISICO-QUIMICA, POTENCIAL ANTIOXIDANTE E AVALIACAO DE TOXICIDADE DO RUIBARBO - *Rheum palmatum* L. (Polygonaceae)**, sob orientação da Profa. Dra. CLAUDIA CARNEIRO HECKE KRUGER, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 22 de Outubro de 2020.

Assinatura Eletrônica

23/10/2020 15:22:31.0

CLAUDIA CARNEIRO HECKE KRUGER

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

28/10/2020 13:29:03.0

MARILIS DALLARMI MIGUEL

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

23/10/2020 17:12:00.0

SILA MARY RODRIGUES FERREIRA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Av. Pref. Lothário Meissner, 632 - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80210-170 - Tel: (41) 3360-4010 - E-mail: pgnutricao@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 57100

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 57100

Dedico este trabalho à Deus, que com Sua soberania e providência, conduziu meus passos e sempre esteve ao meu lado. Aos meus pais, que investiram em meu conhecimento e crescimento. E ao meu noivo, que me incentiva e apoia diariamente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por me permitir viver essa experiência desafiadora, mas também enriquecedora. Reconheço a soberania dEle em todos os detalhes da minha vida e a forma com que Ele conduziu tudo para que eu chegasse até aqui.

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição pela oportunidade, e também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Aos meus pais, Danilo e Jaqueline, e meus irmãos, Giovanna e Fernando. Cada um com seu jeitinho teve sua contribuição durante essa etapa da minha vida. Foram muitas ligações por vídeo, viagens nos feriados, mensagens de incentivo e tempo de qualidade compartilhado. Obrigada por sonharem comigo!

Ao meu noivo, Mateo, que sempre me incentivou a continuar aprendendo e buscando minha realização profissional. Obrigada pelo suporte e por tantos momentos juntos compartilhados até aqui. Tudo fica mais leve e alegre ao seu lado.

À minha orientadora, Claudia Kruger, que com toda sua ternura e sabedoria, compartilhou do seu tempo e conhecimento para agregar em todas as etapas desse processo. Aprendi muito com a senhora, e te admiro como pessoa e profissional.

À minha coorientadora, Sheila Winnischofer, que me deu a oportunidade de continuar minhas análises no laboratório juntamente com sua equipe, mas que devido as situações atuais não tive a chance de finalizar.

Ao professor Obdulio Gomes Miguel, que não mediu esforços para me ensinar, e doou de seu tempo e paixão pela fitoquímica para que houvesse progresso em minha pesquisa. E também sua aluna, Katlin Rech, pelo auxílio na interpretação das análises de RMN.

Ao produtor de ruibarbo, Antônio Sérgio Diel, que contribuiu com a matéria-prima dessa pesquisa, sendo sempre muito prestativo e disposto. Obrigada por acreditar no poder da ciência!

Aos técnicos do departamento de Nutrição: Jair José de Lima e Lindamir Tomczak Tullio, que tiveram muita paciência comigo, me ensinando sobre a conduta de laboratório, metodologias, equipamentos e as vezes tendo que repetir por mais de uma vez... E também à Adriana Serenato de Souza, que com seu carisma soube sempre passar uma dose de tranquilidade junto com uma dose de café.

Em especial aos colegas que tive o prazer de conhecer e conviver ao longo desse tempo. Ao Alisson, por toda ajuda desde a coleta até a divisão de tarefas nos experimentos, e também pelo companheirismo e aprendizado compartilhado nesse tempo. À Eloyse, por sua alegria contagiante, pelas conversas profundas e principalmente pela vivência dos seus princípios e valores – você acrescentou bagagem na minha caminhada cristã. À Paula, que com sua delicadeza e calma, conseguia deixar o dia mais leve; e também por compartilhar do seu conhecimento e paixão pela Nutrição, sempre com respostas técnicas bem fundamentadas. À Lilian, por sua compaixão, empatia e sensibilidade pelo próximo; obrigada por reservar meu lugar ao seu lado no domingo, isso era muito especial pra mim. À Suellen, que com sua humildade e grande coração soube ensinar e também estimular meu aprendizado; você é um exemplo de pesquisadora pra mim! À Alline, por me inspirar com sua determinação e força de vontade.

À todos os outros que não citei, mas que de alguma forma também participaram dessa conquista, muito obrigada!

“Tudo tem o seu tempo determinado,
e há tempo para todo propósito debaixo do céu.”
(Eclesiastes 3.1)

RESUMO

As plantas que são consumidas pela população e não são comercializadas em larga escala ou que são comestíveis, mas não são consumidas, são conhecidas como Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs). No Brasil, o ruibarbo (*Rheum palmatum* L.), pertencente a família Polygonaceae, encaixa-se nessa classificação pois o caule pode ser utilizado na culinária para inúmeras preparações. Assim, objetivo do presente trabalho foi caracterizar a composição físico-química, avaliar a toxicidade e determinar o potencial de atividade antioxidante do ruibarbo (*R. palmatum* L.) cultivado na Região Sul do Brasil. A planta foi colhida em Mandirituba/PR, no mês de janeiro de 2019, separada em caule e folha, e conduzida a determinação física (peso, comprimento e largura). Em seguida, foi dividida em caule e folha para analisar teor de umidade, cinzas, pH, sólidos solúveis, açúcares, proteínas, lipídios, fibra alimentar, vitaminas, minerais e metais pesados. O caule em base seca foi submetido ao aparelho de Soxhlet analítico modificado para obtenção do extrato bruto etanólico do caule (EBEC). Este foi submetido à cromatografia em coluna para isolar as antraquinonas e as substâncias isoladas foram analisadas por Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Para determinação do potencial antioxidante, compostos fenólicos e flavonoides, foi utilizado o EBEC, e também o caule e a folha em base seca. Para análise de toxicidade foram realizados os testes de hemólise e *Artemia salina*. Também foi realizada a atividade antimicrobiana, com o EBEC e a emodina, através de microdiluição em microplacas. Os resultados indicaram que o ruibarbo apresenta alto teor de umidade no caule (88,8%) e na folha (87,3%), alto teor de cinzas no caule (1,1%) e na folha (1,08%) e baixo pH no caule (2,87) e na folha (3,48). Quanto as vitaminas, foram detectadas vitamina C, B1 e B3 no caule e B3 na folha. O caule também apresentou elevado teor de manganês, cobre, cálcio e potássio. As substâncias isoladas foram identificadas como emodina e fisiona. Em relação ao teor total de fenólicos, este foi igual à 786,04 mg AG/100g, além de teor total de flavonoides de 404,89 mg EC/100g. O ruibarbo apresentou alto teor de atividade antioxidante levando em consideração as análises de DPPH (5,03 mmol ET/100g), FRAP (4,86 mmol ET/100g) e ABTS (4,37 mmol ET/100g). Quanto à atividade hemolítica, esta não exibiu relação dose-dependência. Já análise de toxicidade preliminar frente à *A. salina*, o ruibarbo *in natura* e o EBEC são considerados moderadamente tóxicos e quando submetidos à cocção por 10 e 20 minutos, são classificados como levemente tóxicos. No entanto, a geleia produzida a partir do caule não apresentou toxicidade. O EBEC e a emodina apresentaram boa atividade antimicrobiana frente à *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. Portanto, os benefícios nutricionais encontrados e o consumo seguro desta PANC, podem auxiliar a disseminar seu consumo dentre a população brasileira, agregando também valor comercial.

Palavras-chave: *Rheum palmatum* L.. Ruibarbo. Atividade antioxidante. Composição nutricional.

ABSTRACT

Plants that are consumed by the population and are not commercialized on a large scale, or that are edible but not consumed, are known as Wild Edible Plants (WEPs). In Brazil, rhubarb (*Rheum palmatum* L.), belonging to the family Polygonaceae, fits this classification because the stem can be used in cooking for numerous preparations. Thus, the objective of the present work was to characterize the physicochemical composition, to evaluate the toxicity and to determine the potential of antioxidant activity of rhubarb (*R. palmatum* L.) cultivated in Southern Brazil. The plant was harvested in Mandirituba/PR, on January 2019, separated into stem and leaf, and it was carried out the physical determinations (weight, length and width). Then, it was divided into stem and leaf for analysis of moisture, ashes, pH, soluble solids, sugars, proteins, lipids, dietary fiber, vitamins, minerals and heavy metals. The dry stem was submitted to a modified analytical Soxhlet apparatus to obtain the crude ethanolic extract of the stem. This was subjected to column chromatography to isolate anthraquinones and the isolated substances were analyzed by Nuclear Magnetic Resonance (NMR). To determine the antioxidant potential, phenolic and flavonoids compounds, it was used the crude stem extract, and also the stem and leaf on a dry basis. For toxicity analysis, hemolysis and *Artemia salina* tests were performed. Antimicrobial activity was also performed, with crude stem extract and emodin, through microdilution in microplates. The results indicated that rhubarb has high moisture content in stem (88,8%) and leaf (87,3%), the high ash content in stem (1,1%) and leaf (1,08%) and low pH in stem (2,87) and leaf (3,48). As for vitamins, vitamin C, B1 and B3 were detected in the stem and B3 in the leaf. The stem also had a high content of manganese, copper, calcium and potassium. The isolated substances were identified as emodin and physcion. Rhubarb had a total phenolic content equal to 786.04 mg AG/100g and a total flavonoid content of 404.89 mg EC/100g. Furthermore, it showed high antioxidant activity considering DPPH (5.03 mmol ET/100g), FRAP (4.86 mmol ET/100g) and ABTS (4.37 mmol ET/100g) analyzes. In addition, hemolytic activity did not show a dose-dependent relationship. Considering the preliminary toxicity analysis withstanding *A. salina*, fresh rhubarb and crude stem extract are considered moderately toxic, and when subjected to cook for 10 and 20 minutes, they are classified as slightly toxic. However, the jelly produced from the stem is not toxic. The crude stem extract and emodin showed good antimicrobial activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. Therefore, the nutritional benefits findings and the safe consumption of this WEP, can help to spread its consumption among the Brazilian population, and also adding commercial value.

Keywords: *Rheum palmatum* L.. Rhubarb. Antioxidant activity. Nutritional composition.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – PARTES AÉREAS DO RUIBARBO (<i>RHEUM PALMATUM</i> L.).....	23
FIGURA 2 - REGIÃO DE COLETA DO RUIBARBO	28
FIGURA 3 - RUIBARBO PRODUZIDO EM MANDIRITUBA/PR.....	29
FIGURA 4 - SEPARAÇÃO DA PLANTA EM FOLHA E CAULE	30
FIGURA 5 - DELINEAMENTO DO ESTUDO	31
FIGURA 6 - SOXHLET ANALÍTICO MODIFICADO	36
FIGURA 7 - CROMATOGRAFIA EM COLUNA UTILIZANDO A FRAÇÃO HEXANO .	37
FIGURA 8 - FASE MÓVEL DA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA	38
FIGURA 9 - MEDIDAS DE DIMENSIONAMENTO.....	44
FIGURA 10 - PERCENTUAL CORRESPONDENTE A QUANTIDADE SUPRIDA DOS MINERAIS EM MULHERES E HOMENS AO INGERIR 1 PORÇÃO (122g) DE CAULE DE RUIBARBO	52
FIGURA 11 - CCD COM SUBFRAÇÕES DA FRAÇÃO HEXANO.....	56
FIGURA 12 - ESPECTRO DE ¹ H DA FISCIONA (1H: 600,13 MHz; CDCl ₃).....	58
FIGURA 13 - ESPECTRO DE ¹ H DA EMODINA (1H: 600,13 MHz; CDCl ₃)	59
FIGURA 14 - ESTRUTURA QUÍMICA DA EMODINA E DA FISCIONA.....	59
FIGURA 15 - ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO ETANÓLICO DO CAULE DO RUIBARBO COMPARADO COM OS CONTROLES	66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TAXONOMIA DO RUIBARBO (<i>R. PALMATUM</i> L.).....	24
TABELA 2 - DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA DE RUIBARBO (<i>RHEUM PALMATUM</i> L.) COMPOSTA POR CAULE E FOLHA.....	45
TABELA 3 - CARACTERIZAÇÃO CENTESIMAL DO CAULE E DA FOLHA DO RUIBARBO.....	46
TABELA 4 - DETERMINAÇÃO DE FIBRAS TOTAIS NO CAULE E NA FOLHA DO RUIBARBO.....	47
TABELA 5 - VALOR ENERGÉTICO TOTAL (VET) DO CAULE E DA FOLHA DO RUIBARBO FRESCO.....	48
TABELA 6 - QUANTIFICAÇÃO DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS NO CAULE E NA FOLHA.....	49
TABELA 7 - QUANTIFICAÇÃO DE MINERAIS NO CAULE E NA FOLHA E O COMPARATIVO COM A IDR.....	51
TABELA 8 - QUANTIFICAÇÃO DE METAIS PESADOS NO CAULE E NA FOLHA ...	54
TABELA 9 - DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DA FISCIONA ISOLADA EM CDCl_3 .	57
TABELA 10 - DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DA EMODINA ISOLADA EM CDCl_3	58
TABELA 11 - COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO CAULE (EXTRATO E BASE SECA) E NA FOLHA (BASE SECA) DO RUIBARBO.....	61
TABELA 12 - ENSAIO DE MORTALIDADE DE ARTEMIA SALINA E CL_{50} UTILIZANDO O CAULE EM BASE SECA DO RUIBARBO.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

%	- Percentual
β	- Beta
Ca	- Cálcio
CBA	- Compostos Bioativos de Alimentos
CCD	- Cromatografia de coluna delgada
CL50	- Concentração letal 50%
CLAE	- Cromatografia líquida de alta eficiência
cm	- Centímetros
CMI	- Concentração mínima inibitória
COVID-19	- Coronavírus
Cu	- Cobre
DAD	- Detector de arranjo diodo
DPPH	- Redução do Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EBEC	- Extrato bruto etanólico do caule
FRAP	- Poder Antioxidante de Redução do Ferro
g	- Gramas
IA	- Ingestão Adequada
IDR	- Ingestão Diária Recomendada
IOM	- Instituto de Medicina dos Estados Unidos
K	- Potássio
kcal	- Quilocalorias
kg	- Quilogramas
L	- Litros
m	- Metros
mg	- Miligramas
mL	- Mililitros
mm	- Milímetros
Mn	- Manganês
MTT	- 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina
NF- κ B	- fator nuclear kappa B
nm	- Nanômetros
°Brix	- Graus Brix

°C	- Graus Celsius
PANC	- Planta Alimentícia Não Convencional
PBS	- Solução salina isotônica tamponada com fosfato isotônico
pH	- Potencial hidrogeniônico
ppb	- Partes por bilhão
ppm	- Partes por milhão
PR	- Paraná
RMN	- Ressonância Magnética Nuclear
rpm	- Rotações por minuto
TTC	- Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
TTF	- Teor total de flavonoides
TTFN	- Teor total de fenólicos
V	- Volts
VET	- Valor Energético Total
WEP	- <i>Wild Edible Plants</i>
UFC	- Unidade formadora de colônia
UL	- Nível de admissão superior tolerável
µg	- Microgramas
µL	- Microlitros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 JUSTIFICATIVA	18
1.2 OBJETIVOS	19
1.2.1 Objetivo geral	19
1.2.2 Objetivos específicos.....	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANCS)	20
2.2 ESPÉCIE <i>RHEUM PALMATUM</i>	22
2.3 SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS PRESENTES NO RUIBARBO	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 TIPO DE ESTUDO	28
3.2 LOCAL DA COLETA	28
3.3 TÉCNICAS DE COLETA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICA	29
3.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	32
3.5 VALOR ENERGÉTICO.....	34
3.6 DETERMINAÇÃO DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS.....	34
3.7 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS E METAIS PESADOS	35
3.8 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	35
3.8.1 Extrato bruto.....	35
3.8.2 Elaboração das frações.....	36
3.8.3 Isolamento de substâncias	36
3.9 CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)	37
3.10 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).....	38
3.11 COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	39
3.11.1 Teor total de fenólicos (TTFN).....	39
3.11.2 Teor total de flavonoides (TTF)	40
3.11.3 Redução do Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	40
3.11.4 Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP – <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>).....	40
3.11.5 Captura do radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS)	41
3.12 ANÁLISES BIOLÓGICAS	41

3.12.1 Ensaio de toxicidade preliminar frente à <i>Artemia salina</i>	41
3.12.2 Atividade hemolítica	42
3.12.3 Atividade antimicrobiana	43
3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DA AMOSTRA	44
4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	45
4.3 VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS	49
4.4 MINERAIS E METAIS PESADOS	50
4.5 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS.....	55
4.5.1 Cromatografia de camada delgada	55
4.5.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	57
4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .	61
4.7 ANÁLISES BIOLÓGICAS	64
4.7.1 Ensaio de toxicidade preliminar frente à <i>Artemia salina</i>	64
4.7.2 Atividade hemolítica	66
4.7.3 Atividade antimicrobiana	67
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
REFERÊNCIAS.....	70
ANEXO 1 – IDENTIFICAÇÃO DO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL.....	80
ANEXO 2 – AUTORIZAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO	81

1 INTRODUÇÃO

O comércio internacional de alimentos dispõe de uma coleção de padrões alimentares: o *Codex Alimentarius*. Tais padrões têm como objetivo garantir saúde aos consumidores e também assegurar práticas justas nas relações comerciais. Para tanto, publicações são feitas para promover e orientar a elaboração de requisitos e definições para os alimentos, inclusive para plantas e frutos da biodiversidade (FAO, 2018). Conforme Dawson et al. (2019) a biodiversidade é importante para o fornecimento de alimentos nutricionalmente e ambientalmente sustentáveis. Tendo isso em vista, há uma busca por 're-diversificação' da produção de alimentos, que busca apoiar-se em plantas cultivadas novas e órfãs (sub-pesquisadas e subutilizadas).

Diante disso, entre as plantas da biodiversidade (subutilizadas), algumas são próprias para o consumo, possuindo uma ou mais partes que podem ser usadas na alimentação humana (KINUPP; BARROS, 2007). Em inglês estas plantas são denominadas *Wild Edible Plants* (WEPs) que significa “plantas selvagens comestíveis” e em português são conhecidas como Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs), sendo constituintes essenciais na dieta das pessoas ao redor do mundo (BACCHETTA et al., 2016). As PANCs são espécies de plantas nativas, que crescem sem serem cultivadas e desenvolvem-se em seu habitat natural assim como espécies introduzidas que foram naturalizadas (LUCZAJ et al., 2012).

Na União Europeia, por exemplo, estima-se que cerca de 65 milhões de habitantes coletam PANCs e pelo menos 100 milhões consomem-as (SCHULP; THUILLER; VERBURG, 2014; BACCHETTA et al., 2016). Dentre elas, o ruibarbo tem sido utilizado na alimentação há milhares de anos para tratar inúmeras questões de saúde na medicina tradicional chinesa (HANZLICEK et al., 2014; AICHNER; GANZERA, 2015).

Pertencente ao gênero *Rheum* e com aproximadamente 50 espécies, torna-se difícil distinguir botanicamente entre elas. Dentre as principais estão *R. palmatum* L., *R. undulatum* L. (*R. rhabarbarum* L.), *R. officinale* L., *R. rhaponticum* L., *R. ribesformicum* L. e *R. emodi* L. (KRAFCZYK et al., 2008).

O ruibarbo é uma planta nativa do noroeste da China e das montanhas do Tibete, pertencente a família *Polygonaceae*. É popularmente conhecido como ruibarbo, ruibarbo do cantão, rabarbo, ruibarbo-comum, ruibarbo-de-Shensi, ruibarbo-

da-china, etc (KASAI et al., 2007). O caule é utilizado em decocções, infusões e tinturas, bem como na forma de marmelada e vinho (SOUSA et al., 2003), além de tortas e *crumbles* (ARVINDEKAR et al., 2015). Já a folha não deve ser consumidas devido ao ácido oxálico em sua composição, o que torna-as tóxicas (KASAI et al., 2007).

O ruibarbo é rico em substâncias fenólicas, possuindo cerca de 3 a 12% de derivados antraquinônicos, dos quais 60 a 80% representam glicosídeos de frângula-emodina, aloe-emodina, reína, fisciona e crisofanol (ALMEIDA et al., 2007; DARROZ et al., 2015). Além disso, contêm de 2 a 3% de flavonoides e quantidades relativamente elevadas de ácido oxálico (DARROZ et al., 2015).

Ademais, demonstra atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e hepatoprotetoras, visto que estimula a excreção de bilirrubina e por isso tem sido utilizado para o tratamento de colestase (ZHANG et al., 2016). Tem sido prescrito também para o tratamento de doenças gastrointestinais, insuficiência renal crônica e constipação, devido ao seu poder laxativo (PENG et al., 2014). Outrossim, apresenta efeitos protetores contra distúrbios cerebrais induzidos por lesão cerebral grave (XU et al., 2017).

De acordo com nossos conhecimentos, a espécie *Rheum palmatum* L. cultivada na Região Sul do Brasil ainda não foi caracterizada, portanto o presente projeto pretende avaliar a composição físico-química, determinar o potencial de atividade antioxidante e avaliar a toxicidade do *R. palmatum* L..

1.1 JUSTIFICATIVA

Nas últimas duas décadas houve um maior interesse nas plantas alimentícias não convencionais, o que resultou em maior atenção pelos pesquisadores, tratando-se de registrar o conhecimento popular para conservar tradições e difundir conhecimento (RANFA; BODESMO, 2017).

Este interesse de encontrar informações que agreguem valor econômico à cultura, parte da elucidação dos potenciais da planta. Por este fim, a planta escolhida para estudo representa uma resposta científica à sociedade, agregando conhecimento à população e orientando sobre o consumo seguro de PANCs, especialmente do ruibarbo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Caracterizar a composição físico-química, avaliar a toxicidade e determinar o potencial de atividade antioxidante do ruibarbo (*R. palmatum* L.).

1.2.2 Objetivos específicos

- Analisar o perfil físico-químico do ruibarbo;
- Avaliar a capacidade antioxidante do ruibarbo;
- Avaliar a toxicidade do ruibarbo;
- Isolar e identificar compostos do ruibarbo;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do ruibarbo e da emodina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANCS)

O uso de plantas naturais, especialmente da flora, com finalidade medicinal, surgiu com a humanidade. Sinais da utilização de plantas medicinais e tóxicas foram achados nas civilizações antigas, sendo uma das práticas mais ancestrais empregadas pelo ser humano para prevenção, tratamento e até cura de doenças, servindo como uma fonte de compostos biologicamente ativos (FIRMO et al., 2011).

O Brasil é um dos países que apresenta maior diversidade vegetal no mundo, até o momento 49.317 espécies são reconhecidas para a flora brasileira, sendo estas nativas, cultivadas e/ou naturalizadas (FLORA DO BRASIL, 2020). No entanto, nos dias atuais, a maior parte da ingestão alimentar, por volta de 90% das calorias, limita-se a algumas espécies de plantas cultivadas, entre as principais estão batata, arroz, milho e trigo (RANFA; BODESMO, 2017).

O extenso território brasileiro viabiliza o desenvolvimento de espécies nativas que podem ser usadas na gastronomia, mas que apresentam ainda, potencial desconhecido (TEIXEIRA et al., 2019). Além disso, o maior contato com plantas silvestres permite o desenvolvimento de novas culturas e apresenta a potencialidade de variar a produção global de alimentos (SHELEF; WEISBERG; PROVENZA, 2017).

Dentre estas plantas silvestres, diversas são denominadas “inços” ou “daninhas”, isto porque crescem no meio das plantas cultivadas, no entanto, são espécies de elevada importância econômica e ecológica. Várias dessas espécies, por exemplo, são alimentícias, mesmo que hoje em dia em desuso por grande parte das pessoas (KINUPP; BARROS, 2007).

Ao longo dos anos, estas plantas começaram a ser denominadas como PANCS – Plantas Alimentícias Não Convencionais (KINUPP, 2007). A palavra “alimentícia” significa que são plantas utilizadas na alimentação, como cereais, verduras, hortaliças, castanhas, frutas e até mesmo corantes e condimentos naturais. Já o termo “não convencionais” remete à não produção ou comercialização em larga escala, cujo uso e cultivo pode cair no esquecimento (RANIERI, 2017).

As PANCS contribuem para a diversidade biológica e servem como reservatório de variedade genética de culturas. São plantas resistentes à pragas e doenças e também a variações climáticas, além de exercerem um papel importante no

melhoramento de culturas para maior resistência e adaptabilidade (BACCHETTA et al., 2016). De acordo com a FAO (2010), as espécies selvagens possuem papel fundamental na segurança alimentar e nutricional, tendo em vista que biodiversidade e nutrição dirigem-se para um caminho comum que leva tanto ao desenvolvimento sustentável quanto à segurança alimentar.

Grande parte das PANCs no Brasil não são cultivadas. A maioria são subespontâneas, ou seja, crescem de forma espontânea sem que sejam plantadas, em regiões antropizadas e em regiões naturais de florestas, campos e cerrados, e podem ser retiradas, quando disponíveis, para o seu consumo próprio. Quando comparadas às plantas convencionais, têm-se que as PANCs são menos dependentes do manejo dos seres humanos para se manterem vivas, pois têm uma variabilidade genética muito maior, o que as torna flexíveis às variações edafoclimáticas (LORENZI; KINUPP, 2014).

As PANCs são consumidas ao redor do mundo, não somente em economias direcionadas à subsistência, mas também em áreas rurais e urbanas de países desenvolvidos. Isto é justificado pela importância para a renda, segurança alimentar e nutrição (REYES-GARCÍA et al., 2015).

Apesar do uso das plantas ser antigo, o conhecimento tradicional ameríndio é pouco utilizado pelos brasileiros (TEIXEIRA et al., 2019). Isto pode ser justificado devido ao êxodo rural relacionado à urbanização, industrialização dos produtos alimentícios, modernização do estilo de vida (REYES-GARCÍA et al., 2015) e também devido à destruição da mineração e vegetação nativa, aumento de pastagens e monoculturas (TEIXEIRA et al., 2019).

Levando em consideração o grande desperdício dos alimentos convencionais cultivados, isto é, dos tubérculos, cereais, raízes tuberosas, rizomas, hortaliças e frutas mais populares, as pessoas inutilizam ou subutilizam as espécies nativas com capacidade para variação do cardápio, complementação alimentar e da renda familiar, e até com elevada capacidade econômica. A fitodiversidade apresenta grande potencial de uso alimentar a ser estudado, especialmente em países tropicais e subtropicais (KINUPP, 2007).

Além do mais, as PANCs são conhecidas por seu elevado teor de fibras alimentares, potencial antioxidante e compostos flavonoides, apresentando efeitos benéficos na prevenção de doenças crônicas (RANFA; BODESMO, 2017). Somando-se a isso, seu alto valor nutritivo e vitamínico, podem ser amparo em tempos de fome

e escassez (BHATIA et al., 2018).

2.2 ESPÉCIE *Rheum palmatum*

O gênero *Rheum L.* (família Polygonaceae) é diversificado e abrange cerca de 60 espécies espalhadas nas regiões desertas e montanhosas da Europa e da Ásia, com a maior variedade de espécies presente na China (GHORBANI; AMIRI; HOSSEINI, 2019).

Assim, o ruibarbo é uma planta registrada na Farmacopeia Chinesa, Europeia e também Japonesa (WANG et al., 2011). Muito se sabe sobre as raízes e rizomas, pois possuem propriedades medicinais e vêm sendo utilizadas há mais de 2000 anos. Em contrapartida, pouco se conhece sobre as propriedades e composição de sua parte comestível, o pecíolo/caule (TAKEOKA et al., 2013).

De acordo com López-Muñoz, Alamo e García-García (2006), a raiz de *Rumex alpinus L.* (ruibarbo de monge) ou *Rheum officinale B. / Rheum palmatum L.* (ruibarbo chinês) eram muito usados na era renascentista como agentes purgativos. Com o intuito de camuflar o sabor desagradável de algumas plantas utilizadas nos remédios fornecidos via oral, os xaropes eram misturas doces.

Há relatos do pecíolo sendo usado como alimento, no século XVIII, principalmente na Inglaterra e em colônias inglesas. No entanto, o consumo espalhou-se no norte da Europa e na América do Norte após o século XIX (FOUST; MARSHALL, 1991).

Os talos podem ser utilizados no consumo doméstico como sucos, bolos e tortas, e também em uso industrial como conservas e vinhos (BASU; OORAIKUL; GARG, 1993). Além disso, podem ser consumidos como geleia e compota, e usados como ingredientes em iogurtes, balas e sorvetes (TAKEOKA et al., 2013).

O ruibarbo é uma planta perene (FIGURA 1) e requer pouca manutenção (BASU; OORAIKUL; GARG, 1993), cresce com facilidade em uma ampla variedade de condições climáticas e de solo (FOUST; MARSHALL, 1991).

FIGURA 1 – PARTES AÉREAS DO RUIBARBO (*Rheum palmatum* L.)

FONTE: A autora, 2019.

Pertence à família *Polygonaceae* que engloba 42 gêneros e cerca de 1100 espécies, sendo que no Brasil verificam-se sete gêneros e em torno de 90 espécies (MELO, 2018). A maioria das espécies desta família é fonte de constituintes bioativos que contém propriedades medicinais (TUNCTURK; CELEN; TUNCTURK, 2017).

A família é caracterizada por exibir ramos articulados, com nós e entrenós evidenciados, folhas simples e flores pequenas, e frutos com cálice persistente, podendo ser suculentos ou secos (MELO, 2018). Normalmente, essas plantas ocupam ambientes úmidos e alagados, às margens de lagos e rios, estando concentrada principalmente no hemisfério Norte, com a maior parte na zona temperada (PEREIRA, 2014).

Além da espécie *Rheum palmatum*, cuja taxonomia está descrita na TABELA 1, estudos também abordam sobre *R. emodi*, *R. officinale*, *R. ribes*, *R. maximowiczii*, *R. undulatum*, *R. coreanum* e *R. tangiticum* (ÖZTÜRK et al., 2007).

O ruibarbo apresenta composição morfológica composta por folhas, pecíolo/caule, rizoma e raiz (CULPEPPER; CALDWELL, 1932). Costumam desenvolver-se em áreas de alta altitude (1.200 m a 3.500 m) com clima sombrio ou de baixa altitude (800 m a 2.000 m) com clima úmido (WANG et al., 2016).

TABELA 1 - TAXONOMIA DO RUIBARBO (*R. palmatum* L.)

Classificação	Nome científico / Nome popular
Espécie	<i>Rheum palmatum</i>
Gênero	<i>Rheum</i> L. – ruibarbo
Família	Polygonaceae
Ordem	Polygonales
Subclasse	Caryophyllidae
Classe	Magnoliopsida – dicotiledôneas
Divisão	Magnoliophyta – plantas floridas
Superdivisão	Espermatófitas – plantas com sementes
Subreino	Tracheobionta – plantas vasculares
Reino	Plantae – plantas

Fonte: USDA (2019)

O caule e as hastes do vegetal podem ser consumidos (ÖZTÜRK et al., 2007), já as folhas não devem ser consumidas devido ao ácido oxálico em sua composição, tornando-as tóxicas (KASAI et al., 2007). O ácido oxálico apresenta uma ação corrosiva sobre o trato digestivo (VASAS; ORBÁN-GYAPAI; HOHMANN, 2015). É um composto antinutricional que pode diminuir a biodisponibilidade de cálcio na dieta, devido a formação de um complexo insolúvel denominado oxalato de cálcio (PINELA; CARVALHO; FERREIRA, 2017). O oxalato de cálcio tem tendência a precipitar nos rins, coração, fígado, pulmões e vasos sanguíneos, podendo produzir hipocalcemia. A dose letal média de ácido oxálico para adultos foi estimada entre 15 a 30 g (VASAS; ORBÁN-GYAPAI; HOHMANN, 2015).

Conforme Wang et al. (2020) algumas ervas da medicina tradicional chinesa vem sendo estudadas para o tratamento da doença de coronavírus (COVID-19), entre elas o ruibarbo. Conhecido como Dahuang, seu nome chinês, a espécie *R. palmatum* L. é capaz de reduzir o calor, quando combinado com outras ervas. Isso porque algumas toxinas podem aumentar o calor e a umidade no corpo, acarretando em infecção do pulmão e afetando negativamente seu funcionamento.

Esta espécie de ruibarbo também têm sido usado para tratamento de doenças renais, gota, doenças intestinais e hepáticas (SILVEIRA et al., 2013), além de constipação, pancreatite aguda e nefropatia diabética (CAO et al., 2017).

Porém, é contraindicado em pacientes com obstrução intestinal ou sintomas abdominais não diagnosticados, portadores de artrite, transtornos renais ou

problemas urinários (KASAI et al., 2007). E também em indivíduos com hemorroidas em virtude de sua ação congestiva sobre os vasos hemorroidais. Além disso, se consumido em excesso, pode ocasionar dores de cabeça, vômitos, vertigens e debilidade muscular (DARROZ et al., 2015).

Na região do Himalaia, os gregos conheciam o ruibarbo como *hemodi*, sendo esta a origem da palavra emodina. O ruibarbo tido como verdadeiro é obtido de plantas que se desenvolvem em elevadas altitudes, na época de floração com cerca de seis anos, as raízes e os rizomas são descascados ainda frescos, cortados em partes e dessecados. A droga proveniente do cultivo é obtida de plantas mais novas, uma vez que a cultura por seis anos seria inviável economicamente (SIMÕES et al., 2017).

2.3 SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS PRESENTES NO RUIBARBO

Aquilo que se consome habitualmente provê, além de macro e micronutrientes fundamentais, alguns compostos químicos que desempenham atividades biológicas, sendo estes encontrados na maior parte das hortaliças e frutas. Esses compostos são denominados de compostos bioativos de alimentos (CBA) ou fitoquímicos, e podem exercer inúmeros papéis em favor da saúde humana (COZZOLINO, 2016).

Os ecossistemas tropicais normalmente apresentam plantas ricas em CBA, as quais são utilizadas em processos industriais, e comercializadas nos mercados nacionais e internacionais (OLIVEIRA et al., 2012). Além disso, algumas PANCs também apresentam ingredientes fisiologicamente ativos, caracterizando-as como alimentos funcionais, devido sua capacidade de proporcionar benefícios à saúde que vão além da nutrição básica (PINELA; CARVALHO; FERREIRA, 2017).

O ruibarbo apresenta substâncias bioativas, e na China seu uso tem sido cada vez mais amplo devido às demandas terapêuticas (WANG et al., 2016). As antraquinonas são as principais substâncias bioativas, sendo que cerca de 30 já foram isoladas e identificadas (CAO et al., 2017). Entre as principais antraquinonas estão a emodina (2,6%), reína (1,9%), crisofanol (1,9%), aloe-emodina (1,8%), fisciona (0,8%) e dantrona (<0,2%) (LI et al., 2019). Verifica-se também a presença de agliconas de estilbenos no ruibarbo (*R. palmatum*), incluindo resveratrol, rapontigenina, isorrapontigenina, desoxirrapontigenina e piceatanol (LIU et al., 2016). Além disso, apresenta outros componentes como resinas, rutina, oxalato de cálcio, amido, ácidos graxos, glicosídeos de estilbeno, carboidratos e óleo volátil (KASAI et al., 2007).

De acordo com a Farmacopeia Chinesa, os derivados de antraquinonas são utilizados como padrão de qualidade do ruibarbo, tendo em vista suas propriedades farmacológicas (LI et al., 2019). Entre elas, o crisofanol tem propriedades anti-inflamatórias, retinoprotetoras, cardioprotetoras, hepatoprotetoras e neuroprotetoras (GHORBANI; AMIRI; HOSSEINI, 2019).

A réina tem a capacidade de resguardar o rim, impedindo a formação de fibrose renal e melhorando a nefropatia diabética (CAO et al., 2017). Além de apresentar propriedade nefroprotetora, a réina também é conhecida por ser hepatoprotetora, anti-hiperglicêmica, anti-fibrótica, anti-hiperlipidêmica e antienvhecimento (GHORBANI; AMIRI; HOSSEINI, 2019).

Já a emodina, é uma das principais substâncias do *R. palmatum* e tem sido utilizada para tratar várias doenças na medicina tradicional chinesa (DAI et al., 2019). A emodina é um derivado de antraquinona de ocorrência natural, encontrada principalmente em cascas e raízes de ervas chinesas (FANG et al., 2019).

Além disso, a emodina possui vasta finalidade farmacológica, englobando efeitos antitumorais, antioxidantes, anti-inflamatórios e antimicrobianos (LU et al., 2015; CAO et al., 2017). Dentre sua atividade anticancerígena, a emodina exerce efeitos terapêuticos no câncer de ovário, câncer de mama e câncer de pulmão (DAI et al., 2019). Podendo regular genes relacionados ao controle da apoptose celular, oncogênese, proliferação celular, invasão e metástase de células cancerígenas e inibir o crescimento celular em alguns tipos de células tumorais (GUO et al., 2009).

A emodina também apresenta atividades antidiabéticas, antivirais, antialérgicas, anti-osteoporóticas, imunossupressoras, hepatoprotetoras e neuroprotetoras (FANG et al., 2019). Um estudo de Evans et al. (2020) relataram que a emodina reduz a inflamação e o estresse oxidativo mitocondrial, e em camundongos foi capaz de bloquear a hipertrofia cardíaca patológica.

Quanto a fisciona, também conhecida como parietina, é encontrada principalmente no ruibarbo (*Rheum sp.*), *Rumex japonicus Houtt (Rumex sp.)*, *Rumex dentatus (Rumex sp.)*, *Polygoni multiflori Radix (Fallopia sp.)*, *Osmunda japonica Thunb (Osmunda sp.)* e *Reynoutria japonica Houtt (Reynoutria sp.)* (XUNLI et al., 2019). Apresenta atividade neuroprotetora, anticancerígena, vasodilatadora e antisséptica (GHORBANI; AMIRI; HOSSEINI, 2019). Também tem sido relatado sobre sua atividade anti-inflamatória, hepatoprotetora e antimicrobiana (TANGAVELOU et al., 2018). De acordo com Lee et al. (2012), a fisciona também pode ser considerada

agente anti-obesidade, sendo eficaz para suprimir o ganho de peso corporal. Além disso, apresenta efeito hipolipemiante e aumenta a sensibilidade à insulina.

Uma revisão das atividades farmacológicas da fisiona, aponta que entre suas atividades biológicas, com relação ao seu potencial anticancerígeno, estão: anti-metástase de células tumorais, atividade de sensibilização quimioterápica contra células tumorais por meio de diferentes mecanismos, alteração na progressão do ciclo celular tumoral, indução a apoptose de células tumorais e inibição de 6-fosfogluconato desidrogenase, uma enzima que exerce papel importante no crescimento e metabolismo do câncer (XUNLI et al., 2019).

Apesar de todos os efeitos benéficos das antraquinonas, estas também apresentam efeitos adversos e tóxicos que podem ser capazes de implicar em alterações morfológicas no cólon e no reto, e em processos inflamatórios e degenerativos com possibilidade de diminuição severa do peristaltismo, podendo resultar em atonia (DARROZ et al., 2015).

Também como compostos fenólicos, o ruibarbo possui as antronas e diantronas, que estão relacionadas à atividade purgativa; os estilbenos, que exercem efeito antioxidante, hepatoprotetor e anti-hiperlipidêmico; os taninos, apresentando ação no estresse oxidativo, genotoxicidade, apoptose e inflamação; as cromonas, que exercem atividades antibacterianas, diminuem pressão arterial e colesterol; e os polissacarídeos, que reduzem glicemia, promovem proliferação de células epiteliais intestinais, são hepatoprotetores, antineoplásicos e antienvhecimento (CAO et al., 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

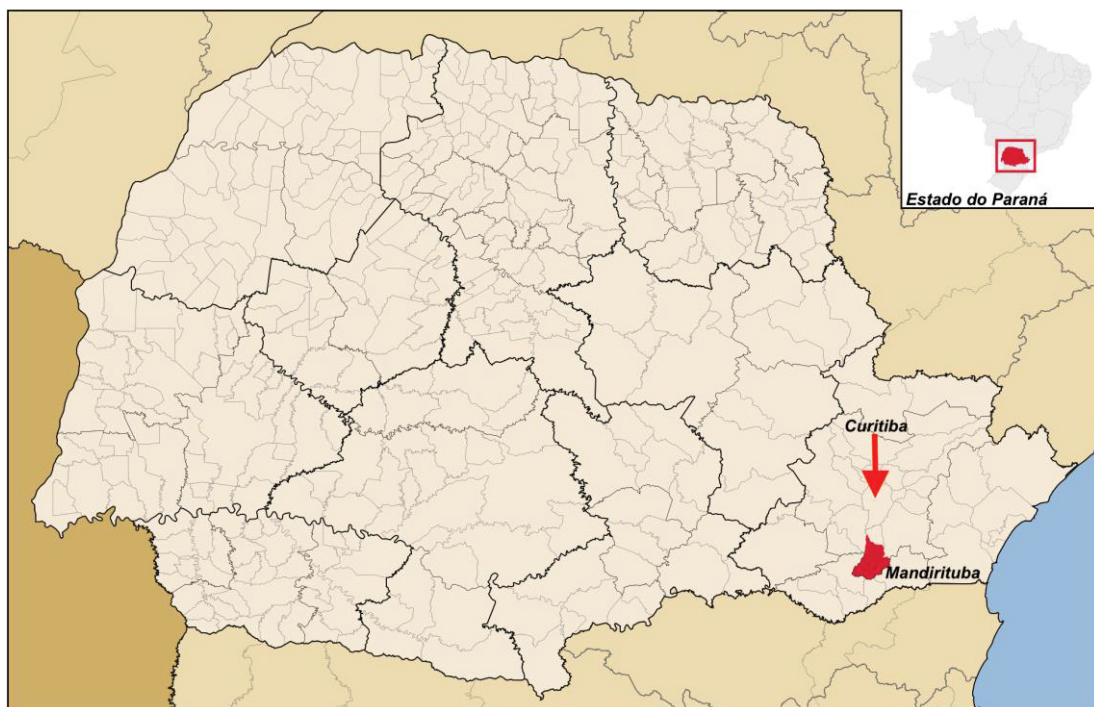
3.1 TIPO DE ESTUDO

A pesquisa apresenta caráter experimental, abrangendo análises laboratoriais da folha e do caule do ruibarbo (*Rheum palmatum* L.).

3.2 LOCAL DA COLETA

A coleta de amostra foi realizada no mês de janeiro de 2019 em uma chácara no município de Mandirituba/Paraná, (Latitude 25° 50' 59" S e Longitude 49° 21' 4" O; elevação 920m), cultivada por um pequeno produtor.

FIGURA 2 - REGIÃO DE COLETA DO RUIBARBO



FONTE: Adaptado do Google Imagens (2019).

3.3 TÉCNICAS DE COLETA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICA

Após a coleta o ruibarbo foi armazenado em caixa isotérmica à 18°C e transportado para o laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná dentro de um período de 2 horas.

A seguir foi realizada a caracterização física (peso, comprimento, largura do caule e da folha) da planta *in natura*, na qual utilizou-se 10 amostras escolhidas aleatoriamente. A pesagem foi realizada em balança analítica (*KN Waagen 3000/2*[®]), com especificidade de duas casas decimais. Para medir o comprimento, foi utilizada régua de 60 cm e para as dimensões da planta, paquímetro com precisão de 0,01 mm (*Vernier Caliper*[®]).

FIGURA 3 - RUIBARBO PRODUZIDO EM MANDIRITUBA/PR



FONTE: A autora, 2019.

As plantas foram imersas em solução clorada (hipoclorito de sódio a 2%, 10 mL L⁻¹) durante 15 minutos, enxaguadas em água corrente e secas em temperatura ambiente. Depois deste processo, o ruibarbo foi separado nas respectivas frações: caule e folha (FIGURA 4), congelado a -18°C em porções menores, liofilizado em

condensador (Liobras®, L101), triturado e embalado a vácuo para análises posteriores.

FIGURA 4 - SEPARAÇÃO DA PLANTA EM FOLHA E CAULE

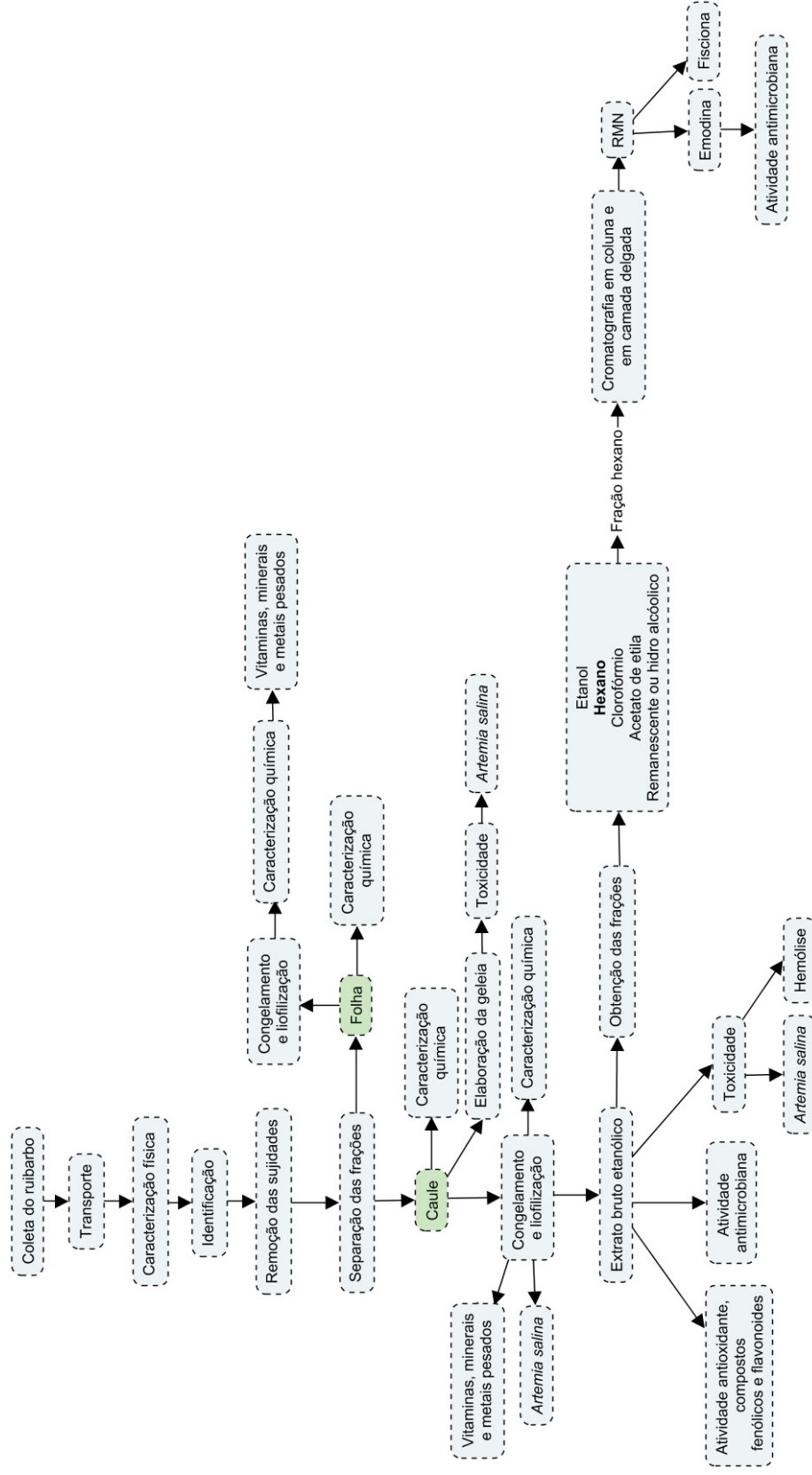


FONTE: A autora, 2019.

O material foi levado para identificação no Museu Botânico Municipal de Curitiba, sob número 295032 (ANEXO 1). Da mesma forma, o comprovante de cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado, está sob número AC1A9A5 (ANEXO 2).

O delineamento do estudo está presente na FIGURA 5, apresentando as etapas da pesquisa.

FIGURA 5 - DELINEAMENTO DO ESTUDO



Legenda: RMN: ressonância magnética nuclear.

FONTE: A autora, 2020.

3.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

Com a amostra *in natura* e em base seca trituradas, foram submetidas à análise de umidade em quadruplicata de acordo com o método oficial do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para tanto, 5 gramas (g) de amostra homogeneizada foram submetidas à estufa até apresentarem peso constante. A umidade foi calculada pela perda de peso em gramas multiplicado por 100 e dividido pelo número de gramas da amostra.

Para análise de cinzas, 3 g de amostra *in natura* foram colocadas na capela para a carbonização e então na chapa elétrica até parar o desprendimento de fumaça. Posteriormente foram incineradas na mufla até a matéria orgânica apresentar queima total. Estas foram calculadas pelo número de gramas de cinzas multiplicado por 100 e dividido pelo número de gramas da amostra (AOAC, 2000).

O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado por método eletrométrico proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), adaptado. Para isso, foram utilizadas 3 g de amostra em base seca diluídas em 30 mL de água destilada para a leitura no pHmêtro. O mesmo preparo de amostra descrito na análise acima, foi utilizado para a acidez titulável. Esta, consistiu em titular as amostras com solução de hidróxido de sódio até atingir o pH 8,0, o qual foi aferido por pHmêtro (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Em relação ao teor de sólidos solúveis em total de graus Brix (°Brix), este foi avaliado por meio de refratometria na amostra *in natura* (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

O teor de proteína foi avaliado pelo método de *Kjeldahl* e utilizado o fator de correção de 5,7 (AOAC, 2000). Para etapa inicial de digestão, foram necessários 0,5 g de amostra em base seca acrescentadas de mistura catalítica e ácido sulfúrico. Após esfriarem em temperatura ambiente, foi realizada a destilação. Por fim, ocorreu a titulação da amônia por meio do ácido sulfúrico até a primeira coloração cor-de-rosa.

Para a determinação de lipídios totais, em 3 g de amostra em base seca foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada. Esta solução foi colocada em tubos em agitador rotativo por 30 minutos. Após este tempo, foram adicionados 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5%. Cada tubo foi agitado manualmente por 2 minutos e centrifugado a 1000 rpm. O sobrenadante foi descartado e a camada inferior foi filtrada em papel de filtro qualitativo. Transferiu-se 5 mL do filtrado para um béquer e evaporou-se o solvente

em estufa a 105°C, esfriou-se em dessecador e utilizou-se o peso final para o cálculo (BLIGH; DYER, 1959).

O teor de açúcares redutores foi realizado de acordo com o método espectrofotométrico de Somogyi-Nelson, em espectrofotômetro a 535 nm. Desta forma, 0,5 g de amostra em base seca foram diluídas em água destilada no balão volumétrico até atingir 100 mL. A solução diluída foi pipetada em diferentes concentrações (20 a 100 µg), com 1 mL do reativo de Somogyi e aquecida em 10 minutos em banho-maria. Após resfriada em banho de gelo, foi adicionado 1 mL do reativo Nelson e mais 7 mL de água destilada para leitura (NELSON, 1944; SOMOGYI, 1945). Para determinação do teor de açúcares totais, a análise foi realizada de acordo com o método de Dubois et al. (1951) em espectrofotômetro à 490 nm. O preparo da amostra foi igual ao de açúcares redutores, e a solução diluída foi pipetada em diferentes concentrações (10 a 70 µg), completando o volume para 1 mL com água destilada. Foram adicionados 1 mL do reativo fenol e 5 mL de ácido sulfúrico, e após 20 minutos foi realizada a leitura.

Em relação ao teor de fibra alimentar total, esta foi determinada pela soma da fibra insolúvel e solúvel através do método enzimático-gravimétrico (PROSKY et al., 1992). Em um béquer, pesou-se 1 g de amostra em base seca, adicionou-se 50 mL de solução tampão fosfato e 100 µL de enzima α -amilase termorresistente. O béquer foi coberto com papel alumínio e levado ao banho-maria, aonde permaneceu sob agitação por 30 minutos, à 95°C. A amostra foi resfriada em temperatura ambiente e o pH foi ajustado para 7,5. Em seguida, 5 mg de enzima protease foram adicionadas, e novamente o béquer foi coberto com papel alumínio, e permaneceu sob agitação em banho-maria, por 30 minutos, à 60°C. A amostra foi resfriada em temperatura ambiente e o pH foi ajustado para 4,0. Por fim, 300 µg de enzima amiloglicosidase foram adicionadas, e a amostra retornou ao banho-maria, aonde ficou sob agitação por 30 minutos, à 60°C. Foram adicionados 280 mL de etanol à 95% e a amostra ficou em repouso por 1 hora. As enzimas utilizadas para a simulação da digestão foram da *Sigma*[®] e a filtração ocorreu pelo sistema de filtração final e lavagem (Velp Científica, CSF6[®]).

O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e o teor de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e fibras (MULLER; TOBIN, 1980), com alteração de que foi descontado o teor de açúcares totais para maior precisão de resultado.

3.5 VALOR ENERGÉTICO

O valor energético foi calculado levando em consideração a conversão de *Atwater*. O teor de lipídeos foi multiplicado por 9 kcal e o teor de carboidratos e proteínas foram multiplicados por 4 kcal. Para obtenção do valor energético total, é realizada a soma destas multiplicações (OSBORNE; VOOGT, 1978).

3.6 DETERMINAÇÃO DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS

De acordo com a metodologia de Simões et al. (2010) adaptado, a extração foi realizada a frio. Foram pesados 10 g de amostra em base seca e diluídas em 150 mL de água destilada por meio de turbólise, durante 10 minutos a 4000 rpm, em temperatura ambiente. Logo após os extratos foram filtrados em membrana filtrante (PTFE) com poros de 0,45 µm (Millipore®) e utilizados na forma aquosa.

Para análise na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (*Agilent Technologies*, 1100 series) foi acoplado o detector de arranjo diodo (DAD), sendo os dados adquiridos e analisados pelo software *Agilent Chemstation* versão B.04.03. As vitaminas foram separadas por meio da coluna de fase reversa Zorbax™ Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 3.5 µm) à temperatura de 25°C, com injeção automática na vazão 0,7 mL min⁻¹.

Primeiramente, testaram-se diferentes proporções de fase móvel contendo ácido trifluoroacético 0,01 % de pH 3,9 (solvente A) e metanol (solvente B) até estabelecer a melhor separação. Utilizou-se o seguinte programa de gradiente: 0-4 min – 5% B (isocrático), 4-14 min – 5-98% B (gradiente linear), 14-34 min – 98% B (isocrático), 34-39 min – 98-5% (gradiente linear), 39-55 min – 5% (isocrático – equilíbrio). A coluna no fim foi estabilizada durante 10 minutos com a fase móvel inicial (A) ficando preparada para a próxima injeção. Os comprimentos de onda utilizados para a detecção das vitaminas foram de 256 nm a 325 nm.

Os padrões cromatográficos selecionados para análise das vitaminas hidrossolúveis foram: cloridrato de tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), nicotinamida (vitamina B3), cloridrato de piridoxina (vitamina B6), ácido fólico (vitamina B9), cianocobalamina (vitamina B12) e ácido ascórbico (vitamina C), adquiridos da *Sigma Aldrich* (St. Louis, MO, EUA), com grau de pureza superior a 96%.

3.7 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS E METAIS PESADOS

A determinação de minerais foi realizada de acordo com a metodologia descrita no Boletim Técnico, número 106, de Camargo et al. (2009). A técnica de digestão dos minerais foi nitroperclórica, exceto para o boro, a qual utilizou-se via seca.

Para a análise de metais pesados seguiu-se a metodologia da *Environmental Protection Agency* 3051 (2007), com determinação por espectrometria de absorção atômica acoplado a forno de grafite e gerador de hidretos.

Ambas as análises foram realizadas com o caule e a folha em base seca, e o resultado obtido foi através de uma única leitura. A determinação de minerais e metais pesados foi feita em parceria com o Instituto Brasileiro de Análises (IBRA).

3.8 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

3.8.1 Extrato bruto

O extrato bruto etanólico do caule (EBEC) do ruibarbo foi obtido a partir de 100 g do caule em base seca, por meio do aparelho de *Soxhlet* analítico modificado (FIGURA 6), utilizando álcool etílico 80% como solvente. O sistema foi levado a aquecimento em temperatura de 80°C e permaneceu por refluxo contínuo até a exaustão para que o solvente pudesse agir sobre a amostra, extraíndo seus compostos bioativos. O filtrado resultante deste processo foi levado à chapa elétrica (Warmnest®, DB-IVA) com temperatura aproximada de 50°C até a evaporação total do solvente (CARVALHO, 2001).

FIGURA 6 - SOXHLET ANALÍTICO MODIFICADO



FONTE: A autora, 2019.

3.8.2 Elaboração das frações

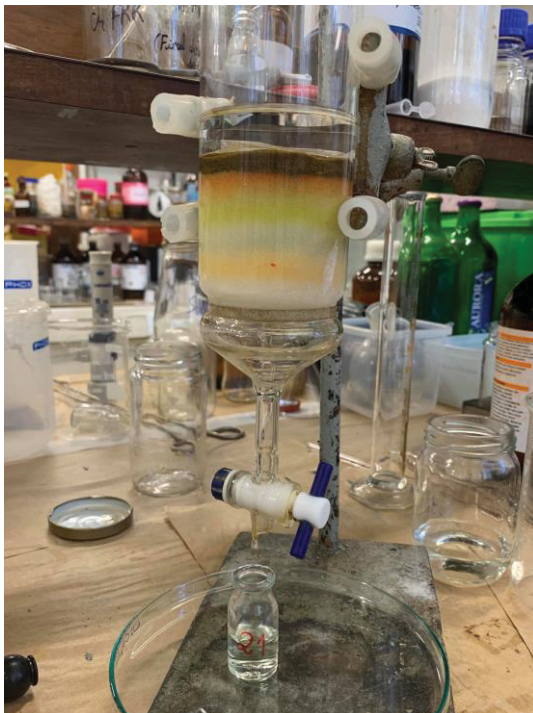
Para a obtenção das frações do caule, uma porção do EBEC (600 mL) foi submetida a partição líquido-líquido. Foram utilizados solventes de polaridades crescentes, sendo hexano, clorofórmio e acetato de etila, respectivamente. Todas as etapas de partição ocorreram em aparelho de *Soxhlet* analítico modificado, que estava conectado ao condensador de bolas e a um balão de fundo chato com pérolas de vidro, no qual foi colocado o solvente de acordo com a fração almejada. O sistema foi colocado sob aquecimento em manta aquecedora e deixado sob refluxo até a exaustão (MOREIRA, 2012; PIEKARSKI, 2013).

3.8.3 Isolamento de substâncias

Na tentativa de isolar alguma substância, foi realizada cromatografia em coluna utilizando fase estacionária Sílica Gel 60 *Macherey-Nagel* 0,063-0,2mm e fase móvel hexano/acetato de etila. A pastilha foi preparada utilizando 10 partes de sílica em relação à amostra (MOREIRA et al., 2018).

Para fração hexânica foram utilizados 1,1g de amostra. Cerca de 75g de sílica foram colocados na coluna de vidro, seguida por papel filtro, a amostra encapsulada pela sílica, e outro papel filtro. A eluição iniciou com 100% v/v de hexano até 55% v/v hexano e 45% v/v acetato de etila (MOREIRA et al., 2018).

FIGURA 7 - CROMATOGRAFIA EM COLUNA UTILIZANDO A FRAÇÃO HEXANO



FONTE: A autora, 2019.

Para a fração de clorofórmio, foram utilizados 5g de amostra. O preparo na coluna de vidro foi igual ao citado acima. A eluição iniciou com 100% v/v de hexano até 30% v/v hexano e 70% v/v acetato de etila.

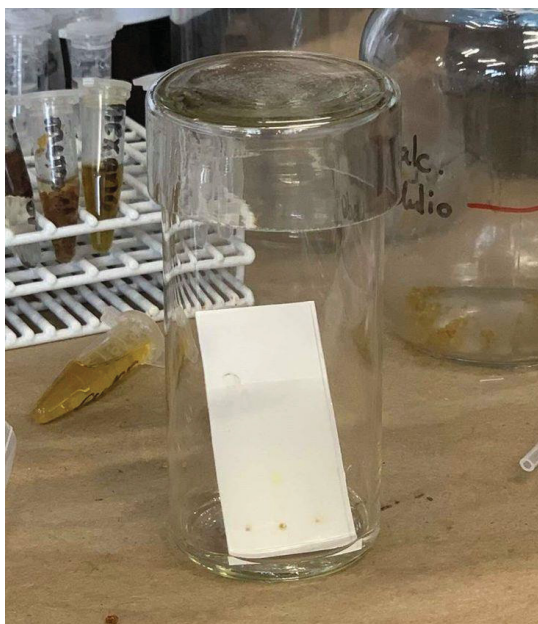
Durante o processo de partição ocorreu a precipitação de quatro compostos na fração hexânica, em momentos distintos, sendo três da cor amarelo intenso e um da cor alaranjada, as quais foram levadas à análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

3.9 CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)

A cada 100 mL eluídos na cromatografia em coluna, foram retiradas frações e algumas foram testadas em CCD a fim de avaliar os agrupamentos químicos predominantes, principalmente as antraquinonas. A fase móvel foi composta por

hexano:acetato de etila:ácido fórmico (85:20:3) e o revelador utilizado foi dietilamina. Para avaliação dos esteroides, a fase móvel utilizada foi a mesma e o revelador foi vanilina 1%:ácido fosfórico 10% (1:1), e a placa ficou em estufa por 15 minutos à 85°C.

FIGURA 8 - FASE MÓVEL DA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA



FONTE: A autora, 2019.

3.10 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Para confirmação da estrutura química das substâncias isoladas na cromatografia em coluna obtidas do EBEC do *Rheum palmatum* L. (fração hexano), estas foram submetidas a análises espectrocópicas, mediante Ressonância Magnética Nuclear, sucedidas no Centro de RMN do Departamento de Bioquímica da UFPR.

Cerca de 15 mg de cada substância foram diluídas em 600 μ L de clorofórmio (CDCl_3) deuterado (Sigma[®]) e colocadas em tubos de RMN de 5 mm de diâmetro. As amostras permaneceram sob refrigeração ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) até sua análise.

Os espectros de RMN de ^1H e experimentos bidimensionais de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e correlação a longa distância ^1H - ^{13}C (HMBC), foram adquiridos a temperatura ambiente ($\sim 20^\circ\text{C}$) em CDCl_3 contendo 0,1 % (v/v) de TMS em espectrômetro de RMN Bruker Ascend 600, operado a 14,1 Tesla, observando os núcleos de ^1H e ^{13}C nas frequências de 600,1 e 150,9 MHz, respectivamente. O

equipamento foi equipado com uma sonda quadrinuclear de detecção inversa de 5 mm e com gradiente de campo no eixo z.

Os mapas de correlação de HSQC e HMBC foram otimizados para uma média de constantes de acoplamento $^1J_{(H,C)}$ e $^{LR}J_{(H,C)}$ de 145 e 8 Hz, respectivamente. Os deslocamentos químicos de 1H e de ^{13}C foram expressos em ppm e referenciados em relação ao sinal do tetrametilsilano (TMS), como referência interna, em 0,00 ppm.

Os dados obtidos foram comparados com os dados de literatura.

3.11 COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A análise de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante para o EBEC foi feita na proporção de 10 mg de amostra para 1 mL de metanol 50% diluídas em banho de ultrassom (Kondentech[®], CD-4860).

E para o caule e folha em base seca, utilizou-se a metodologia de Popovic et al., (2020), García-Cruz et al., (2017) e Pantelic et al., (2016), com algumas adaptações. Na qual 0,5 g de amostra foram pesadas em tubos *Falcon* e diluídas em 5 mL de metanol 80%. Os tubos foram agitados em vortex e levados ao banho ultrassônico por 10 minutos à temperatura de $30 \pm 5^\circ C$. Foram centrifugados por 10 minutos à 3000 rpm, e o sobrenadante foi retirado e armazenado. A fase sólida foi levada à uma segunda extração e o sobrenadante posto junto ao da primeira extração.

As análises seguintes foram realizadas em quadruplicata e a leitura da absorbância feita em espectrofotômetro.

3.11.1 Teor total de fenólicos (TTFN)

A metodologia é descrita originalmente por Singlenton e Rossi (1965), e para esta análise foi levada em consideração a adaptação feita em microplaca de 96 poços por Ávila et al (2019). Adicionou-se 10 μL de amostra, 240 μL de água destilada e 15 μL do reagente de *Folin-Ciocalteu*, que ficaram reagindo por 3 minutos, no escuro, à temperatura ambiente. Logo em seguida, foram adicionados 15 μL de solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3). A placa permaneceu em repouso no escuro por 60 minutos e a leitura da absorbância foi medida à 690 nm. Como padrão foi utilizado ácido gálico ($y = 0,4259x - 0,0149$; $R^2 = 0,9969$). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico/100g de extrato seco.

3.11.2 Teor total de flavonoides (TTF)

A metodologia é descrita originalmente por Zhishen e colaboradores (1999), na qual foram feitas adaptações para microplaca. Foram adicionadas 20 µL de amostra e 90 µL de nitrito de sódio 5% (NaNO₂) e incubadas por 5 minutos. Logo após, acrescentou-se 10 µL de cloreto de alumínio à 10% (AlCl₃) e incubou-se novamente por 5 minutos. Por fim, foram adicionados 90 µL de hidróxido de sódio (NaOH) e após 60 minutos em repouso no escuro a absorbância foi medida em 515 nm. Como padrão foi utilizada catequina ($y = 2,1845x - 0,0933$; $R^2 = 0,9974$). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina/100g de extrato seco.

3.11.3 Redução do Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

O método foi desenvolvido por Blois (1958), modificado por Brand-Williams et al (1995), e adaptado para microplaca por Ávila et al (2019). O DPPH é um radical livre estável que possui uma coloração roxa escura, a qual é perdida com a redução deste radical tornando-se amarelo pálido (AKAR; KÜÇÜK; DOĞAN, 2017).

Adicionou-se 190 µL de DPPH e 10 µL de amostra, e após 30 minutos em repouso no escuro, a absorbância foi medida em 570 nm. Como padrão foi utilizado Trolox ($y = -0,0024x + 0,0027$; $R^2 = 0,9919$). Os resultados foram expressos em mmol de equivalentes de Trolox/100g de extrato seco.

3.11.4 Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*)

A metodologia de FRAP é descrita originalmente por Benzie e Strain (1996) e adaptada por Barbi et al (2018). O ensaio foi realizado em microplaca, na qual adicionou-se 10 µL de amostra e 300 µL do reativo de FRAP. O período de incubação foi de 30 minutos, em temperatura ambiente, no escuro. Depois deste tempo, a absorbância foi medida em 570 nm. Como padrão foi utilizado Trolox ($y = 0,0015x - 0,0001$; $R^2 = 0,9919$). Os resultados foram expressos em mmol de equivalentes de Trolox/100g de extrato seco.

3.11.5 Captura do radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS)

O método foi descrito originalmente por Re et al (1999) e adaptado por Ávila et al (2019). A análise de ABTS consistiu em adicionar 300 µL de solução de ABTS e 10 µL de amostra em microplacas. Depois de 30 minutos de incubação no escuro, em temperatura ambiente, a absorbância foi medida em 690 nm. Como padrão foi utilizado Trolox ($y = -0,0017x + 0,0045$; $R^2 = 0,9915$). Os resultados foram expressos em mmol de equivalentes de Trolox/100g de extrato seco.

3.12 ANÁLISES BIOLÓGICAS

3.12.1 Ensaio de toxicidade preliminar frente à *Artemia salina*

Em relação à avaliação de toxicidade, foi utilizado o método frente à *Artemia salina*. Esta, é um microcrustáceo marinho usado como alimento vivo para peixes e que também apresenta a capacidade de estimar a toxicidade por meio da dose letal média (DL50), levando em consideração a amostra atóxica quando concentrações maiores que 1000 µg/mL não manifestarem mais de 50% de larvas mortas.

Esta metodologia foi proposta por Meyer e colaboradores (1982), sendo que a solução salina é feita com água do mar artificial, ou seja, dissolvendo-se sal marinho em água purificada destilada. Os ovos do crustáceo são adicionados nesta solução, na qual o pH e a temperatura são controladas, e mantidos sob agitação e aeração constante por 48 horas (MEYER; FERRIGNI; PUTNAM, 1982). Após este tempo, 10 náupilos são colocados em cada concentração (10, 50, 100, 250, 500, 750 e 1000 µL/mL), sendo o teste realizado em quadruplicata. Ao se passarem 24 horas, é realizada a contagem de mortos e vivos em cada concentração.

Para esta análise, foram testados o EBEC, o qual foi diluído em metanol e água salina nas diferentes concentrações, e evaporado em temperatura ambiente. No dia da análise, 5 mL de solução salina foram colocadas em todos os frascos.

O caule em base seca também foi testado, além de ter sido feito o preparo com ele cozido por 10 minutos e cozido por 20 minutos. Para o cozimento, 5 g de caule em base seca foram diluídos em 50 mL de água destilada, e colocados em banho maria à temperatura de 90°C por 10 e 20 minutos, respectivamente. Na sequência, as amostras foram resfriadas em água com gelo, e colocadas no

lioofilizador. Depois deste processo, 100 mg de cada amostra foram diluídas em 1% de DMSO e completadas com água salina até atingir 100 mL.

Por fim, para avaliar a relação tempo *versus* temperatura utilizada tradicionalmente para comercialização do ruibarbo, se elaborou geleia com o caule. A formulação de geleia foi feita utilizando-se 150 g de ruibarbo *in natura* que ficaram congelados à -18°C por 24 dias, sendo estes descongelados a temperatura ambiente por 1 hora e 20 minutos. Logo em seguida, foi colocado em uma panela de aço inox à 70°C por 20 minutos. Após este tempo, foram acrescentados 75 g de açúcar refinado até a geleia atingir 56,7 °Brix, medidos por meio de refratômetro digital (Caloi, Mod. RTD-95, Brasil). A geleia foi diluída em água salina e colocada em dispersor Ultra Turrax (Marconi®, MA102) por 5 minutos para homogeneização.

Para análise estatística, foi realizado o teste de Probitos no SPSS Statistics®.

3.12.2 Atividade hemolítica

A hemólise foi realizada conforme o método adaptado de Aslam et al. (2011). Para isso, utilizou-se sangue de carneiro desfibrilado (Newprov®) a 2,5% para obtenção da solução de hemácias. Separou-se 3 mL de sangue que foram divididos em dois tubos *falcon* e centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante foi retirado e desprezado, e o sangue foi lavado com solução salina isotônica tamponada com fosfato isotônico (PBS), gelado (4°C) e com pH ajustado 7,4. Este processo foi repetido por 3 vezes (ASLAM et al., 2011).

Para o controle positivo, foi utilizado o Triton a 0,1% e para o controle negativo foram utilizados o Metanol e PBS. O EBEC foi diluído em PBS em 5 concentrações diferentes (100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL). A solução de amostra com as hemácias foi colocada em *ependorfs*, e logo após em estufa com temperatura controlada de 37 °C, por 30 minutos. Ao ser retirada da estufa, foi feito banho de gelo por 5 minutos. Após este processo, o material foi centrifugado por 5 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante (100 µL) foi diluído em PBS gelado (900 µL), homogeneizado e 200 µL de cada amostra foram transferidos para placas de 96 poços para leitura no espectrofotômetro à 570 nm. O teste foi realizado em quadruplicata mais o branco (ASLAM et al., 2011) e o teste estatístico ANOVA foi realizado no Excel®.

A porcentagem de hemólise (A%) em relação ao controle, foi calculada de acordo com (RASOOL et al., 2015), pela fórmula:

$$A\% = ((Abs_A - Abs_B) / (Abs_C - Abs_B)) \times 100$$

Sendo: Abs_A: absorvância da amostra; Abs_B: absorvância do branco; Abs_C: absorvância do controle.

3.12.3 Atividade antimicrobiana

Para a determinação de atividade antimicrobiana foram utilizadas as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Salmonella*. As colônias tiveram período de crescimento entre 20 e 22 horas a 35°C em ágar triptona de soja, que posteriormente foram transferidas para tubos contendo solução salina (VEIGA et al., 2019).

O EBEC e a emodina foram diluídos em DMSO e a quantificação dos microrganismos foi realizada de forma seriada, através de microdiluição em microplaca, com a concentração inicial de 10⁸ UFC/poço. As microplacas ficaram incubadas à 35±2°C por 22 horas. Após este período, 20 µL da solução TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio) a 0,125% foram adicionados em cada poço, sendo novamente as placas incubadas por mais 2 horas. Em seguida, foi verificada a alteração da coloração para vermelho e a leitura das microplacas foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm (VEIGA et al., 2019).

A classificação da concentração mínima inibitória (CMI) foi feita de acordo com Holetz et al. (2002), na qual CMI > 1000 µg/mL o extrato é considerado inativo, CMI entre 500 e 1000 µg/mL, a atividade antimicrobiana é fraca, CMI entre 100 e 500 µg/mL a atividade antimicrobiana é moderada, e CMI < 100µg/mL, a atividade antimicrobiana é boa.

3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

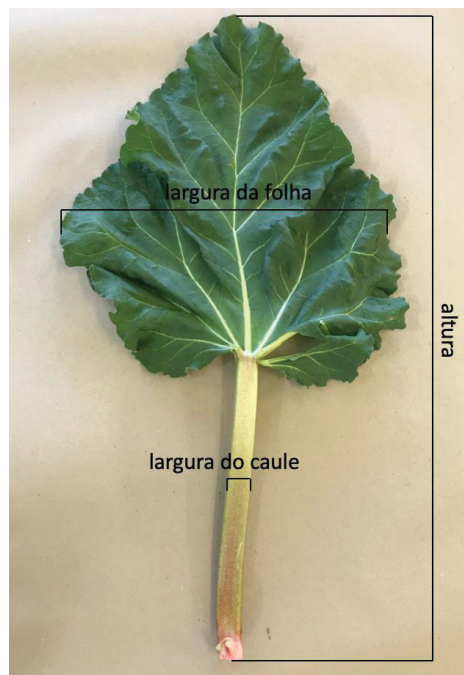
As análises foram realizadas com o programa Action® e Microsoft Excel®. Os dados foram expressos como média e desvio padrão ou como mediana, com valores máximo e mínimo. Os testes de probabilidade foram realizados segundo teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, para homogeneidade de variância foi realizado o teste F, e os testes de significância foram feitos pelo teste t de *Student* ou *Wilcoxon* (p≤0,05).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DA AMOSTRA

O dimensionamento foi realizado com 10 amostras compostas por caule e folha de ruibarbo (*Rheum palmatum* L.) *in natura*, escolhidas aleatoriamente no momento da higienização. A mediana de peso do ruibarbo *in natura* foi de 138,3 g (TABELA 2). A altura, que corresponde à medida entre o início do caule à ponta da folha (extremidades da planta no sentido vertical), apresentou uma mediana de 71,15 cm. A largura do caule foi medida no ponto médio do mesmo, por um paquímetro de mesa, no qual obteve-se mediana de 1,55 cm. E a largura da folha, maior medida entre uma extremidade à outra da folha no sentido horizontal, obteve-se uma mediana de 35,7 cm (FIGURA 9).

FIGURA 9 - MEDIDAS DE DIMENSIONAMENTO



FONTE: A autora, 2020.

TABELA 2 - DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA DE RUIBARBO (*Rheum palmatum* L.) COMPOSTA POR CAULE E FOLHA

Dimensionamento	Mediana	Mínimo	Máximo
Peso (g)	138,3	69,8	183,5
Altura (cm)	71,15	46,6	89
Largura do caule (cm)	1,55	0,7	3,4
Largura da folha (cm)	35,7	26,4	44,6

*Amostras compostas por folha e caule in natura (n=10).

4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

O caule destacou-se por sua acidez ($\text{pH}=2,87\pm 0,01$), conferindo sabor característico à planta. A folha apresentou teores superiores de proteínas e lipídeos quando comparada ao caule. Os dados da caracterização centesimal do ruibarbo estão expressos na TABELA 3.

Apesar da análise físico-química ter sido realizada tanto no caule quanto na folha, é importante ressaltar que a folha não pode ser consumida devido seu alto teor de oxalato, visto que interfere negativamente na biodisponibilidade de cálcio e magnésio (LATIF; MÜLLER, 2015). Porém, mediante cocção por fervura dos vegetais, há uma perda potencialmente benéfica no teor de oxalato. No entanto, há também perda significativa de vitaminas solúveis em água e outros nutrientes (CHAI; LIEBMAN, 2005). Diante disso, existe uma possibilidade de a folha ser consumida quando cozida, porém, esta hipótese não foi testada.

TABELA 3 - CARACTERIZAÇÃO CENTESIMAL DO CAULE E DA FOLHA DO RUIBARBO

Análise	Caule	Folhas	p*	p**	p***
pH	2,87 ± 0,01 ^b	3,48 ± 0,01 ^a	0,90	0,86	<0,01
Acidez titulável	283,95 ± 1,10 ^a	155,72 ± 0,03 ^b	0,28	0,05	<0,01
Sólidos solúveis (°Brix)	4,65 ± 0,47	5,17 ± 0,35	0,39	0,61	0,12
Umidade <i>in natura</i> (%)	88,89 ± 0,29	87,35 ± 0,04	0,00	0,04	0,50
Umidade em base seca (%)	6,47 ± 0,11 ^a	4,01 ± 0,05 ^b	0,76	0,67	<0,01
Cinzas (%)	1,11 ± 0,01	1,08 ± 0,09	0,02	0,02	0,70
Proteínas (%)	8,45 ± 0,51 ^b	23,29 ± 0,62 ^a	0,21	0,82	<0,01
Lipídeos (%)	0,45 ± 0,03 ^b	1,54 ± 0,01 ^a	0,94	0,05	<0,01
Carboidrato (%)	47,18 ± 0,70 ^a	32,01 ± 2,00 ^b	0,10	0,26	<0,01
Açúcares totais (%)	2,46 ± 0,17 ^a	1,06 ± 0,08 ^b	0,29	0,38	<0,01
Açúcares redutores (%)	1,30 ± 0,24	1,05 ± 0,05	0,18	0,10	0,16

Valores representados como média ± desvio padrão. Amostras de proteínas, lipídeos, açúcares totais e redutores em base seca. *p (normalidade): Valores de probabilidade obtidos segundo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. **p (homogeneidade): Valores de probabilidade obtidos pelo teste F para homogeneidade de variâncias. ***p (variância): Valores de probabilidade obtidos pelo teste t de Student para amostras independentes ou teste de Wilcoxon. Letras sobscritas diferentes na mesma linha representam resultados estatísticos diferentes ($p \leq 0,05$).

O ruibarbo *in natura* apresentou alto teor de umidade (87-89%), semelhante ao *Rumex pulcher* (86,6%), *Rumex papillaris* (89,1%) e *Rumex acetosella* (89,1%) que pertencem à mesma família (PINELA; CARVALHO; FERREIRA, 2017). As diferenças entre as espécies ocorrem principalmente pelas alterações de altitude, que refletem na temperatura, no solo e nas chuvas, interferindo na sobrevivência e no crescimento das mesmas (ASHAGRE; ASFAW; KELBESSA, 2016). Além disso, o alto teor de umidade pode estar relacionado ao alto teor de fibras (TABELA 4), tendo em vista que alimentos com elevado teor de fibras, retêm mais água.

O elevado teor de resíduo mineral fixo encontrado (cinzas), tanto no caule como na folha pode indicar quantidade significativa de minerais, pois contêm o material inorgânico da planta (DATTA et al., 2019).

Em relação ao teor proteico, no caule encontrou-se 0,61g/100g *in natura* e na folha, 1,06g/100g *in natura*. Quando comparado a outros caules *in natura*, como o aipo/salsão (0,76g/100g) e o aspargo (2,2g/100g), o caule do ruibarbo apresenta teor proteico inferior (TBCA, 2019). Já em relação aos lipídios, o caule apresentou 0,03g/100g *in natura*, semelhante ao valor encontrado pela tabela de composição nutricional da USDA (2019), na qual o ruibarbo *in natura* apresenta 0,02g/100g de lipídios. O que é esperado, visto que plantas são alimentos com baixo teor de gordura (PINELA; CARVALHO; FERREIRA, 2017).

O caule do ruibarbo fresco apresentou teor de fibras insolúveis mais elevado (2,29 g/100g) do que fibras solúveis (0,28 g/100g), sendo que o teor total de fibras encontrado foi de 2,57 g/100g de peso fresco no caule (TABELA 4). Levando em consideração a tabela USDA (2019), em uma porção de 100g de ruibarbo fresco, encontram-se 1,80g de fibras totais.

TABELA 4 - DETERMINAÇÃO DE FIBRAS TOTAIS NO CAULE E NA FOLHA DO RUIBARBO

		Caule (g/100g)	Folha (g/100g)	p*	p**	p***
Base seca	Fibras insolúveis	31,48 ± 1,08 ^b	37,13 ± 4,37 ^a	0,11	0,05	0,05
	Fibras solúveis	3,89 ± 2,23	1,67 ± 1,21	0,45	0,35	0,13
	Fibras totais	35,37 ± 2,26	38,81 ± 4,82	0,07	0,24	0,25
Base úmida	Fibras insolúveis	2,29 ± 0,07 ^a	1,70 ± 0,20 ^b	0,74	0,16	<0,01
	Fibras solúveis	0,28 ± 0,16 ^a	0,07 ± 0,05 ^b	0,52	0,11	0,05
	Fibras totais	2,57 ± 0,16 ^a	1,78 ± 0,22 ^b	0,91	0,64	<0,01

Valores representados como média ± desvio padrão. Teste T (P≤0,05). *p (normalidade): Valores de probabilidade obtidos segundo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. **p (homogeneidade): Valores de probabilidade obtidos pelo teste F para homogeneidade de variâncias. ***p (variância): Valores de probabilidade obtidos pelo teste t de Student para amostras independentes ou teste de Wilcoxon. Letras sobscritas diferentes na mesma linha representam resultados estatísticos diferentes (p≤0,05).

Em relação ao alto teor de fibras, o ruibarbo pode ser utilizado como ingrediente alimentar enriquecendo produtos alimentícios. A fibra do caule do ruibarbo apresentou redução de colesterol e triglicerídeos em camundongos em um estudo feito por Basu e colaboradores (1993). Em outro estudo, a fibra do caule (*R. rhaponticum* ou *R. rhabarbarum*) mostrou efeitos em homens, reduzindo significativamente o colesterol total e o colesterol LDL, sem afetar as concentrações de colesterol HDL (GOEL; OORAIKUL; BASU, 1997).

A fibra alimentar é composta por uma matriz vegetal que está praticamente intacta. Os carboidratos não digeríveis são uma mistura de polissacarídeos que são componentes integrais da estrutura celular ou da parede celular da planta. Quanto à quantidade recomendada de fibras para adultos (homens e mulheres), a *American Dietetic Association* recomenda 14g/1000kcal (ADA, 2008).

O tipo de fibra alimentar interfere significativamente também nas concentrações plasmáticas de glicose. As recomendações nutricionais para indivíduos diabéticos abrangem o aumento do consumo de fibras via alimentação (CHEEMA et al., 2003). Além disso, o alto consumo de fibras está associado a menor

mortalidade por câncer, doença cardiovascular e doença arterial coronariana (KIM; JE, 2016).

Ao estudar três PANCs de espécies diferentes da família *Polygonaceae*, Tuncturk et al. (2017) afirmaram que devido ao valor nutritivo e a composição mineral, estas plantas poderiam ser inseridas na alimentação cotidiana da população. Logo, mediante a caracterização físico-química apresentada, o caule do ruibarbo seria uma opção nutricionalmente atraente, de baixa caloria e elevado teor de fibras, a ser incluído na alimentação.

Em relação ao valor energético, o valor de umidade *in natura* foi dividido pelo valor de umidade em base seca, para reverter os macronutrientes ao peso fresco. Sendo assim, os valores de proteína, lipídeo e carboidrato foram convertidos para a base úmida a fim de expressar o valor energético das porções (TABELA 5).

TABELA 5 - VALOR ENERGÉTICO TOTAL (VET) DO CAULE E DA FOLHA DO RUIBARBO FRESCO

Macronutriente	Caule	Folha
Proteína (g/100g)	0,61	1,06
Kcal provenientes da proteína	2,46	4,27
Carboidrato (g/100g)	3,43	1,46
Kcal provenientes do carboidrato	13,74	5,87
Lipídeo (g/100g)	0,03	0,07
Kcal provenientes do lipídeo	0,29	0,63
VET em kcal/100g de peso fresco	16,49	10,77

Legenda: Kcal: quilocalorias; VET: valor energético total.

O valor energético encontrado para o caule, que é a porção comestível da planta, foi de 16,49 kcal/100g de peso fresco. Levando em consideração a tabela de composição de alimentos USDA (2019), o caule do ruibarbo *in natura* apresenta valor energético de 21 kcal/100g. Tendo em vista as orientações da ANVISA (2005), os valores diários (%VD) de referência são baseados em uma dieta de 2.000 kcal. Portanto, uma porção de um copo, que corresponde a 122 g de ruibarbo *in natura* picado, possui 20,11 kcal, sendo responsável por 1,005% do valor energético da porção diária recomendada.

4.3 VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS

As vitaminas são micronutrientes envolvidos em diversos processos fisiológicos, sendo que as fontes alimentares devem fornecer a maioria delas (PINELA; CARVALHO; FERREIRA, 2017). A TABELA 6 apresenta a quantificação de vitaminas hidrossolúveis detectadas no caule e na folha.

TABELA 6 - QUANTIFICAÇÃO DE VITAMINAS HIDROSSOLÚVEIS NO CAULE E NA FOLHA

Amostras*	Vitaminas	Tempo Retenção	Pureza (%)	Área (%)	Concentração (µg/100 g)
Folha	B1	ND	ND	ND	ND
	B2	ND	ND	ND	ND
	B3	6,68	89	18,10	1,16
	B6	ND	ND	ND	ND
	B9	ND	ND	ND	ND
	C	ND	ND	ND	ND
Caule	B1	3,86	91	16,70	0,88
	B2	ND	ND	ND	ND
	B3	6,68	89	18,10	1,16
	B6	ND	ND	ND	ND
	B9	ND	ND	ND	ND
	C	3,65	96	7,30	1,31

*Amostras em base seca.

Legenda: B1: cloridrato de tiamina; B2: riboflavina; B3: ácido nicotínico; B6: cloridrato de piridoxina; B9: ácido fólico; C: ácido ascórbico; ND: não detectado.

Na Europa o hábito de consumir PANCs vem aumentando devido sua contribuição substancial à dieta levando em consideração sua composição, principalmente de vitaminas, minerais e antioxidantes, além de serem conhecidas como alimentos naturais e saudáveis (RENNA et al., 2015). As plantas possuem quantidades significativas de vitaminas hidrossolúveis e relativamente baixas de vitaminas lipossolúveis (PINELA; CARVALHO; FERREIRA, 2017).

A determinação das vitaminas hidrossolúveis é desafiadora pois algumas delas são sensíveis à luz, ar e calor; normalmente estão presentes em pequenas quantidades no alimento (as vezes em ppm ou ppb); diferentes estruturas dificultam o desenvolvimento de um método em comum para determinação concomitante, além da maioria estar ligada a proteína ou encontrar-se em formas fosforiladas. Portanto, dependendo da forma de extração, o trabalho aponta que pode não ser detectada ou bem quantificada (CAPRIOLI et al., 2018). A complexidade das matrizes das quais as

vitaminas são usualmente obtidas e a instabilidade desses compostos também deve ser considerada quando de sua quantificação (DONATO; ZANOTTO; BERGOLD, 2004). Isso pode justificar o valor de vitamina B1 (0,8 mcg/100g) encontrado no caule, quando comparado com o valor encontrado pela tabela USDA (2019) (19 mcg/100g de caule).

Quanto à vitamina C, esta é ingerida essencialmente como ácido ascórbico (a principal forma encontrada nas plantas), mas também como ácido desidroascórbico (forma oxidada) (PINELA; CARVALHO; FERREIRA, 2017). O valor encontrado no caule foi de 1,3 mcg/100g, no entanto, a USDA (2019) indica valores de 8000 mcg/100g no caule. De acordo com Davey et al. (2000), a quantidade de ácido ascórbico pode estar relacionada a diversos fatores, tais como: tipo de solo, cultivar, maturação, posição na planta, tamanho, luz (incidência solar) e tipo de cultura (se interna ou externa).

4.4 MINERAIS E METAIS PESADOS

Além de contribuírem em requisitos bioquímicos e energéticos essenciais, as plantas comestíveis são fontes complementares de vitaminas e minerais que são indispensáveis para manter a homeostase fisiológica do corpo (DATTA et al., 2019).

Para o consumo humano foram determinados níveis de segurança mineral pelo Instituto de Medicina dos Estados Unidos (IOM) e incluem dados como Ingestão Diária Recomendada (IDR), Ingestão Adequada (IA) e Nível De Admissão Superior Tolerável (UL). A TABELA 7 apresenta a quantificação de minerais na folha e no caule comparando-as com seus valores de referência.

TABELA 7 - QUANTIFICAÇÃO DE MINERAIS NO CAULE E NA FOLHA E O COMPARATIVO COM A IDR

Minerais	Caule	Folha	IDR homens	IDR mulheres
	g/100g		g/dia	
Potássio ^a	6,25	5,25	4,7	4,7
Sódio ^a	0,037	0,042	1,5*	1,5*
	mg/100g		mg/100g	
Fósforo	266	374	700	700
Cálcio	500	425	1000**	1000**
Magnésio	175	183	420***	320***
Ferro	3,95	7,1	8	8****
Zinco	3,25	1,95	9,4	6,8
Enxofre	164	214	-	-
Manganês ^a	3	1,5	2,3	1,8
Boro ^b	1,72	4,53	20	20
	µg/100g		µg/100g	
Cobre	970	1180	900	900

*Análise feita em base seca. Valores convertidos para *in natura*.

Legenda: IDR: ingestão dietética recomendada, recomendações para indivíduos >19 anos. *Exceto para indivíduos acima de 31 a 50 anos (1,3 g/dia) e >70 anos (1,2 g/dia). **Exceto para mulheres >51 anos e homens >70 anos (1200 mg/dia). ***Exceto para homens 19 a 30 anos (400 mg/dia) e mulheres de 19 a 30 anos (310 mg/dia). ****Exceto para mulheres de 19 a 50 anos (18 mg/dia).

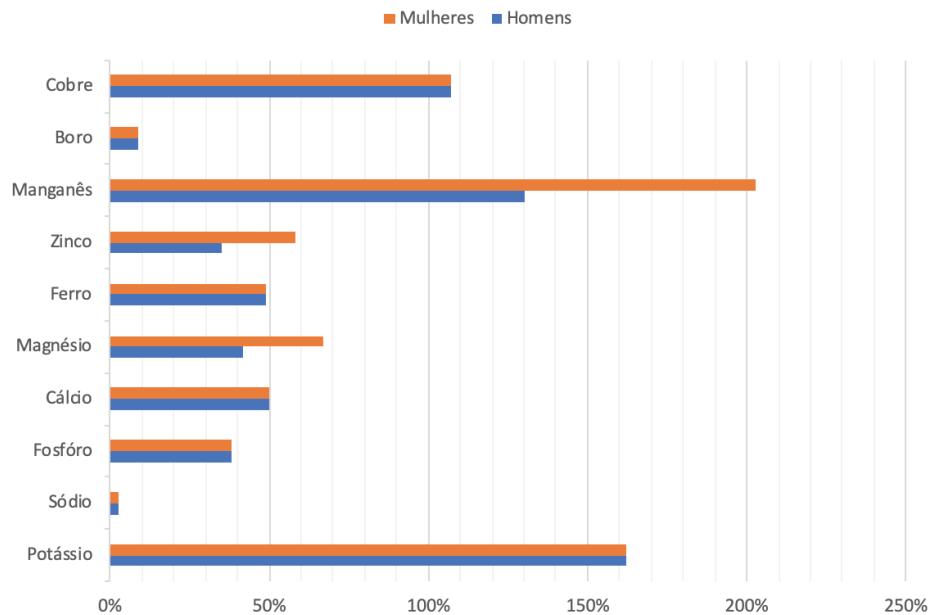
Nota: ^a valores referentes a Ingestão Adequada (IA). ^b valores referentes ao nível de admissão superior tolerável (UL).

Valores de referência de acordo com Instituto de Medicina dos Estados Unidos (2006).

Os minerais possuem papéis importantes na produção de energia e absorção de vitaminas (MILLENA; SAGUM, 2018). No ruibarbo, os minerais mais abundantes foram Potássio, Cálcio, Manganês e Cobre. Esses minerais atuam como cofatores para muitas funções metabólicas e fisiológicas, sendo que cada qual tem sua própria função na manutenção da homeostase corporal (MILLENA; SAGUM, 2018).

O ruibarbo (*R. palmatum* L.) é uma boa fonte de minerais tendo em vista que o consumo de uma porção do caule *in natura* (122g), é capaz de suprir 162% da recomendação de Potássio (K), portanto, o consumo de apenas ½ porção do caule *in natura* (61g) seria suficiente para suprir 81% da recomendação diária deste mineral. Além disso, uma porção é capaz de suprir 50% da recomendação de Cálcio (Ca), 203% da recomendação de Manganês (Mn) para as mulheres e de 130% para homens, e 107% da recomendação de Cobre (Cu) para ambos os sexos. Os altos teores de minerais presentes no ruibarbo podem ser justificados pelo alto teor de cinzas. Os valores correspondentes as quantidades supridas destes e outros minerais estão presentes na FIGURA 10.

FIGURA 10 - PERCENTUAL CORRESPONDENTE A QUANTIDADE SUPRIDA DOS MINERAIS EM MULHERES E HOMENS AO INGERIR 1 PORÇÃO (122g) DE CAULE DE RUIBARBO



FONTE: A autora, 2020.

A maioria das plantas que apresenta metais-traço, assim como o gênero *Rheum*, desempenham papel vital como componentes estruturais e funcionais de enzimas e metaloproteínas nas células vivas. Os oligoelementos são responsáveis por grande parte das reações biológicas, sendo que o funcionamento adequado dos organismos vivos é dependente da quantidade de macro e microelementos presentes (SINGH et al., 2010).

Tendo isto em vista, o Mn é um oligoelemento indispensável para muitos processos fisiológicos, e é fundamental para o funcionamento e desenvolvimento neuronal (GONZALEZ-REYES; GUTIERREZ-ALVAREZ; MORENO, 2007). Ele auxilia na redução da inflamação em humanos, coagulação do sangue e regeneração óssea (VEERASWAMI; NAGESWARA RAO, 2020).

No entanto, em concentrações abaixo ou acima dos níveis recomendados resulta em condições patológicas graves no sistema nervoso central (GONZALEZ-REYES; GUTIERREZ-ALVAREZ; MORENO, 2007). Um estudo mostrou que após exposição excessiva ao Mn os indivíduos apresentaram parkinsonismo, este é um termo que descreve clinicamente pacientes com rigidez, tremor, problemas de equilíbrio da marcha e bradicinesia, que são sintomas de disfunção dos gânglios da base (KISSINI et al., 2020).

O estudo de Singh et al. (2010) avaliou a concentração de alguns minerais na espécie *Rheum emodi* Wallr. por meio de espectroscopia de absorção atômica e encontrou concentrações de Mn entre $0,2\pm 0,1$ – $6,9\pm 0,26$ mg/100g e $7,6\pm 0,32$ – $124,2\pm 0,53$ mg/100g nas raízes e folhas, respectivamente. Outro estudo de Singh et al. (2012) avaliou a concentração de Mn na espécie *Rheum moorcroftianum* também por meio de espectroscopia de absorção atômica na qual os níveis de concentração encontrados nas raízes e folhas foram entre $1,3\pm 0,23$ – $5,7\pm 0,56$ mg/100g e $5,9\pm 0,53$ – $32,2\pm 0,6$ mg/100g, respectivamente. Aparentemente, há maior concentração deste mineral em grandes altitudes. No caso destes estudos, os maiores valores encontrados de Mn para as folhas, foram de amostras coletadas há 3.500 – 3.600 m acima do nível do mar. O que chama atenção pois o ruibarbo analisado foi cultivado à 920 m de altitude.

Quanto ao Cu, este micronutriente é essencial para o metabolismo e crescimento normais das plantas. O Cu desempenha um papel essencial no transporte fotossintético e respiratório de elétrons nas plantas, e funciona como um cofator para uma variedade de enzimas, como oxidase, plastocianina, superóxido dismutase e citocromo c (KE et al., 2007). Para os seres humanos o Cu desempenha um papel vital na função e manutenção do sistema imunológico. Por isso, os sintomas de deficiência incluem redução dos glóbulos brancos, reações imunológicas e anormalidades nos ossos e tecido conjuntivo (RAHA et al., 2020). A suplementação de Cu pode atuar como terapia preventiva contra o COVID-19, devido sua potente atividade antiviral. Sugerindo que o aumento dos níveis de Cu no plasma aumentaria a imunidade inata e adaptativa nas pessoas (RAHA et al., 2020). Níveis elevados de cobre sérico foram relacionados a maiores chances de sobrepeso, obesidade total e obesidade central, sendo que as associações não foram modificadas por sexo, nem idade (GE; LIU; LIU, 2020).

Quanto ao Ca, é um componente extremamente importante do corpo humano, com 99% contido no esqueleto. A homeostase do cálcio plasmático é responsável manutenção do esqueleto, transmissão de impulsos nervosos e atividades vasculares, e regulação da secreção hormonal (LI et al., 2018). Alimentos vegetais podem conter boas quantidades desse mineral, principalmente vegetais folhosos e nozes, porém, a biodisponibilidade dele é inversamente proporcional às quantidades de oxalato e fitato na dieta (AGNOLI et al., 2017). Tendo isso em vista, o teor de oxalato presente no ruibarbo poderia prejudicar a biodisponibilidade de Cálcio.

Muitos alimentos ricos em K, tanto frutas e vegetais frescos, quanto grãos e carnes, são considerados "saudáveis para o coração". Além disso, uma alimentação baseada em vegetais, que compreende o consumo de alimentos ricos em potássio, pode prevenir o desenvolvimento de doença renal crônica em pessoas com função renal normal ou relativamente preservada (CLEGG; HEADLEY; GERMAIN, 2020).

Por outro lado, o sódio apresentou baixo teor tanto no caule (0,037 g/100g) quanto na folha (0,042 g/100g). Conforme a Organização Mundial da Saúde (2012), recomenda-se a ingestão de menos de 2 g de sódio/dia, para reduzir a pressão sanguínea e o risco de doença coronariana, derrame e doença cardiovascular em adultos. Isto demonstra que o ruibarbo não contribui de forma significativa para o suprimento diário de sódio. Todavia, esse elemento exerce um papel vital na regulação do equilíbrio de fluidos, gradientes transmembranares e pressão arterial (RENNA et al., 2015).

Além dos minerais, foram quantificados os metais pesados na folha e no caule do ruibarbo, e os resultados estão apresentados na TABELA 8.

TABELA 8 - QUANTIFICAÇÃO DE METAIS PESADOS NO CAULE E NA FOLHA

Metais pesados	Caule (mg/100g)	Folha (mg/100g)	LQ
Cádmio	< LQ	< LQ	0,09
Chumbo	< LQ	< LQ	0,38
Mercúrio	0,031 ± 0,0001	0,061 ± 0,0001	0,1
Cromo	< LQ	< LQ	0,3
Níquel	< LQ	< LQ	0,15
Arsênio	< LQ	< LQ	0,3
Selênio	< LQ	< LQ	1,0

*Análise feita em base seca. Valores convertidos para *in natura*.

Legenda: LQ: Limite de quantificação.

O solo é o sustento fundamental das culturas alimentares e pode ser prejudicado por metais pesados provenientes de fontes pontuais (por exemplo, usinas e indústrias) e não pontuais (por exemplo, erosão do solo e escoamento agrícola) (RAI et al., 2019).

O único metal pesado detectado no ruibarbo foi o mercúrio. O conteúdo de mercúrio variou de 0,031 mg/100g no caule a 0,061 mg/100g na folha. Apesar de não haver ingestão dietética recomendada (RDA) ou nível máximo de ingestão tolerável (UL) para o mercúrio, a exposição a este metal pesado pode causar efeitos colaterais. Segundo Yang et al. (2020), tanto o mercúrio orgânico quanto o inorgânico podem

causar sequelas neurológicas como deficiência visual, surdez e paralisia cerebral grave, além de apoptose celular e morte embrionária ou fetal.

O Comitê Conjunto de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS, orienta que a ingestão semanal tolerável provisória seja de 4 µg de mercúrio por kg de peso corporal por semana (JECFA, 2011). Baseando-se nesta recomendação, um indivíduo de 60 kg pode consumir até 0,034 mg/dia de mercúrio. Desta forma, a ingestão de um talo de ruibarbo (51 g) não representaria um risco associado a este metal tóxico, tendo em vista que corresponderia à 0,015 mg na porção.

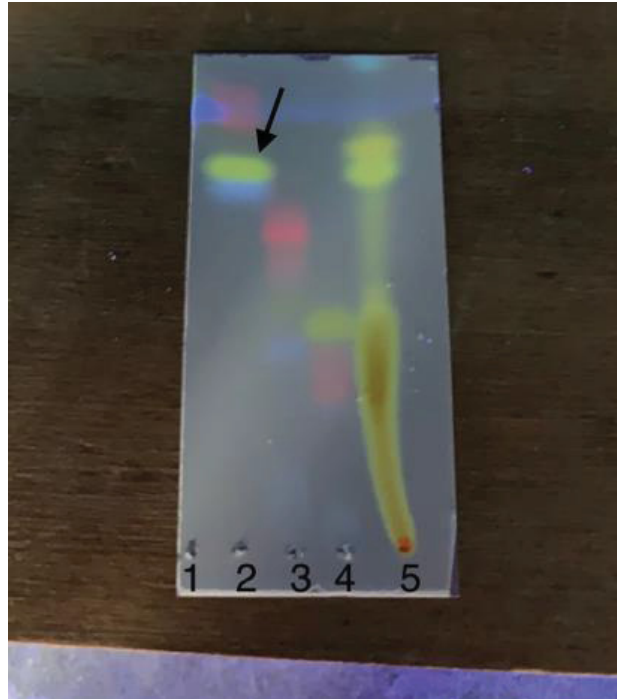
4.5 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS

4.5.1 Cromatografia de camada delgada

A partir da coluna cromatográfica realizada com hexano, foram obtidos pontos de 1 a 90. Foram agrupadas cinco subfrações diferentes, sendo do ponto 2 a 5, 18 a 23, 24 a 29, 32 a 38 e 50 a 65. Na fração clorofórmio, foram obtidos pontos de 1 a 114, dos quais apenas uma subfração foi agrupada, do ponto 41 a 53. Antes do agrupamento, foi realizada a CCD para conferir as subfrações pertencentes aos mesmos subgrupos. Na FIGURA 11, pode-se visualizar quatro subfrações diferentes da fração hexano e o padrão de frangula emodina (marca *Sigma-Aldrich*[®]), enumerada como 5.

São consideradas subfrações diferentes, quando os picos máximos que atingem na placa, não estão na mesma altura. E são consideradas subfrações iguais, quando ocorre o inverso. Neste caso, o ponto indicado no número 2 pode ser considerado emodina, quando comparado com o ponto indicado no número 5, que é a substância isolada (padrão). Os demais pontos (1, 3 e 4) possivelmente são outras antraquinonas que diferem entre si.

FIGURA 11 - CCD COM SUBFRAÇÕES DA FRAÇÃO HEXANO



FONTE: A autora, 2019.

Legenda: 1 – ponto 19; 2 – ponto 52; 3 – ponto 36; 4 – ponto 24; 5 – padrão de frangula emodina (marca Sigma-Aldrich®).

A emodina é um derivado de antraquinona isolado do ruibarbo (*Rheum palmatum* L.) que tem sido utilizada para tratar úlceras, sangramento gastrointestinal, icterícia e constipação na medicina tradicional chinesa. Além do mais, a emodina é capaz de suprimir a via NF- κ B (fator nuclear kappa B), inibindo várias doenças inflamatórias, tais como: artrite reumatoide, pancreatite, aterosclerose, asma, glomerulonefrite e miocardite. A emodina também demonstra efeito protetor das células β induzidas por citocinas, prevenindo o desenvolvimento de diabetes tipo 1 (BAE et al., 2015).

Ademais, as antraquinonas contidas no ruibarbo, principalmente emodina, aloe-emodina e reína, estão correlacionadas a efeitos anticancerígenos, podendo inibir o crescimento e a proliferação de várias células cancerígenas. A emodina já demonstrou efeito em câncer de mama, ovário, fígado, pulmão e próstata (ZHENG et al., 2013).

Quanto à efeitos neuroprotetores nas doenças do sistema nervoso central, antraquinonas presentes no ruibarbo como emodina, reína e crisofanol desempenham papel protetor em acidente vascular cerebral. A emodina pode exercer ainda efeitos

terapêuticos em traumatismos cranianos, doença de Alzheimer, depressão e outras doenças do sistema nervoso (LI et al., 2019).

4.5.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Os dados fornecidos pela análise de RMN, comparados com os dados presentes na literatura, confirmaram a presença da fisciona (pontos 24 a 29) e da emodina (pontos 50 a 65) em diferentes soluções isoladas, conforme demonstrado a seguir.

TABELA 9 - DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DA FISCIONA ISOLADA EM CDCl_3

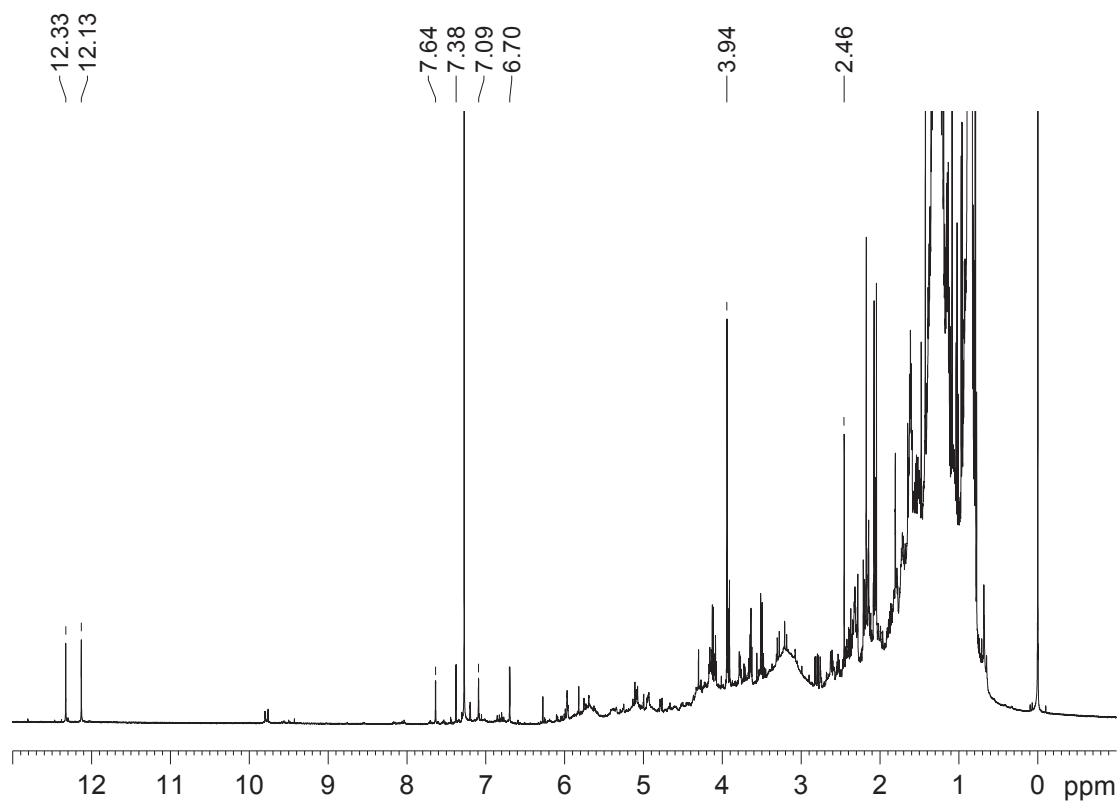
Posição	δ_{H}		δ_{C}	
	Experimental ^a	Literatura ^b	Experimental ^a	Literatura ^b
1	12,33 s	12,30 s	164,7	165,20
2	6,70 d (2,5)	6,68 d (2,57)	106,8	106,78
3	-	-	165,8	166,56
4	7,38 d (2,5)	7,36 d (2,57)	108,6	108,22
5	7,64 d (1,5)	7,62 dd (0,92; 0,55)	121,6	121,29
6	-	-	147,7	148,44
7	7,09 m	7,07 dd (0,92; 0,74)	124,3	124,51
8	12,13 s	12,11 s	161,9	162,51
9	-	-	-	190,82
10	-	-	181,4	182,05
11	-	-	-	133,23
12	-	-	113,0	113,69
13	-	-	109,4	110,27
14	-	-	-	135,27
CH ₃	2,45 sl	2,44 dd (0,74; 0,55)	21,4	22,15
OCH ₃	3,94 s	3,93 s	55,5	56,07

Nota: ^a Dados experimentais retirados dos experimentos bidimensionais de HSQC e HMBC; ^b Dados de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Fisciona (600,13 e 150,9 MHz, respectivamente; CDCl_3) de acordo com Danielsen, Aksnes, Francis (1992). Valores em ppm relativos ao sinal do TMS como referência interna.

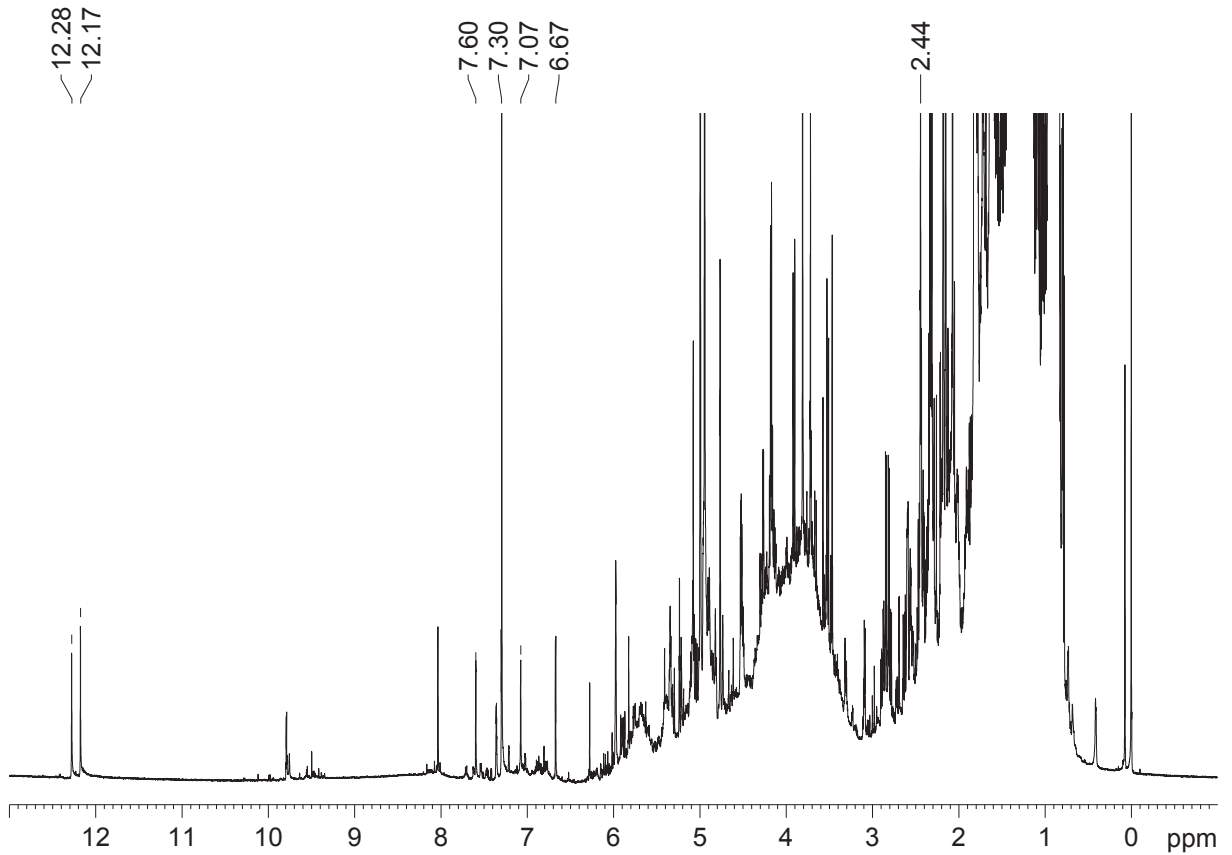
TABELA 10 - DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DA EMODINA ISOLADA EM CDCl_3

Posição	δ_{H}		δ_{C}	
	Experimental ^a	Literatura ^c	Experimental ^{ab}	Literatura ^c
1	12,27 s	12,27 s	165,4	-
2	6,67 d (2,4)	6,66 d (2,5)	109,4	-
3	-	-	-	166,5
4	7,29 d (2,4)	7,31 d (2,5)	109,8	108,7
5	7,59 d (1,1)	7,61 sl	121,2	121,3
6	-	-	148,3	149,1
7	7,07 m	7,07 s	124,7	124,9
8	12,17 s	12,17 s	162,5	162,2
9	-	-	-	190,4
10	-	-	182,7	182,1
11	-	-	-	133,6
12	-	-	113,7	114,1
13	-	-	-	109,7
14	-	-	-	135,8
CH ₃	2,44 sl	2,44 s	22,0	22,3

NOTA: ^a Experimento de RMN realizado a 600,1 e 150,9 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3 . ^b Dados experimentais retirados dos experimentos bidimensionais de HSQC e HMBC. ^c Dados de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da emodina (400 e 100 MHz, respectivamente; CDCl_3) de acordo com Tangavelou et al (2018). Valores em ppm relativos ao sinal do TMS como referência interna.

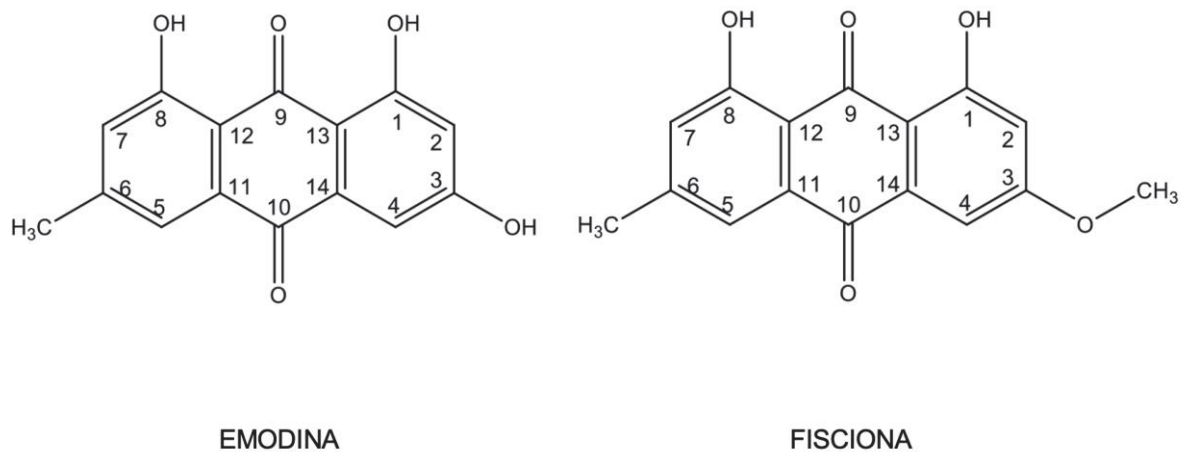
FIGURA 12 - ESPECTRO DE ^1H DA FISCIONA (^1H : 600,13 MHz; CDCl_3)

FONTE: A autora, 2020.

FIGURA 13 - ESPECTRO DE 1H DA EMODINA (1H: 600,13 MHz; CDCl₃)

FONTE: A autora, 2020.

FIGURA 14 - ESTRUTURA QUÍMICA DA EMODINA E DA FISCIONA



FONTE: A autora, 2020.

Uma tendência econômica atual é ressaltar os recursos naturais, e várias espécies de plantas são fontes ricas de antraquinonas. Estas são compostos naturais

que possuem muitas propriedades biológicas com subsequentes efeitos positivos e/ou negativos (DUVAL et al., 2016).

Dentre os compostos já isolados do ruibarbo, estão as antraquinonas, diantronas, antocianinas, polifenóis, estilbenos, flavonóides, ácidos orgânicos e cromona. Entre esses compostos, os derivados de antraquinona têm sido descritos como importantes componentes bioativos, incluindo a emodina, aloe-emodina, reína, crisopanól, fisciona e seus glicosídeos (FENG et al., 2017).

As antraquinonas podem ser utilizadas como agentes de cor (corantes naturais e sintéticos) e representam o maior grupo de corantes de quinona (DUVAL et al., 2016). No entanto, as antraquinonas também são responsáveis pelas funções terapêuticas tradicionais da planta (ZHAO et al., 2011). As plantas ricas em antraquinonas são utilizadas no tratamento de diversas doenças há séculos, em países como a China e a Coreia (XUNLI et al., 2019).

Além disso, são conhecidas como os ingredientes farmacodinâmicos da planta. Entre as espécies de ruibarbo, a proporção de antraquinonas varia entre 3 a 5% (CAO et al., 2017). As antraquinonas livres, estão presentes em quase todas as espécies, entre elas estão a emodina, reína, crisofanol e fisciona (ZHENG et al., 2013).

Conforme Cheng et al. (2019), estudos farmacológicos apresentaram que as antraquinonas derivadas do ruibarbo possuem uma diversidade de funções fisiológicas, incluindo propriedades antivirais, antioxidantes, antitumorais e capacidade de proteger os neurônios do córtex oxidativo cerebral.

Diante disso, é sabido que a fisciona inibe a resposta inflamatória depois da isquemia cerebral e reduz os danos nos nervos provocados pela reperfusão. A fisciona também possui efeitos antitumorais diante de várias células de carcinoma, agindo principalmente na indução de apoptose, alteração na progressão do ciclo celular e inibição da proliferação celular (CAO et al., 2017). Além disso, demonstrou atividades consideravelmente microbicidas contra várias bactérias, vírus e fungos. No entanto, em altas doses, a fisciona também causou nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e genotoxicidade (XUNLI et al., 2019).

Quanto a emodina, esta possui um amplo espectro de atividades biológicas, tais como antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana, anti-inflamatória e hepatoprotetora (TANGAVELOU et al., 2018). Além disso, uma revisão deste composto aborda sobre suas propriedades imunossupressoras, anti-diabéticas, antivirais e atividades de promoção da osteogênese. A emodina apresenta potencial

de se tornar um medicamento preventivo e terapêutico para o tratamento de doenças relacionadas as suas propriedades citadas (CUI et al., 2020).

Além disso, tem sido estudada e já foi isolada da espécie *Rheum palmatum* em estudos visando conhecer seu potencial anti-obesidade (LI et al., 2016a), hipoglicemiante (BAE et al., 2015; WANG et al., 2017), na melhora da resistência à insulina (CAO et al., 2016) e também anticancerígeno em diferentes linhagens de células tumorais (SHRIMALI et al., 2013).

A emodina e a fisciona são inibidoras de quinase e tirosinase, e demonstraram citotoxicidade contra células cancerígenas (DUVAL et al., 2016). De acordo com Moreira et al. (2018), estudos com ambas antraquinonas tem sido promissores e podem contribuir para a busca de novas oportunidades terapêuticas para carcinomas epidermóides cervicais e orais.

4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O termo “antioxidante” diz respeito a qualquer substância que pode remover, evitar ou retardar o dano oxidativo a uma molécula alvo (SIES, 2020). Os resultados de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante do caule do ruibarbo estão dispostos na TABELA 10.

TABELA 11 - COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO CAULE (EXTRATO E BASE SECA) E NA FOLHA (BASE SECA) DO RUIBARBO

Amostra	TTFN (mg AG/ 100g)	TTF (mg de EC/ 100g)	DPPH (mmol ET/ 100g)	FRAP (mmol ET/ 100g)	ABTS (mmol ET/ 100g)
EBEC	786,04 ± 55,36	404,89 ± 32,76	5,03 ± 0,40	4,86 ± 0,27	4,37 ± 0,58
BS Caule	303,04 ± 30,86	83,08 ± 46,96	2,27 ± 0,07	1,60 ± 0,07	2,14 ± 0,03
BS Folha	399,25 ± 32,17	73,33 ± 65,63	3,55 ± 0,16	2,78 ± 0,15	2,62 ± 0,15

*Valores representados como média ± desvio padrão. Em 100g de extrato seco.

Legenda: EBEC: extrato bruto etanólico do caule; BS: base seca; TTFN: teor total de fenólicos; TTF: teor total de flavonoides; DPPH: redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil; FRAP: poder antioxidante de redução do ferro; ABTS: captura do radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico; AG: ácido gálico; EC: equivalente de catequina; ET: equivalente de Trolox.

O EBEC do ruibarbo apresentou 786,04 mg AG/100g de fenólicos. Estudo que avaliou 29 variedades de ruibarbo quanto ao teor de compostos fenólicos, a média encontrada foi de 1714 mg AG/100g de peso seco, sendo que sete das variedades

apresentaram TTFN mais elevados que a couve, um vegetal reconhecido por seu alto teor de fenólicos (TAKEOKA et al., 2013). Variedades como *Loher Blut* e *Rheum officinale*, apresentaram teor de fenólicos totais de 673 ± 41 e 793 ± 11 mg AG/100g de peso seco, respectivamente (TAKEOKA et al., 2013). Segundo Zheng et al. (2013), 107 compostos fenólicos já foram identificados de espécies oficiais (*R. palmatum*, *R. tanguticum* e *R. officinale*) e não oficiais (*R. emodi*, *R. franzenbachii* e *R. hotaoense*) e 45 flavonoides já foram isolados.

O EBEC destacou-se nessas análises, demonstrando não somente maior conteúdo de fenólicos e flavonoides, como também maior atividade antioxidante. A capacidade antioxidante normalmente está correlacionada com o teor total de fenólicos em extratos. Isso pode ser justificado possivelmente pela formação complexa de alguns compostos fenólicos que são solúveis no metanol e no etanol (GHERAIBIA; BELATTAR; ABDEL-WAHAB, 2020). Além disso, o que pode fundamentar a diferença entre os resultados do extrato quando comparados a base seca, são o método e o tempo de extração e o solvente utilizado para o preparo do extrato (GHERAIBIA; BELATTAR; ABDEL-WAHAB, 2020).

Tendo em vista a funcionalidade benéfica à saúde dos compostos fenólicos, o consumo de vegetais tem sido correlacionado a redução de doenças associadas ao estresse oxidativo (JIMOH; ADEAPO; AFOLAYAN, 2011). Isto porque os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas que apresentam elevada atividade antioxidante, pois possuem capacidade de inativar cadeias de radicais livres, quelar íons metálicos e prevenir conversões de hidroperóxido em oxirradicais reativos (DATTA et al., 2019). Ademais, alguns fenólicos vegetais demonstram atividade antimicrobiana (JIMOH; ADEAPO; AFOLAYAN, 2011).

O TTF expresso em equivalentes de catequina obtido do EBEC do ruibarbo foi de 404,89 mg de EC/100g. Diante da literatura encontrada, este é o primeiro estudo que avalia o teor de flavonoides no caule desta espécie de ruibarbo. No entanto, avaliou-se o teor de flavonoides na espécie *Rheum ribes*, na qual encontrou-se no extrato de clorofórmio do caule 2010 mg de EC/100g e no extrato de metanol do caule 1366 mg de EC/100g (ÖZTÜRK et al., 2007).

O ruibarbo possui vários ingredientes ativos naturais valiosos, incluindo estilbenos, antraquinonas, diantronas e flavonoides, que colaboram para melhorar o estado de saúde de animais e humanos (KALISZ et al., 2019). Nas sementes de *R.*

palmatum já foram identificados e quantificados cinco flavonoides, sendo estes: epicatequina, miricetina, hiperósido, quercitrina e quercetina (TAN et al., 2014).

Os flavonoides são compostos polifenólicos que estão abundantemente presentes no reino das plantas. A análise do TTF vem sendo reconhecida pois seus compostos bioativos possuem efeitos fisiológicos relevantes na saúde humana, podendo contribuir com efeitos anti-inflamatórios em asma, doenças cardiovasculares, alergias alimentares e câncer (MALEKI; CRESPO; CABANILLAS, 2019). Além disso, os flavonoides são metabólitos secundários com atividade antioxidante, da qual a potência está sujeita a posição e ao número dos grupos OH livres (ARYAL et al., 2019). No entanto, conforme Kalisz et al. (2019), a data da colheita pode afetar significativamente o conteúdo de compostos polifenólicos em caules comestíveis de ruibarbo.

Quanto a quantidade de componentes antioxidantes em uma planta, alguns fatores podem afetar os resultados. Devem ser levados em consideração: metodologia de extração, parte da planta utilizada, eficiência do solvente para dissolver os componentes e disponibilidade de componentes extraíveis (DATTA et al., 2019).

Quanto às análises de atividade antioxidante, foram quantificados 5,03 mmol ET/100g no EBEC do ruibarbo pelo método de DPPH. Esta metodologia é considerada simples e portanto, bastante utilizada para estabelecer o potencial de eliminação de radicais dos extratos vegetais (ARYAL et al., 2019).

O poder redutor de Fe^{3+} para Fe^{2+} atua como um potencial indicador de atividade antioxidante. Esta transformação foi avaliada pelo método FRAP, o qual demonstrou 4,86 mmol ET/100g no EBEC do ruibarbo.

Já pelo método ABTS, o total encontrado foi de 4,37 mmol ET/100g. Segundo Takeoka et al. (2013), é difícil comparar resultados do método antioxidante ABTS devido as diferentes etapas aplicadas pelos autores. Tendo isso em vista, os autores analisaram diversas variedades de ruibarbo quanto à sua atividade antioxidante pelo método ABTS, mas seu método apresenta divergências quanto ao método aplicado neste trabalho (como por exemplo: comprimento de onda, solventes utilizados e proporções de ABTS na amostra testada).

Os antioxidantes naturais provenientes de vegetais, possuem um papel importante na proteção contra a ação de radicais livres. A ingestão de vegetais ricos em flavonoides e fenólicos com forte atividade antioxidante estão relacionados a uma menor ocorrência de câncer, diabetes, doenças neurodegenerativas e

cardiovasculares (ARYAL et al., 2019). Além disso, pressupõe-se que substâncias antioxidantes naturais, dado que acontecem em alimentos vegetais, são tidas como mais desejáveis do que suas contrapartes sintéticas (CHANWITHEESUK; TEERAWUTGULRAG; RAKARIYATHAM, 2005).

Diante disso, o teor considerável de TTFN e TTF do ruibarbo e seu elevado teor de compostos antioxidantes avaliados pelos métodos de DPPH, FRAP e ABTS. Com relação a isso, o ruibarbo pode ser uma planta em potencial para inúmeros benefícios à saúde como os descritos acima.

4.7 ANÁLISES BIOLÓGICAS

4.7.1 Ensaio de toxicidade preliminar frente à *Artemia salina*

Os resultados encontrados sugerem que o ruibarbo apresenta toxicidade preliminar quando em base seca, e aparentemente, conforme o tempo de cozimento sua toxicidade tende a diminuir. A TABELA 11 apresenta a CL₅₀ calculada pelo teste estatístico Probitos, no SPSS®, teste de Qui-quadrado e o intervalo de confiança de 95%.

TABELA 12 - ENSAIO DE MORTALIDADE DE ARTEMIA SALINA E CL₅₀ UTILIZANDO O CAULE EM BASE SECA DO RUIBARBO

Amostras	CL₅₀ (µg/mL)	Qui-quadrado	p valor (<0,05)
BS sem cozimento	480,81	4,017	0,547
BS cozida por 10'	657,890	25,367	0,000
BS cozida por 20'	864,950	62,370	0,000
Geleia	6156,698	4,197	0,521
EBEC	466,009	37,166	0,000

Legenda: BS: base seca; EBEC: extrato bruto etanólico do caule; CL₅₀: concentração letal 50%.

A base seca sem cozimento e o EBEC são considerados moderadamente tóxicos, e após o processo de cocção, as amostras de ruibarbo cozidas por 10 e 20 minutos, foram classificadas como levemente tóxicas. Já a geleia, que passou por um processo de tempo *versus* temperatura maior, não apresentou toxicidade. Isso pode significar que quanto mais tempo o ruibarbo ficar exposto à temperatura, menor a chance de apresentar toxicidade. Para esta classificação foi levado em consideração os parâmetros de CL₅₀, os quais são considerados sem toxicidade, quando forem

>1000 µg/mL; levemente tóxicos, valores entre 500 e 1000 µg/mL; valores entre 100 e 500 µg/mL, moderadamente tóxicos; e valores <100 são considerados altamente tóxicos (NGUTA et al., 2011).

Esta toxicidade presente na espécie pode estar relacionada com o teor de oxalato presente na planta. Conforme Chai e Liebman (2005), o caule de ruibarbo *in natura* apresenta teor total de oxalato de 532 mg/100g *in natura*, sendo reduzido para 505 mg quando cozido no vapor e 309 mg quando cozido em água. Da mesma forma, brócolis, espinafre, cenoura, beterraba, couve de Bruxelas, folhas de acelga verde e roxa, reduziram o teor de oxalato após ambos os processamentos.

Isso se confirma no estudo que avaliou o teor de oxalato no caule do ruibarbo *in natura*, cozido com leite desnatado e integral, e com água. Quando *in natura*, o teor total de oxalato encontrado foi de 902,7±33,5 mg/100g de peso fresco, quando cozido com leite desnatado 455,2±16,9, quando cozido com leite integral 454,2±4,4, e quando cozido com água 453,4±4,3. No entanto, ao realizar a digestão *in vitro*, o menor teor de oxalato disponível no estômago e no intestino foi quando cozido com o leite desnatado, devido ao seu maior teor de cálcio (NGUYEN; SAVAGE, 2011).

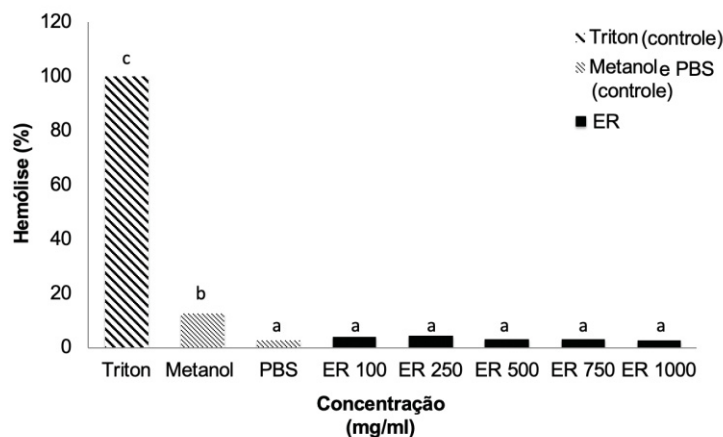
Sugere-se que os processamentos que aplicam calor auxiliam na diminuição do teor total de oxalato, e conseqüentemente, reduzem a toxicidade do alimento (CHAI; LIEBMAN, 2005). Sendo uma explicação para o ruibarbo cozido e para a geleia. No entanto, essa toxicidade presente no caule quando *in natura* não é um problema, tendo em vista que o ruibarbo é comumente consumido após o processamento e não cru (LIU et al., 2016).

Conforme Amarante et al. (2011), extratos de plantas e derivados que apresentam toxicidade frente à *A. salina* tem manifestado uma boa correlação com a atividade citotóxica em combate a tumores humanos. Também é considerado um bom indicador de toxicidade e útil para detecção de pesticidas e constituintes antitumorais (ALAM; US SAQIB, 2017). O microcrustáceo tem sido utilizado como organismo alvo para identificar compostos bioativos (AMARANTE et al., 2011). De acordo com Ferraz Filha et al. (2012), o teste de toxicidade preliminar é um método prático, seguro e econômico para definir a bioatividade de produtos vegetais. Seu objetivo principal é fornecer o parâmetro inicial para que, posteriormente, ensaios de toxicidade mais específicos possam ser realizados.

4.7.2 Atividade hemolítica

O teste de atividade hemolítica é uma boa forma de rastrear a citotoxicidade, devido à estabilidade mecânica da membrana eritrocítica (SHARMA; SHARMA, 2001). O resultado da atividade hemolítica da amostra analisada está na FIGURA 13. Este é um teste de triagem de toxicidade, o qual avalia a ação da amostra sobre o rompimento de eritrócitos, causando ou não hemólise. O Triton (0,1%) é o controle positivo, o qual hemolisou 100% do sangue, já a solução de PBS hemolisou 2,75% e o metanol 12,4%, sendo estes dois os controles negativos.

FIGURA 15 - ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO ETANÓLICO DO CAULE DO RUIBARBO COMPARADO COM OS CONTROLES



Legenda: ER: extrato etanólico do caule do ruibarbo; PBS: solução salina isotônica tamponada com fosfato isotônico.

As diferentes concentrações de EBEC do ruibarbo, que variaram entre 100-1000 $\mu\text{g/mL}$, não apresentaram relação dose-dependência, uma vez que não foi observada uma relação direta ou inversamente proporcional entre o aumento de concentrações e intensidades de hemólise.

Apesar de não ter sido encontrada toxicidade EBEC do ruibarbo, estudos apontam que o ruibarbo tem sua toxicidade reduzida após passar por algum tipo de processamento. Um estudo feito por Zhang et al. (2017) demonstrou que fermentação sólida bidirecional, método que utiliza crescimento de micróbios em materiais sólidos na ausência de líquido livre, é eficaz para reduzir a toxicidade do *R. palmatum*. Neste

caso, o fungo *Trametes robiniophila* Murr. foi inoculado no ruibarbo, e após a fermentação, os níveis de glicosídeos de antraquinona reduziram significativamente.

Outro estudo, realizado por Wang et al. (2014), comparou o ruibarbo *in natura* (*R. palmatum*) com o vinho de ruibarbo, vinagre de ruibarbo, preparado de ruibarbo e ruibarbo carbonizado. O ruibarbo *in natura* apresentou hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e reações gastrointestinais, em contrapartida, todos os outros itens processados tiveram toxicidade reduzida. Complementar a isso, Chen et al. (2018) abordaram sobre a redução da toxicidade do ruibarbo processando-o com vinho amarelo, podendo ser frito ou cozido no vapor. Quando processado destas formas demonstra efeito purgativo reduzido e estase sanguínea mais elevada que o ruibarbo *in natura*. Isto pode ser justificado devido o tratamento térmico, que é responsável por decompor as antraquinonas conjugadas. Além disso, o vinho é capaz de promover a dissolução dos ingredientes ativos, diminuindo assim a toxicidade do ruibarbo (CHEN et al., 2018).

Conforme Zhu et al. (2016), o processamento do ruibarbo diminui a toxicidade e conseqüentemente amplia sua aplicação clínica. Quando o ruibarbo é submetido a altas temperaturas (fervura, cozimento e fritura), o conteúdo de compostos bioativos e seu perfil químico são alterados. Além disso, o tratamento térmico do ruibarbo favorece a liberação de polifenóis, isso ocorre provavelmente devido a ligação de polifenóis com polissacarídeos (hemicelulose e celulose), que são liberados somente quando aquecidos (KALISZ et al., 2019).

4.7.3 Atividade antimicrobiana

O reino vegetal é uma rica fonte de diferentes agentes antimicrobianos. Isso porque são produzidos pela planta metabólitos secundários e outros produtos químicos para defesa contra o ataque microbiano (KHIVEH et al., 2017).

No experimento realizado, a emodina apresentou inibição do crescimento bacteriano de *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* com 25 µL, 50 µL e 100 µL. Já o EBEC inibiu a *Klebsiella pneumoniae* com 50 µL e 100 µL e o *Staphylococcus aureus* com 100 µL. Tanto a emodina quanto o EBEC apresentaram boa atividade antimicrobiana frente a essas duas bactérias. Diante da literatura encontrada, a emodina não havia sido testada contra esses microorganismos.

As antraquinonas já possuem ação antimicrobiana conhecida (DAYAN; CANTRELL; DUKE, 2009; CAO et al., 2017). O extrato etanólico de *R. palmatum* apresenta forte atividade antibacteriana, sendo que seus principais componentes ativos são as cinco hidroxiantraquinonas: emodina, reína, aloe-emodina, crisofanol e fisciona (WANG et al., 2010).

Um estudo avaliou o efeito das hidroxiantraquinonas contra a *Bifidobacterium adolescentis* e todas revelaram efeito inibitório sobre o crescimento, sendo a reína o componente ativo mais eficaz (WANG et al., 2010). Outro estudo avaliou a emodina isolada da espécie *Polygonum cuspidatum* que apresentou potencial efeito inibitório contra *Haemophilus parasuis in vitro* (LI et al., 2016b).

Além destes, Khiveh et al. (2017) verificaram que o xarope de *Rheum ribes* reduziu a duração da diarreia, febre e necessidade de antipiréticos contra a ação da *Shigella spp.*, podendo ser recomendado como tratamento complementar para shigelose.

Os produtos naturais vêm sendo utilizados no controle do desenvolvimento de doenças nas plantas e têm servido como uma importante área de exploração na busca de novos pesticidas (DAYAN; CANTRELL; DUKE, 2009).

Um trabalho de Shang et al. (2019) isolou 5 compostos ativos do *R. palmatum* para investigar suas atividades inseticidas e antifúngicas. Descobriu-se que os extratos de ruibarbo podem ser empregados como inseticidas naturais para proteção de culturas, sendo que a emodina mostrou atividade inseticida mais forte, seguida por crisofanol e fisciona contra *Nilaparvata lugens*. A emodina também exibiu grande toxicidade contra *Mythimna separata*, produzindo uma taxa de mortalidade de 88,33% a 1000 µg/mL por 72 horas (CL50, 548,74 µg/mL) e a fisciona 953,15 µg/mL.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo de PANCs permite a diversificação alimentar e a valorização da sociobiodiversidade brasileira. No entanto, torna-se necessário a disseminação do conhecimento científico quanto às suas formas de utilização e consumo, visando a segurança alimentar.

O consumo do caule do ruibarbo é seguro quando submetido ao processo de cocção à 70°C por mais de 20 minutos, como no caso da geleia. O caule apresenta baixo valor energético e elevado potencial antioxidante, além de ser rico em proteínas e minerais, como Mn, Ca, K e Cu. Os derivados antraquinônicos presentes na planta, principalmente a fisiona e a emodina, são de grande valia para tratamentos antibacterianos, antivirais e antitumorais. No entanto, os efeitos adversos das substâncias isoladas ainda exigem estudos mais aprofundados.

REFERÊNCIAS

- ADA. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, p. 1716–1731, 2008.
- AGNOLI, C. et al. Position paper on vegetarian diets from the working group of the Italian Society of Human Nutrition. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 27, p. 1037–1052, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2017.10.020>>.
- AICHNER, D.; GANZERA, M. Analysis of anthraquinones in rhubarb (*Rheum palmatum* and *Rheum officinale*) by supercritical fluid chromatography. **Talanta**, v. 144, p. 1239–1244, nov. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.08.011>>.
- AKAR, Z.; KÜÇÜK, M.; DOĞAN, H. A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 640–647, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/14756366.2017.1284068>>.
- ALAM, F.; US SAQIB, Q. N. Evaluation of *Zanthoxylum armatum* Roxb for in vitro biological activities. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, p. 515–518, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.01.006>>.
- ALMEIDA, L. da C. et al. *Rheum palmatum*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 61–64, 2007.
- AMARANTE, C. B. do et al. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, p. 431–434, 2011.
- ANVISA. Rotulagem nutricional obrigatória: manual de orientação às indústrias de alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária : Ministério da Saúde**, p. 44, 2005.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. **Association of Official Analysis Chemists International**, 2000.
- ARVINDEKAR, A. et al. Evaluation of anti-diabetic and alpha glucosidase inhibitory action of anthraquinones from *Rheum emodi*. **Food and Function**, v. 6, n. 8, p. 2693–2700, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/c5fo00519a>>.
- ARYAL, S. et al. Total Phenolic content, Flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from western Nepal. **Plants**, v. 8, n. 4, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/plants8040096>>.
- ASHAGRE, M.; ASFAW, Z.; KELBESSA, E. Ethnobotanical study of wild edible plants in Burji District, Segan Area Zone of Southern Nations, Nationalities and Peoples Region (SNNPR), Ethiopia. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 12, n. 32, p. 1–15, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13002-016-0103-1>>.
- ASLAM, F. et al. Antioxidant, haemolytic activities and GC-MS Profiling of *Carissa carandas* roots. **International Journal of Phytomedicine**, v. 3, n. 4, p. 567–578, 2011.
- ÁVILA, S. et al. Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin. **Food Research International**, v. 123, n. November 2018, p. 1–10, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.068>>.
- BACCHETTA, L. et al. A manifesto for the valorization of wild edible plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 191, p. 180–187, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.061>>.

- BAE, U. J. et al. Emodin isolated from *Rheum palmatum* prevents cytokine-induced β -cell damage and the development of type 1 diabetes. **Journal of Functional Foods**, v. 16, p. 9–19, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.016>>.
- BARBI, R. C. T. et al. *Eriobotrya japonica* seed as a new source of starch: Assessment of phenolic compounds, antioxidant activity, thermal, rheological and morphological properties. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 646–658, 2018.
- BASU, T. K.; OORAIKUL, B.; GARG, M. The lipid-lowering effects of rhubarb stalk fiber: a new source of dietary fiber. **Nutrition Research**, v. 13, p. 1017–1024, 1993.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.
- BHATIA, H. et al. Traditionally used wild edible plants of district Udhampur, J&K, India. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 14, n. 73, p. 2455–4898, 2018.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.
- BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, 1958.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- CAMARGO, O. A. et al. **Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 2009. v. 106
- CAO, Y. et al. Emodin ameliorates high-fat-diet induced insulin resistance in rats by reducing lipid accumulation in skeletal muscle. **European Journal of Pharmacology**, v. 780, p. 194–201, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299916301789>>.
- CAO, Y. J. et al. Advances in bio-active constituents, Pharmacology and clinical applications of rhubarb. **Chinese Medicine**, v. 12, n. 36, p. 1–12, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13020-017-0158-5>>.
- CAPRIOLI, G. et al. Optimization of an extraction procedure for the simultaneous quantification of riboflavin, nicotinamide and nicotinic acid in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 23–29, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.11.004>>.
- CARVALHO, J. L. de S. **Contribuição ao Estudo Fitoquímico e Análítico do *Nasturtium officinale* R. BR., Brassicaceae**. 2001. Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2001.
- CHAI, W.; LIEBMAN, M. Effect of different cooking methods on vegetable oxalate content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 3027–3030, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf048128d>>.
- CHANWITHEESUK, A.; TEERAWUTGULRAG, A.; RAKARIYATHAM, N. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. **Food Chemistry**, v. 92, p. 491–497, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.035>>.
- CHEEMA, S. K. et al. Dietary rhubarb (*Rheum raphaniticum*) stalk fibre does not lower plasma cholesterol levels in diabetic rats. **British Journal of Nutrition**, v. 89, p. 201–206, 2003.
- CHEN, L. L. et al. Effects of processing adjuvants on traditional Chinese herbs. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, p. S96–S114, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.02.004>>.

CHENG, F.-R. et al. Ameliorative effect and mechanism of the purified anthraquinone-glycoside preparation from *Rheum palmatum* L. on type 2 diabetes mellitus. **Molecules**, v. 24, p. 1–14, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/molecules24081454>>.

CLEGG, D. J.; HEADLEY, S. A.; GERMAIN, M. J. Impact of Dietary Potassium Restrictions in CKD on Clinical Outcomes: Benefits of a Plant-Based Diet. **Kidney Medicine**, v. 2, n. 4, p. 476–487, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590059520301096>>.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 5. ed. Barueri, SP: Manole, 2016.

CUI, Y. et al. The pharmacology, toxicology and therapeutic potential of anthraquinone derivative emodin. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 18, n. 6, p. 425–435, 2020. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(20\)30050-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(20)30050-9)>.

CULPEPPER, C. W.; CALDWELL, J. S. Relation of age and of seasonal conditions to composition of root, petiole, and leaf blade in rhubarb. **Plant Physiology**, v. 7, n. 3, p. 447–479, 1932.

DAI, G. et al. Emodin suppresses growth and invasion of colorectal cancer cells by inhibiting VEGFR2. **European Journal of Pharmacology**, v. 859, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172525>>.

DANIELSEN, K.; AKSNES, D. W.; FRANCIS, G. W. NMR study of some anthraquinones from Rhubarb. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 30, p. 359–363, 1992.

DARROZ, J. V. et al. Utilização de fitoterápicos no tratamento de constipação intestinal. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 18, n. 2, p. 113–119, 16 jul. 2015. Disponível em: <<http://www.revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/5176>>.

DATTA, S. et al. Nutritional composition, mineral content, antioxidant activity and quantitative estimation of water soluble vitamins and phenolics by RP-HPLC in some lesser used wild edible plants. **Heliyon**, v. 5, p. 1–37, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01431>>.

DAVEY, M. W. et al. Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 825–860, 2000.

DAWSON, I. K. et al. Contributions of biodiversity to the sustainable intensification of food production. **Global Food Security**, v. 21, p. 23–37, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.07.002>>.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4022–4034, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2009.01.046>>.

DOLAN, L. C.; MATULKA, R. A.; BURDOCK, G. A. Naturally occurring food toxins. **Toxins**, v. 2, p. 2289–2332, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/toxins2092289>>.

DONATO, E. M.; ZANOTTO, Â. R.; BERGOLD, A. M. CLAE-PI aplicada ao doseamento de vitaminas do complexo B em misturas: fundamentação e validação de método. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 363–371, 2004.

DUBOIS, M. et al. A colorimetric method for the determination of sugars. **Nature**, n. 4265, p. 167, 1951.

DUVAL, J. et al. Research advances for the extraction, analysis and uses of

- anthraquinones: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 812–833, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.056>>.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Method 3051A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils**. Revision 1 ed. Washington, DC: U.S., 2007.
- EVANS, L. W. et al. Emodin and emodin-rich rhubarb inhibits histone deacetylase (HDAC) activity and cardiac myocyte hypertrophy. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 79, p. 1–11, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108339>>.
- FANG, L. et al. Anticancer activity of emodin is associated with downregulation of CD155. **International Immunopharmacology**, v. 75, p. 57–63, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.105763>>.
- FAO. Biodiversity and nutrition: a common path. In: **Biodiversity in sustainable diets**. Rome: FAO Headquarters, 2010.
- FAO. **Food And Agriculture Organization Of The United Nations. Codex Alimentarius International Food Standards**. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius>>.
- FENG, S. et al. Simultaneous Determination of 10 Anthraquinones in Rhubarb Based on HPLC-Q-HR/MS. **Chinese Herbal Medicines**, v. 9, n. 4, p. 388–395, 2017. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1674-6384\(17\)60120-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1674-6384(17)60120-5)>.
- FERRAZ FILHA, Z. S. et al. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) bioassay of extracts from *Lychnophoriopsis candelabrum* and different *Lychnophora* species. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 358–361, 2012.
- FIRMO, W. da C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de pesquisa**, v. 18, p. ISSN 2178-2229, 2011.
- FLORA DO BRASIL. **Flora do Brasil 2020 under construction. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 3 nov. 2020.
- FOUST, C. M.; MARSHALL, D. E. Culinary Rhubarb Production in North America: History and Recent Statistics. **HortScience**, v. 26, n. 11, p. 1360–1363, 1991. Disponível em: <<https://doi.org/10.21273/hortsci.26.11.1360>>.
- GARCÍA-CRUZ, L. et al. Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. Pruinus* and *S. stellatus*). **Food Chemistry**, v. 234, p. 111–118, 2017.
- GE, W.; LIU, W.; LIU, G. The relationships between serum copper levels and overweight/total obesity and central obesity in children and adolescents aged 6-18 years. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 61, p. 1–7, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126557>>.
- GHERRAIBIA, S.; BELATTAR, N.; ABDEL-WAHHAB, M. A. HPLC analysis, antioxidant and cytotoxic activity of different extracts of *Costus speciosus* against HePG-2 cell lines. **South African Journal of Botany**, v. 131, p. 222–228, 2020.
- GHORBANI, A.; AMIRI, M. S.; HOSSEINI, A. Pharmacological properties of *Rheum turkestanicum* Janisch. **Heliyon**, v. 5, p. 1–8, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01986>>.
- GOEL, V.; OORAIKUL, B.; BASU, T. K. Cholesterol lowering effects of rhubarb stalk fiber in hypercholesterolemic men. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 16, n. 6, p. 600–604, 1997.
- GONZALEZ-REYES, R. E.; GUTIERREZ-ALVAREZ, A. M.; MORENO, C. B. Manganese and epilepsy: A systematic review of the literature. **Brain Research Reviews**, v. 53, p. 332–336, 2007.

- GUO, Q. et al. Potentiation of the effect of gemcitabine by emodin in pancreatic cancer is associated with survivin inhibition. **Biochemical Pharmacology**, v. 77, p. 1674–1683, 2009.
- HANZLICEK, A. S. et al. The Effect of Chinese Rhubarb, *Rheum officinale*, with and without Benazepril on the Progression of Naturally Occurring Chronic Kidney Disease in Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 4, p. 1221–1228, 2014.
- HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027–1031, 2002.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. [s.l.: s.n.]
- IOM. **Dietary Reference Intakes (DRI): the essential guide to nutrient requirements**. Washington, DC: Institute of Medicine (IOM), 2006.
- JECFA. Safety evaluation of certain contaminants in food. **JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**, p. 605–684, 2011. Disponível em: <<https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx?fcc=2>>.
- JIMOH, F. O.; ADEAPO, A. A.; AFOLAYAN, A. J. Comparison of the nutritive value, antioxidant and antibacterial activities of *Sonchus asper* and *Sonchus oleraceus*. **Records of Natural Products**, v. 5, n. 1, p. 29–42, 2011.
- KALISZ, S. et al. Effect of a variety of polyphenols compounds and antioxidant properties of rhubarb (*Rheum rhabarbarum*). **LWT**, 2019.
- KASAI, A. et al. Hepatotoxicidade de plantas medicinais. Lx. Ação da infusão de *Rheum palmatum* L no rato. **Investigação - Revista científica da Universidade de Franca**, v. 7, n. 1/3, p. 79–86, 2007.
- KE, W. et al. Effects of copper and mineral nutrition on growth, copper accumulation and mineral element uptake in two *Rumex japonicus* populations from a copper mine and an uncontaminated field sites. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 59–67, 2007.
- KHIVEH, A. et al. Effects of rhubarb (*Rheum ribes* L.) syrup on dysenteric diarrhea in children: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of Integrative Medicine**, v. 15, n. 5, p. 365–372, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095496417603443>>.
- KIM, Y.; JE, Y. Dietary fibre intake and mortality from cardiovascular disease and all cancers: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Archives of Cardiovascular Disease**, v. 109, p. 39–54, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.acvd.2015.09.005>>.
- KINUPP, V. F. **Plantas Alimentícias Não-Convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS**. 2007. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.
- KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. de. Riqueza de Plantas Alimentícias Não-Convencionais na Região Metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 63–65, 2007.
- KISSINI, N. et al. Parkinsonism and chronic manganese exposure: Pilot study with clinical, environmental and experimental evidence. **Clinical Parkinsonism & Related Disorders**, v. 3, p. 100057, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.prdoa.2020.100057>>.
- KRAFCZYK, N. et al. Phenolic composition of rhubarb. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 2, p. 187–196, 2008.
- LATIF, S.; MÜLLER, J. Potential of cassava leaves in human nutrition: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 147–158, 2015.

- LEE, W. et al. Anti-obesity and hypolipidemic effects of Rheum undulatum in high-fat diet-fed C57BL/6 mice through protein tyrosine phosphatase 1B inhibition. **BMB Reports**, v. 45, n. 3, p. 141–146, 2012.
- LI, J. et al. Emodin improves lipid and glucose metabolism in high fat diet-induced obese mice through regulating SREBP pathway. **European Journal of Pharmacology**, v. 770, p. 99–109, 2016a. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299915303836>>.
- LI, K. et al. The good, the bad, and the ugly of calcium supplementation: A review of calcium intake on human health. **Clinical Interventions in Aging**, v. 13, p. 2443–2452, 2018.
- LI, L. et al. The antibacterial activity and action mechanism of emodin from Polygonum cuspidatum against Haemophilus parasuis in vitro. **Microbiological Research**, v. 186–187, p. 139–145, 2016b.
- LI, X. et al. Neuroprotective Effects of Anthraquinones from Rhubarb in Central Nervous System Diseases. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 1–12, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2019/3790728>>.
- LIU, Y. et al. Global metabolite profiling and diagnostic ion filtering strategy by LC-QTOF MS for rapid identification of raw and processed pieces of Rheum palmatum L. **Food Chemistry**, v. 192, p. 531–540, 2016.
- LÓPEZ-MUÑOZ, F.; ALAMO, C.; GARCÍA-GARCÍA, P. “The herbs that have the property of healing...”: The phytotherapy in Don Quixote. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 429–441, 2006.
- LORENZI, H.; KINUPP, V. F. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014.
- LU, K. et al. Rhubarb extract has a protective role against radiation-induced brain injury and neuronal cell apoptosis. **Molecular medicine reports**, v. 12, n. 2, p. 2689–2694, 2015.
- LUCZAJ, L. et al. Wild food plant use in 21st century Europe: The disappearance of old traditions and the search for new cuisines involving wild edibles. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 81, n. 4, p. 359–370, 2012.
- MALEKI, S. J.; CRESPO, J. F.; CABANILLAS, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. **Food Chemistry**, v. 299, n. July, 2019.
- MELO, E. de. Flora das cangas da serra dos carajás, Pará, Brasil: Portulacaceae. **Rodriguesia**, v. 69, n. 1, p. 189–195, 2018.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 5, p. 31–34, 1982.
- MILLENA, C. G.; SAGUM, R. S. Philippine Pili (Canarium ovatum, Engl.) varieties as source of essential minerals and trace elements in human nutrition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 69, p. 53–61, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.02.008>>.
- MOREIRA, T. F. **Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades biológicas de Rhamnus sphaerosperma var. pubescens (Rissek) M.C. Johnst. (Rhamnaceae)**. 2012. Universidade Federal do Paraná, 2012.
- MOREIRA, T. F. et al. Emodin, physcion, and crude extract of Rhamnus sphaerosperma var. pubescens induce mixed cell death, increase in oxidative stress, DNA damage, and inhibition of AKT in cervical and oral squamous carcinoma cell lines. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 2018.
- MULLER, H. G.; TOBIN, G. **Nutrition and Food Processing**. [s.l.]: Croom Helm Ltd., 1980.

- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 153, p. 375–380, 1944. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-94-007-0753-5_100521>.
- NGUTA, J. M. et al. Biological screening of Kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v. 2, p. 458–478, 2011.
- NGUYEN, H.; SAVAGE, G. Oxalate availability in raw and cooked rhubarb. **Proceeding of the Nutrition Society of New Zealand**, v. 35, p. 20–24, 2011.
- OLIVEIRA, V. B. et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 170–179, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.03.011>>.
- OMS ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Sodium intake for adults and children**. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241504836>>.
- OSBORNE, D. R.; VOOGT, P. **The analysis of nutrient in foods**. London: Academic Press, 1978.
- ÖZTÜRK, M. et al. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. **Food Chemistry**, v. 103, p. 623–630, 2007.
- PANTELIĆ, M. M. et al. Identification and quantification of phenolic compounds in berry skin, pulp, and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. **Food Chemistry**, v. 211, p. 243–252, 2016.
- PENG, Y. et al. Gut Microbial Diversity in Rat Model Induced by Rhubarb. **Experimental Animals**, v. 63, n. 4, p. 415–422, 2014.
- PEREIRA, P. E. E. **Estudo do gênero Polygonum L. (Polygonaceae) em áreas úmidas do extremo sul do Brasil**. 2014. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.
- PIEKARSKI, P. **Análise nutricional e fitoquímica de frutos da Morus nigra L.** 2013. Universidade Federal do Paraná, 2013.
- PINELA, J.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Wild edible plants: Nutritional and toxicological characteristics, retrieval strategies and importance for today's society. **Food and Chemical Toxicology**, v. 110, n. September, p. 165–188, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.020>>.
- POPOVIĆ, B. M. et al. Comparison between polyphenol profile and bioactive response in blackthorn (*Prunus spinosa* L.) genotypes from north Serbia-from raw data to PCA analysis. **Food Chemistry**, v. 302, p. 1–10, 2020.
- PROSKY, L. et al. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v. 75, n. 2, p. 360–367, 1992.
- RAHA, S. et al. Is copper beneficial for COVID-19 patients? **Medical Hypotheses**, v. 142, p. 109814, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987720308136>>.
- RAI, P. K. et al. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. **Environment International**, v. 125, p. 365–385, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>>.
- RANFA, A.; BODESMO, M. An Ethnobotanical investigation of traditional knowledge and uses of edible wild plants in the Umbria Region, Central Italy. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 90, p. 246–258, 2017.
- RANIERI, G. R. Guia prático sobre PANCs: plantas alimentícias não convencionais. **Instituto Kairós**, v. 1, p. 1–44, 2017. Disponível em: <<https://institutokairos.net/wp-content/uploads/2017/08/Cartilha-Guia-Prático-de-PANC-Plantas-Alimenticias-Nao-Convencionais.pdf>>.
- RASOOL, S. et al. Anticonvulsant, antimicrobial and cytotoxic activities of berberis

- calliobotrys aitch ex koehne (Berberidaceae). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 11, p. 2031–2039, 2015.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.
- RENNA, M. et al. Elemental characterization of wild edible plants from countryside and urban areas. **Food Chemistry**, v. 177, p. 29–36, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.069>>.
- REYES-GARCÍA, V. et al. From famine foods to delicatessen: Interpreting trends in the use of wild edible plants through cultural ecosystem services. **Ecological Economics**, v. 120, p. 303–311, 2015.
- SANZ, P.; REIG, R. **Clinical and pathological findings in fatal plant oxalosis: A review** **The American Journal of Forensic Medicine and Pathology**, 1992. .
- SCHULP, C. J. E.; THUILLER, W.; VERBURG, P. H. Wild food in Europe: A synthesis of knowledge and data of terrestrial wild food as an ecosystem service. **Ecological Economics**, v. 105, p. 292–305, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2014.06.018>>.
- SHANG, X. F. et al. Insecticidal and antifungal activities of Rheum palmatum L. anthraquinones and structurally related compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 508–520, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.055>>.
- SHARMA, P.; SHARMA, J. D. In vitro hemolysis of human erythrocytes - by plant extracts with antiplasmodial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 239–243, 2001.
- SHELEF, O.; WEISBERG, P. J.; PROVENZA, F. D. The value of native plants and local production in an era of global agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–15, 2017.
- SHRIMALI, D. et al. Targeted abrogation of diverse signal transduction cascades by emodin for the treatment of inflammatory disorders and cancer. **Cancer Letters**, v. 341, n. 2, p. 139–149, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383513005983>>.
- SIES, H. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. **Antioxidants**, v. 9, n. 852, p. 1–6, 2020.
- SILVEIRA, J. P. S. et al. Photoprotective and antioxidant effects of Rhubarb: Inhibitory action on tyrosinase and tyrosine kinase activities and TNF- α , IL-1 α and α -MSH production in human melanocytes. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 2, 2013.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2010.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SINGH, P. et al. Quantification of mineral elements of rheum emodi Wallr. (Polygonaceae). **Biological Trace Element Research**, v. 138, p. 293–299, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12011-009-8603-7>>.
- SINGH, P. et al. Determination of trace elements in Rheum moorcroftianum by AAS. **Natural Product Research**, v. 26, n. 2, p. 161–166, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2010.536764>>.
- SINGLENTON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

- SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. **Journal of Biological Chemistry**, v. 160, p. 61–68, 1945.
- SOUSA, O. V. et al. Avaliação da qualidade de matérias-primas de ruibarbo utilizadas em formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 30–34, 2003.
- TAKEOKA, G. R. et al. Antioxidant activity, phenolic and anthocyanin contents of various rhubarb (*Rheum* spp.) varieties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 172–178, 2013.
- TAN, L. et al. Simultaneous identification and quantification of five flavonoids in the seeds of *Rheum palmatum* L. by using accelerated solvent extraction and HPLC–PDA–ESI/MSn. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, p. 1345–1352, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.10.038>>.
- TANGAVELOU, A. et al. Phytochemical Analysis in the Leaves of *Chamaecrista nigricans* (Leguminosae). **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 09, n. 03, p. 1–5, 2018. Disponível em: <10.4172/2153-2435.1000582>.
- TBCA. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tbca>>.
- TEIXEIRA, N. et al. Edible fruits from Brazilian biodiversity: A review on their sensorial characteristics versus bioactivity as tool to select research. **Food Research International**, v. 119, n. January, p. 325–348, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.058>>.
- TUNCTURK, M.; CELEN, A. E.; TUNCTURK, R. Nutrient content of three edible wild plants from polygonaceae family. **Oxidation Communications**, v. 40, n. 1–II, p. 327–334, 2017.
- USDA. **United States Department of Agriculture (USDA)**. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/>>.
- VASAS, A.; ORBÁN-GYAPAI, O.; HOHMANN, J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 175, p. 198–228, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.001>>.
- VEERASWAMI, B.; NAGESWARA RAO, G. Toxicity and chemical species of bioactive manganese material. **Materials Today: Proceedings**, p. 1–3, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.418>>.
- VEIGA, A. et al. Colorimetric microdilution assay: Validation of a standard method for determination of MIC, IC50%, and IC90% of antimicrobial compounds. **Journal of Microbiological Methods**, v. 162, n. March, p. 50–61, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.05.003>>.
- WANG, J. et al. Microcalorimetric assay on the antimicrobial property of five hydroxyanthraquinone derivatives in rhubarb (*Rheum palmatum* L.) to *Bifidobacterium adolescentis*. **Phytomedicine**, v. 17, n. 8–9, p. 684–689, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2009.10.009>>.
- WANG, J. B. et al. Toxic effects caused by rhubarb (*Rheum palmatum* L.) are reversed on immature and aged rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, p. 216–220, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2010.12.008>>.
- WANG, S. et al. Diagnosis and treatment of novel coronavirus pneumonia based on the theory of traditional Chinese medicine. **Journal of Integrative Medicine**, p. 1–8, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.joim.2020.04.001>>.
- WANG, Y. et al. Phylogenetic and morphological identification of the novel pathogen of *Rheum palmatum* leaf spot in Gansu, China. **Mycobiology**, v. 44, n. 2, p. 93–98, 2016.

- WANG, Z. et al. Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole\time-of- flight mass spectrometry with multivariate statistical analysis for exploring potential chemical markers to distinguish between raw and processed *Rheum palmatum*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2014.
- WANG, Z. et al. Screening of a natural compound library identifies emodin, a natural compound from *Rheum palmatum* linn that inhibits DPP4. **PeerJ**, v. 2017, n. 5, p. 1–14, 2017.
- XU, X. et al. Rhein exhibits antioxidative effects similar to Rhubarb in a rat model of traumatic brain injury. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 1–9, 2017.
- XUNLI et al. Physcion and physcion 8-O- β -glucopyranoside: A review of their pharmacology, toxicities and pharmacokinetics. **Chemico-Biological Interactions**, v. 310, p. 1–10, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.06.035>>.
- YANG, L. et al. Toxicity of mercury: Molecular evidence. **Chemosphere**, v. 245, 2020.
- ZHANG, C. E. et al. Untargeted metabolomics reveals dose-response characteristics for effect of rhubarb in a rat model of cholestasis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, n. MAR, p. 1–14, 2016.
- ZHANG, Y. et al. Bidirectional solid fermentation using *Trametes robiniophila* Murr. for enhancing efficacy and reducing toxicity of rhubarb (*Rheum palmatum* L.). **Journal of Traditional Chinese Medical Sciences**, v. 4, p. 306–313, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtcms.2017.07.010>>.
- ZHAO, L. C. et al. The use of response surface methodology to optimize the ultrasound-assisted extraction of five anthraquinones from *rheum palmatum* L. **Molecules**, v. 16, p. 5928–5937, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/molecules16075928>>.
- ZHENG, Q. et al. Review of Rhubarbs: Chemistry and Pharmacology. **Chinese Herbal Medicines**, v. 5, n. 1, p. 9–32, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.7501/j.issn.1674-6384.2013.01.003>>.
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.
- ZHU, T. et al. Profiling and analysis of multiple compounds in rhubarb decoction after processing by wine steaming using UHPLC–Q-TOF-MS coupled with multiple statistical strategies. **Journal of Separation Science**, v. 39, p. 3081–3090, 2016.

ANEXO 1 – IDENTIFICAÇÃO DO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL



Prefeitura Municipal de Curitiba
Secretaria Municipal do Meio Ambiente
Superintendência de Obras e Serviços
Departamento de Produção Vegetal
Divisão do Museu Botânico Municipal
Herbário MBM

Curitiba, 07 de agosto de 2019

DECLARAÇÃO

Declaro para os fins que se fizerem necessários que determinei por análise comparativa uma exsicata de *Rheum palmatum* L., pertencente à Família Polygonaceae, material botânico coletado por Andressa Kudiess, no Município de Mandirituba, Estado do Paraná, Brasil.

O material depositado utilizado para comparação está tombado no Herbário do Museu Botânico Municipal, MBM, sob número MBM-295032.

Por ser verdade, firmo a presente.

JOSÉ TADEU WEIDLICH MOTTA
Vice-Curador do Herbário MBM

ANEXO 2 – AUTORIZAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº AC1A9A5

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AC1A9A5**
 Usuário: **Claudia Hecke**
 CPF/CNPJ: **845.261.659-72**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Rheum palmatum

Título da Atividade: **Caracterização nutricional de ruibarbo (Rheum palmatum)**

Equipe

Claudia Hecke	UFPR
Andressa Kudiess	UFPR
Maria Luiza de Freitas	UFPR

Data do Cadastro: **08/11/2018 10:25:01**

Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **10:39** de **21/11/2018**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**