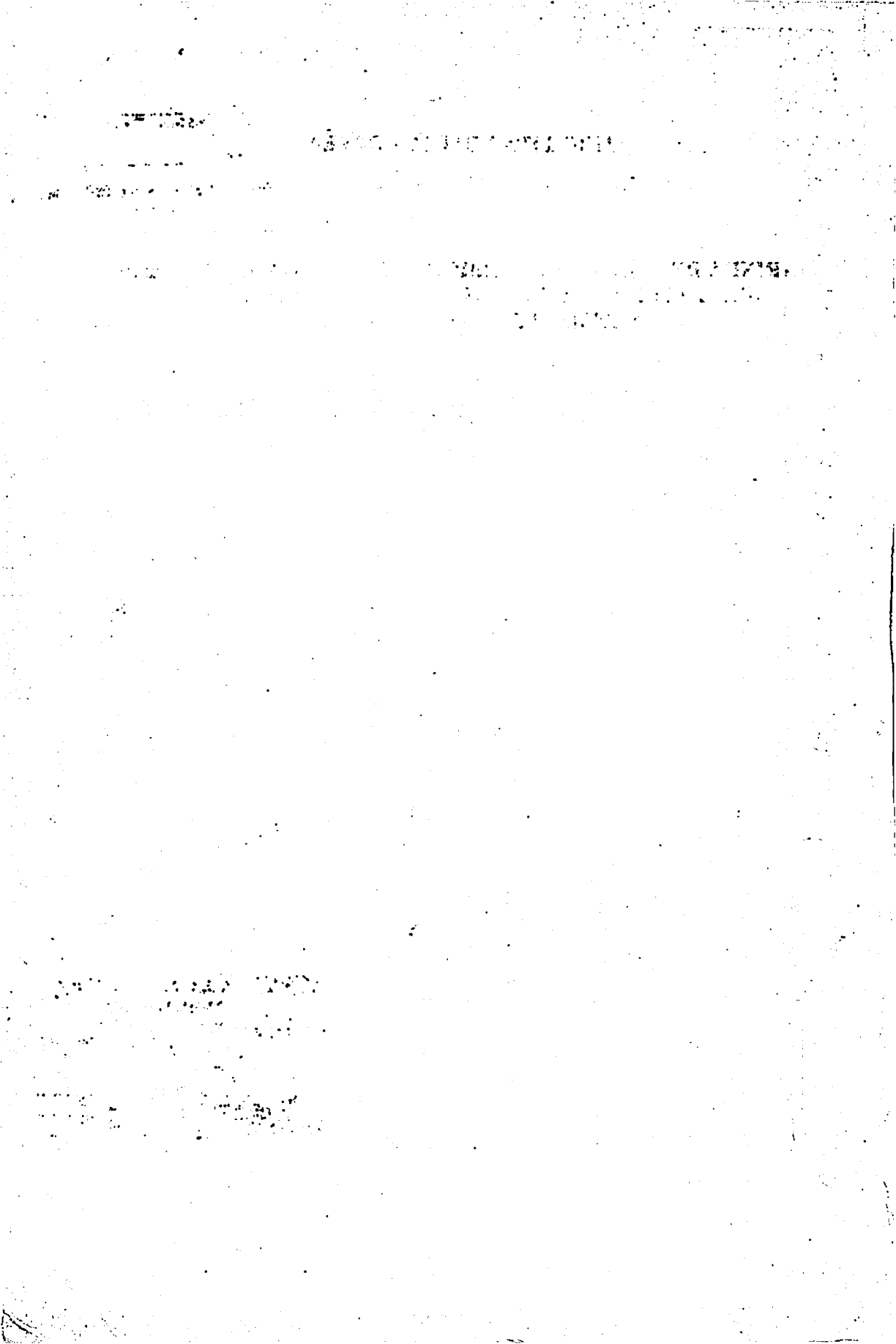


FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA
(Manihot esculenta Crantz cv. Baiana) – EFEITO
DE PROCESSAMENTOS SOBRE ALGUNS
NUTRIENTES E ANTINUTRIENTES

ANGELITA DUARTE CORRÊA

2000



ANGELITA DUARTE CORRÊA

**FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA – (*Manihot esculenta* Crantz cv.
Baiana) EFEITO DE PROCESSAMENTOS SOBRE ALGUNS
NUTRIENTES E ANTINUTRIENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Química, Físico-Química e Bioquímica de Alimentos, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora

Profa. Dra. Vânia Déa de Carvalho

**LAVRAS
MINAS GERAIS- BRASIL
2000**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Corrêa, Angelita Duarte

Farinha de folhas de mandioca – (*Manihot esculenta* Crantz cv. Baiana) -
efeito de processamentos sobre alguns nutrientes e antinutrientes / Angelita Duarte
Corrêa. -- Lavras : UFLA, 2000.

108 p. : il.

Orientadora: Vânia Déa de Carvalho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Folha de mandioca. 2. Secagem. 3. Nutriente. 4. Antinutriente.
5. Remoção de polifenóis. 6. Digestibilidade protéica. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD-641.33682
-664.23


ANGELITA DUARTE CORRÊA

FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA – (*Manihot esculenta* Crantz cv. Baiana) EFEITO DE PROCESSAMENTOS SOBRE ALGUNS NUTRIENTES E ANTINUTRIENTES

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Química, Físico-Química e Bioquímica de Alimentos, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 14 de julho de 2000

Dra. Lieselotte Jokl	UFMG
Dra. Ana Maria Dantas Barros	UFMG
Dra. Celeste Maria Patto de Abreu	UFLA
Dra. Maria de Fátima Píccolo Barcelos	UFLA
Dr. Custódio Donizete dos Santos	UFLA


p/ **Prof. Dra. Vânia Déa de Carvalho**
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS- BRASIL

**À minha mãe, pelo apoio que sempre me dispensou
e por sua fonte inesgotável de compreensão,
carinho e amor.**

**Ao Amon, pelo estímulo e compreensão,
que foram imprescindíveis nessa
minha caminhada.**

**Ao meu pequeno Plínio,
por sua presença e amor.**

**Aos meus irmãos, Danilo, Edson e Fátima,
pela amizade e por acreditarem que
eu venceria mais esta etapa.**

**À memória do meu cunhado Gilberto,
por sua grandeza de espírito.**

DEDICO

SOU AGRADECIDA

A Deus, por ser a luz do meu caminho.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade concedida para a realização do curso de doutorado e à FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

À Profa. Dra. Vânia Déa de Carvalho, que me recebeu com amizade e carinho, e me orientou com total apoio e confiança.

Ao Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos, por ter incorporado a este trabalho sua experiência com enzimas, por suas sugestões e amizade.

À Profa. Dra. Lieselotte Jokl, por suas valiosas sugestões na redação da tese e, sobretudo, por sua eterna amizade.

À Profa. Dra. Ana Maria Dantas Barros pelas sugestões, apoio e eterna amizade.

Ao Departamento de Química/UFLA, pelo apoio institucional e pela ajuda incondicional de seus professores e ao corpo docente do Departamento de Ciência dos Alimentos, pelos ensinamentos e amizade.

Aos técnicos de laboratório do DQI/UFLA e às técnicas Constantina Maria Braga Torres (Tina) e Sandra Mara Lacerda Silva, do DCA/UFLA pelo apoio na realização das análises de alguns nutrientes, pela atenção e amizade.

Aos ex-alunos e companheiros de trabalho, Alessandro, Andréa e Silvano, que participaram e compartilharam comigo, lado a lado, em mais esta etapa.

Às secretárias Vera Lúcia Pereira (DQI/UFLA) e Gicelda Aparecida de Souza (DCA/UFLA), que sempre me atenderam com eficiência, amizade e carinho.

Aos funcionários da Biblioteca/UFLA, em especial José Maria dos Santos, pela atenção, competência e presteza com que sempre me atenderam.

Aos colegas de curso, pelos momentos alegres, troca de experiências e amizade e a todos os amigos, em especial à Alzira, Ana Maria, Celeste, Célia, Dôra, Lis e Noélia, que acompanharam esta batalha, me estimulando, torcendo e acreditando que eu venceria mais esta etapa.

À Profa. Dra. Janice Guedes de Carvalho, que certa vez me estimulou e incentivou a colocar meus planos em prática, o que resultou na concretização do curso de doutorado.

Enfim, à todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que as metas deste trabalho fossem atingidas.

SUMÁRIO

Página

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1	01
1 INTRODUÇÃO GERAL	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	05
2.1 Fatores nutricionais	05
2.2 Fatores antinutricionais	17
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
CAPÍTULO 2 – FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA I – EFEITO DA SECAGEM DAS FOLHAS SOBRE A ATIVIDADE DA LINAMARASE	44
RESUMO	44
ABSTRACT	46
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1 Etapa I	50
2.2 Etapa II	51
2.2.1 Análises químicas	52
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4 CONCLUSÃO	60
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

CAPÍTULO 3 – FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA II – EFEITO DA SECAGEM DAS FOLHAS SOBRE OS NÍVEIS DE ALGUNS NUTRIENTES E ANTINUTRIENTES	64
RESUMO	64
ABSTRACT	66
1 INTRODUÇÃO	68
2 MATERIAL E MÉTODOS	71
2.1 Coleta e preparo da amostra	71
2.2 Análises químicas	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
4 CONCLUSÃO	79
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
CAPÍTULO 4 – FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA III – EFEITO DA REMOÇÃO DE POLIFENÓIS SOBRE A DIGESTIBILIDADE PROTÉICA IN VITRO	85
RESUMO	85
ABSTRACT	87
1 INTRODUÇÃO	89
2 MATERIAL E MÉTODOS	90
2.1 Coleta e preparo da amostra	90
2.2 Análises químicas	90
2.3 Remoção de polifenóis	91
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	92
3.1 Tempo gasto para a secagem das folhas	92

3.2 Remoção dos polifenóis	92
3.3 Polifenóis versus digestibilidade protéica in vitro	93
3.4 Nutrientes e antinutrientes das farinhas de folhas colhidas em dois estádios de desenvolvimento, antes e após a remoção dos polifenóis	95
4 CONCLUSÃO	99
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
PERSPECTIVAS	104
ANEXO	105

RESUMO GERAL

CORRÊA, Angelita Duarte. Farinha de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz cv. Baiana) – efeito de processamentos sobre alguns nutrientes e antinutrientes. Lavras: UFLA, 2000. 108 p. (Tese - Doutorado em Ciência de Alimentos).*

No Brasil, o pó de folhas de mandioca, como popularmente é designada a farinha, vem sendo utilizado no combate à desnutrição infantil, sendo acrescentado à merenda escolar ou entregue em cestas básicas para famílias carentes em várias regiões. Porém, nas folhas de mandioca existem duas substâncias antinutritivas, os glicosídeos cianogênicos e os taninos, que merecem atenção especial pelas suas conseqüências na saúde humana. Neste trabalho, empregaram-se processos físicos (secagem) e químicos (extração com solventes) para reduzir os teores de substâncias antinutritivas nas folhas de mandioca, cultivar Baiana, a fim de melhorar o valor nutritivo da farinha de folhas. Três etapas foram realizadas. A primeira consistiu em selecionar as temperaturas de secagem das folhas de mandioca, tendo sido baseada em ensaios enzimáticos com a linamarase. A segunda, em função dos resultados da etapa I, consistiu na secagem das folhas de mandioca, colhidas na fase de acúmulo de amido (mês de abril), colocadas sobre bandejas de papel e estas: 1) sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, sob temperatura ambiente, por 14 horas (das 17 às 7 h) e, em seguida, ao sol, sobre piso de concreto; 2) à sombra, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, sob temperatura ambiente; 3) ao sol, sobre piso de concreto; 4) em estufa a 30°C; 5) em estufa a 40°C. Na terceira etapa, empregaram-se solventes (água, etanol 50 mL/100 mL e hidróxido de amônio 1 mol/L) para remover os polifenóis das farinhas de folhas colhidas na fase vegetativa (mês de outubro) e secas à sombra. O controle dos teores de diversos constituintes químicos foi realizado antes e após os processamentos químicos. As farinhas de folhas secas à sombra apresentaram os teores mais elevados de proteína bruta e os mais baixos de açúcares totais, vitamina C, cianeto, polifenóis e inibidor de tripsina e a maior digestibilidade protéica *in vitro*. Os teores mais elevados de β -caroteno foram encontrados nas farinhas de folhas secas a 30°C, mas que não diferiram significativamente das que foram secas à sombra. Observou-se que sob

* Comitê orientador: Dra. Vânia Déa de Carvalho – UFLA (Orientadora), Dr. Custódio Donizete dos Santos – UFLA, Dra. Ana Maria Dantas Barros – UFMG.

temperaturas mais elevadas de secagem das folhas houve redução dos teores de nitrato e oxalato, porém, em qualquer forma de secagem seus teores são mais baixos que os de hortaliças convencionais. Em relação aos nutrientes e antinutrientes estudados, a secagem à sombra parece ser a melhor opção, porém em períodos de chuva poderia-se, como alternativa, utilizar a secagem artificial a 30°C. Contudo, é recomendável selecionar cultivares que apresentem teores iniciais mais baixos de substâncias antinutritivas. Dos três solventes empregados para remover os polifenóis, o hidróxido de amônio 1 mol/L foi o mais eficaz, acarretando melhoria na digestibilidade protéica cerca de 74%. Quando se comparou os resultados das farinhas de folhas secas à sombra e colhidas em dois estádios de desenvolvimento da planta (fase de acúmulo de amido e de desenvolvimento vegetativo), observou-se que, em relação aos antinutrientes seria recomendável colher as folhas durante a fase de acúmulo de amido, quando seus teores parecem estar em menor concentração e a digestibilidade é mais elevada.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Folhas de mandioca, secagem, nutrientes, antinutrientes, remoção de polifenóis, digestibilidade protéica.

GENERAL ABSTRACT

CORRÊA, Angelita Duarte. The flour of cassava (*Manihot esculenta* Crantz cv. Baiana) leaves – the effect of processings on some nutrients and antinutrients. Lavras: UFLA, 2000. 108 p. (Thesis, Doctorate in Food Science)*.

In Brazil, the powder of cassava leaves has been used in the combat of children's malnutrition, being included to school meals or given away in the so-called basic supplies baskets to families in need in several areas. However, two antinutritive substances exist in the cassava leaves, the cyanogenic glycosides and the tannins, which deserve special attention cause their consequences in the human health. In this piece of work physical processes were used (drying) as well as chemical (extraction with solvents) for reducing the levels of antinutritive substances in the cassava leaves, in order to improve the nutritive value of the flour made out of its leaves. Three stages were accomplished. The first consisted of selecting the temperatures of drying of the cassava leaves, having been based on enzymatic rehearsals with the linamarase. The second consisted of the drying of the cassava leaves, picked in the phase of starch accumulation (month of april), placed on paper trays as well as the following: 1 – on a wood bench, in a shut and airy place, at room temperature for 14 hours (overnight), and soon after under the sun light, on a concrete floor; 2 – under shadow, on a wood bench, in a shut and airy place, at room temperature; 3 – under the sun light, on a concrete floor; 4 – in oven at 30°C; 5 - in oven at 40°C. As for the third stage solvents were used (water, ethanol 50 mL/100 mL and ammonium hydroxide 1 mol/L) for the removal of the polyphenols from the flour of leaves picked in the vegetative phase (month of october) and dried to the shade. The control of the chemical constituents in several levels was accomplished before and after the chemical processings. The flour of leaves dried to the shade presented higher levels of crude protein and lower levels of total sugars, vitamin C, cyanide, polyphenols and trypsin inhibitor and higher in vitro protein digestibility. The most elevated levels of β -carotene were found in the flour of leaves dried at 30°C. However that did not differ significantly from the ones dried in the shade. It was observed that there was reduction in the levels

* Guidance Committee: Dra. Vânia Déa de Carvalho - UFLA (Major Professor), Dr. Custódio Donizete dos Santos - UFLA, Dra. Ana Maria Dantas Barros - UFMG.

of nitrate and oxalate for the elevated leaf- drying temperatures. As for the studied nutrients and antinutrients, the drying to the shade system seems to be the best option, however in rainy periods one might, as an alternative, use the artificial in-oven drying system at 30°C. However, it is advisable to select cultivars that feature lower initial levels of antinutritive substances. Of the three solvents employed in the removal of the polyphenols, the ammonium hydroxide 1 mol/L was the most effective carting an improvement of 74% in the digestibility. When the results fared for the flours of leaves dried in the shade and picked in two different plant development stages were compared (phase of accumulation of starch and of vegetative development), it was observed that, as far as antinutrients are concerned, it would be advisable to pick the leaves during the phase of accumulation of starch, when their levels seem to be in lower concentration and the digestibility is higher.

INDEX TERMS: Cassava leaves, drying, nutrients, antinutrients, removal of polyphenols, protein digestibility.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A desnutrição, segundo Marcondes et al. (1976), é um estado crônico de carência calórica-protéica, no qual o organismo apresenta desaceleração (casos leves), interrupção (casos moderados) ou retrocesso (casos graves) da evolução normal de seus parâmetros bioquímicos (diluição), funcionais (disfunção com ênfase no desenvolvimento neuropsicomotor) e anatômicos (depleção, com ênfase no crescimento físico). A mucosa do intestino delgado, o fígado e o pâncreas, por apresentarem um intenso "turnover" protéico e constituírem, no organismo humano, um dos locais onde se processam intensos fenômenos de síntese, sofrem as conseqüências imediatas devido à desnutrição, levando a uma acentuada diminuição de absorção de nutrientes. O déficit de absorção de proteínas, ainda que discreto, tem importante papel na desnutrição, pois pode agravar uma situação geral de depleção protéica já instalada (Marcondes et al., 1976).

Sabe-se que as mudanças no hábito alimentar, aliadas às variações naturais dos alimentos, têm tido influências na saúde da população que, muitas vezes, têm como causa a ingestão deficiente de determinados nutrientes, entre eles as vitaminas e minerais, indispensáveis para garantir o perfeito desenvolvimento e funcionamento do organismo. Assim, populações com baixo poder aquisitivo e sem acesso freqüente aos alimentos de boa qualidade e valor nutritivo adequado, provavelmente não conseguem suprir a necessidade de todos os nutrientes.

Uma das mais trágicas conseqüências da pobreza é a desnutrição global, o principal problema da população infantil. Ela é responsável pelo alto índice de

doenças e pelo déficit de crescimento físico e mental das crianças que escapam da morte nos primeiros anos de vida. De acordo com os resultados de pesquisas realizadas em várias regiões do país, a desnutrição calórico-proteica é um problema que não se limita aos “bolsões isolados de pobreza”, atingindo também camadas expressivas da população que vivem e trabalham nos grandes centros, em profissões menos qualificadas e mal remuneradas. A proporção de crianças brasileiras consideradas desnutridas, em idade pré-escolar, é pior que na maioria dos outros países da América Latina, superada apenas pelo Haiti, Guatemala e El Salvador. No Brasil, a desnutrição concentra-se principalmente no nordeste do país, na periferia das grandes cidades e nos grandes “bolsões de pobreza” (Araújo, 1992).

Arroz, feijão, fubá-de-milho, derivados do trigo e farinha de mandioca constituem o alicerce da alimentação da população brasileira, com pequena variação no grau de consumo entre as cinco regiões do País (Anuário..., 1992). Entretanto, o uso da proteína foliar na alimentação humana vem sendo estudado e defendido por pesquisadores há vários anos. Recentemente, as pesquisas sobre fontes não-convencionais de proteínas têm sido intensificadas, com o objetivo de solucionar o maior desafio: o da subalimentação ou subnutrição.

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é amplamente cultivada nos trópicos, sendo sua raiz um importante alimento para milhões de pessoas. O tubérculo é uma boa fonte de carboidratos, mas muito pobre em proteínas, enquanto as folhas constituem uma fonte de proteína alternativa e barata para a dieta humana. Segundo Ravindran (1993), a produtividade de folhas de mandioca varia consideravelmente, dependendo da cultivar, do solo, da fertilidade, da densidade de plantio, da idade da planta, da frequência da colheita e do clima. A mandioca é cultivada, sobretudo, para a colheita de raízes e é por isto imperativo que a colheita de folhas não produza grandes reduções na produção delas. Em alguns estudos tem sido demonstrado que é possível colher

folhas de mandioca mantendo-se uma produtividade aceitável de raízes e aumentando a produtividade das folhas (Dahniya, Oputa e Hahn, 1981; Ravindran e Rajaguru, 1988). Porém, consegue-se uma produtividade de 4,64 t de matéria seca de folha por hectare como um subproduto da raiz (Ravindran e Rajaguru, 1988).

No Brasil, o pó de folhas de mandioca vem sendo utilizado no combate à desnutrição de crianças, sendo acrescentado à merenda escolar ou incluído em cestas básicas para famílias carentes em várias regiões (Brandão e Brandão, 1989; Alternativas..., 1994). Seus teores de proteína, vitaminas e minerais são relativamente altos, quando comparados a hortaliças folhosas convencionais, porém, sua qualidade protéica é baixa, o que pode ser atribuído à reduzida concentração de aminoácidos sulfurados (metionina, principalmente), baixa digestibilidade e presença de substâncias antinutritivas. Dentre essas últimas, a literatura científica tem destacado a ocorrência de duas substâncias nas folhas de mandioca: os glicosídeos cianogênicos (por sua toxidez) e os taninos (por diminuírem a digestibilidade protéica), comprometendo o uso dessas folhas na alimentação humana. Além disso, não existem informações sobre os níveis de outras substâncias antinutritivas nessas folhas. Portanto, antes de recomendar o uso de alguns produtos folhosos na alimentação, eles deveriam ser submetidos ao monitoramento dessas substâncias.

Neste trabalho empregaram-se processos físicos (secagem) e químicos (extração com solventes) para reduzir os teores de substâncias tóxicas e antinutritivas nas folhas de mandioca, a fim de melhorar o valor nutritivo da farinha de folhas. O controle dos teores de diversos constituintes químicos foi realizado antes e após os processamentos químicos.

Este trabalho está organizado em capítulos, sendo que no primeiro, encontra-se a introdução e a revisão geral de assuntos pertinentes à tese. No segundo, objetivou-se selecionar a temperatura de secagem das folhas de

mandioca, com base nos ensaios com a enzima linamarase (responsável pela liberação do ácido cianídrico). No terceiro capítulo, foram relatados os resultados obtidos referentes ao estudo do efeito de diferentes formas de secagem sobre os níveis de alguns nutrientes e antinutrientes. Finalmente, no quarto capítulo, foi apresentado o estudo do emprego de diferentes solventes na remoção de polifenóis das farinhas de folhas de mandioca, objetivando melhoria da digestibilidade protéica.

Foram apresentados em congressos ou similares os seguintes trabalhos:

✓ “Atividade da enzima linamarase em diferentes tipos de secagem da folha de mandioca”, Resumo publicado nos anais 11º Encontro Regional da SBQ, Lavras, 1997.

✓ “Estudo de processos químicos para reduzir os níveis de tanino em folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crants)”, Resumo publicado nos anais do 12º Encontro Regional da SBQ, Ouro Preto, 1998.

✓ “Substâncias antinutritivas em folhas de mandioca submetidas à diferentes tipos de secagem”, Trabalho completo publicado nos anais da 22ª Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas, 1999.

✓ “Nutrientes em folhas de mandioca submetidas à diferentes tipos de secagem”, Resumo publicado nos anais do 3º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, Campinas, 1999.

O capítulo 2, “FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA I – EFEITO DA SECAGEM DAS FOLHAS SOBRE A ATIVIDADE DA LINAMARASE”, foi enviado ao periódico *Ciência e Agrotecnologia* e está sendo submetido à apreciação para publicação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fatores nutricionais

Dentre os nutrientes presentes nas folhas de mandioca serão abordados apenas aqueles que foram estudados neste trabalho.

a) Fibra alimentar

Trowell et al. (1976) definiram fibra alimentar como polissacarídeos de plantas e lignina resistentes à hidrólise por enzimas digestivas humanas. Para Gordon (1989) e Hall (1989), a definição de Trowell pode ser inadequada, uma vez que elimina outros polímeros importantes que não são originários de plantas, tais como produtos da reação de Maillard, amido resistente e polidextrose, embora a inclusão destes polímeros na definição de fibra alimentar represente controvérsias. Para Roberfroid (1993), o termo fibra alimentar é genérico e abrange uma ampla variedade de substâncias com diferentes propriedades físicas e vários efeitos fisiológicos. Theander, Westerlund e Aman (1993) sugeriram, por sua vez, que fossem incluídos no conceito de fibra alimentar, alguns componentes, como os ácidos acético e fenólicos. Lee et al. (1996) relataram as decisões tomadas na sessão de discussão final da “AOAC International Workshop” sobre definição e análise de carboidratos complexos/fibra alimentar, nos Estados Unidos (Nashville, TN) no ano de 1995. De acordo com os autores, firmou-se um acordo entre os participantes dos EUA, Canadá e Europa de que a fibra alimentar devesse ser incluída na definição de carboidratos complexos e que os oligossacarídeos resistentes constituiriam parte da fibra alimentar.

As fibras alimentares podem ser divididas em duas categorias: fibra solúvel e fibra insolúvel, com base nas suas propriedades físicas e funções fisiológicas. As fibras solúveis incluem pectinas, gomas, mucilagens e alguns

tipos de hemiceluloses. As pectinas são encontradas principalmente em frutas e verduras, especialmente maçãs, laranjas e cenouras. Outras formas de fibra solúvel ocorrem no farelo de aveia, cevada e leguminosas. A influência das fibras solúveis em eventos do trato alimentar está relacionada à sua habilidade de reter água e formar géis e também ao seu papel como substrato para a fermentação de colônias de bactérias. Já as fibras insolúveis consistem, principalmente, de celulose, alguns tipos de hemicelulose e lignina. Elas dão estrutura às células vegetais e são encontradas em todos os tipos de material vegetal. Entretanto, sua maior fonte está nas camadas externas de grãos de cereais.

A lignina é o polímero mais complexo não polissacarídeo e contém na cadeia principal os álcoois sinapil, coniferil e p-cumaril, estruturada de forma tridimensional (Schneeman, 1986), estando, algumas vezes, incluída na análise de fibras e sendo o componente principal das estruturas das partes lenhosas das plantas. Contribui com uma porção muito pequena na dieta (1 g/dia) e é encontrada principalmente em frutas com cascas e nas sementes comestíveis (Mahan e Escott-Stump, 1998). Já a celulose é um polímero de glicose sem ramificação com ligações β -1,4, sendo considerada o polissacarídeo mais simples entre as fibras e o principal componente da parede celular de plantas. Os demais polissacarídeos contêm uma variedade de açúcares além da glicose e alto grau de ramificação.

Alguns efeitos fisiológicos da fibra já estão confirmados experimentalmente. As fibras insolúveis, como a celulose e hemicelulose, são mais eficientes em atuar como laxativas, reduzindo o tempo de trânsito intestinal e aumentando o volume da massa alimentar, embora possam também limitar a absorção de minerais e, possivelmente, vitaminas (Olson, Gray e Chiu, 1987; Slavin, 1987). As fibras insolúveis também podem aumentar a excreção fecal de ácidos biliares e, indiretamente, o metabolismo do colesterol no fígado

(Roberfroid, 1993). Já as fibras solúveis atrasam o esvaziamento gástrico e aumentam a viscosidade do conteúdo do estômago (Olson, Gray e Chiu, 1987; Roberfroid, 1993). O mesmo efeito das fibras solúveis sobre o trânsito do bolo alimentar no intestino delgado pôde ser observado, com a conseqüente redução da digestão, absorção de nutrientes (Schneeman, 1987; Roberfroid, 1993; Mahan e Escott-Stump, 1998) e a diminuição do nível de colesterol sérico (Mahan e Escott-Stump, 1998).

As dietas ricas em alimentos de origem vegetal parecem estar inversamente relacionadas à incidência de doença cardiovascular, câncer de cólon, diabetes e distúrbios gastrointestinais. A dieta deve conter fibra solúvel e insolúvel, que podem ser obtidas com cinco porções ou mais de frutas e vegetais e seis porções diárias de pães de grão integral, cereais e leguminosas. Além das fibras, as frutas e as verduras também contribuem com as vitaminas A e C, assim como os fenóis e indóis dos vegetais crucíferos, todos associados a uma diminuição do risco de câncer de cólon (Mahan e Escott-Stump, 1998).

No ocidente, o consumo de fibras dos alimentos costuma variar de 6 a 35 g/dia, admitindo-se que o consumo de 15 g/dia é suficiente para um bom desempenho gastrointestinal (Pourchet-Campos, 1988). As recomendações quanto à composição da dieta, nos países desenvolvidos, têm sido no sentido de diminuir a ingestão de gorduras, açúcares refinados e calorias totais, o que deverá resultar em dietas ricas em fibras e amido (Reyes, 1993).

Apesar de polêmico, o conhecimento do papel da fibra na alimentação vem permitindo seu uso, com êxito, no controle de várias situações indesejáveis, como hiperlipidemia sérica, retardamento do tempo de trânsito alimentar e obesidade. Evidências epidemiológicas apontam a ausência ou escassez de fibra na dieta como responsável pela constipação, problemas de hemorróidas e veias varicosas, apendicite e hérnia de hiato (Pourchet-Campos, 1988;1990).

Dietas com elevado teor de fibra têm apresentado resultados positivos em experimentos realizados com diabéticos (animais e humanos), melhorando a tolerância à glicose, reduzindo a hiperglicemia pós-prandial e a taxa secretória de insulina, tendo sido observada também uma diminuição nos riscos de doenças associadas a diabetes (Silva, Silva e Seara, 1996).

Reed et al. (1982), analisando a farinha de folhas de seis variedades de mandioca cujas folhas foram colhidas aos sete meses após plantio e secas em estufa de ventilação a 55°C, encontraram teores médios de fibra detergente neutra (FDN) e fibra detergente ácida (FDA) de 35,4 e 19,1 g/100 g de matéria seca, respectivamente.

b) Proteínas e digestibilidade

A principal função das proteínas é atuar na formação de tecidos, no processo de renovação dos mesmos e, principalmente, no crescimento. As enzimas pancreáticas e do trato intestinal hidrolisam as proteínas, cujos aminoácidos são absorvidos e transportados ao fígado pela circulação sanguínea. No fígado, uma parte dos aminoácidos é utilizada na biossíntese de várias proteínas do plasma, entre elas as albuminas, as globulinas, o fibrinogênio e a protrombina. A outra parte vai para os tecidos extra-hepáticos, onde é utilizada para a síntese de novas proteínas. Os aminoácidos que excedem às necessidades de síntese são metabolizados no fígado para fins energéticos (Sgarbieri, 1987). Além da função estrutural (esqueleto, musculatura, tecidos conjuntivos e epiteliais, tecido nervoso e outros), as proteínas desempenham várias funções imprescindíveis ao bom funcionamento do organismo, a saber: a) catalisadores biológicos (enzimas), b) hormônios, c) anticorpos, d) ativação de ácidos graxos (proteína ACP) e e) transporte de nutrientes e metabólitos através de membranas biológicas e contidas nos diversos fluidos fisiológicos (Sgarbieri, 1987; Lajolo e Tirapegui, 1998).

A deficiência de proteína ou de energia na dieta obriga o organismo a catabolizar proteínas endógenas em maior proporção. Deficiências de proteínas, assim como de energia, são muito freqüentes em crianças oriundas de classes sócio-econômicas mais baixas, gerando as síndromes conhecidas como *Kwashiorkor* e *Marasmo*, que constituem sérios problemas de saúde pública nos países em desenvolvimento. Esta deficiência pode ser atribuída à falta ou ao elevado preço dos alimentos protéicos, tanto de origem animal quanto vegetal.

As folhas de mandioca apresentam um teor em proteína que varia de 14,7 a 40 g/100 de matéria seca (Pechnik e Guimarães, 1962; Rogers e Milner, 1963; Ross e Enriques, 1969; Yeoh e Chew, 1976; Tupynambá e Vieira, 1979; Reed et al., 1982; Lancaster e Brooks, 1983; Carvalho et al., 1986; Awoyinka, Abegunde e Adewusi, 1995). Esta ampla variabilidade é devida, provavelmente, ao clima, à fertilidade de solo, às diferenças de cultivares e ao estágio de maturidade das folhas e vegetativo.

A proteína da farinha de folhas de mandioca submetida à análise de aminoácidos apresentou deficiência em metionina e cisteína, mas níveis elevados em lisina (Rogers e Milner, 1963; Barrios e Bressani, 1967; Eggum, 1970; Yeoh e Chew, 1976; Gómez, Valdivieso e Noma, 1985; Gómez e Noma, 1986; Nwokolo, 1987; Ravindran e Ravindran, 1988).

Pechnik e Guimarães (1962) fizeram um ensaio biológico com ratos empregando dietas contendo farinha de folhas frescas de mandioca preparadas de três formas distintas: **A** - secagem das folhas ao ar livre à temperatura ambiente no laboratório e, em seguida, trituração em moinho; **B** - secagem das folhas em desidratador (70 a 80°C) durante 24 horas e trituração posterior em moinho; **C** - mediante secagem das folhas no desidratador durante 24 horas, trituração em moinho e cozimento durante três horas com constante agitação (500 g de farinha crua adicionadas de 2 litros d'água); filtragem da massa obtida que foi espremida e seca novamente no desidratador (70 a 80°C), durante 24

horas. Todas as três dietas foram misturadas com farinha de raiz de mandioca com um teor de aproximadamente 12% de proteína. Os animais alimentados com dieta contendo a farinha A se desenvolveram, porém, de forma subnormal; a suplementação com lisina e metionina elevou consideravelmente a eficiência protéica dessa farinha. As dietas contendo as farinhas B e C não acarretaram o crescimento dos animais e a suplementação com lisina e metionina exerceu efeito benéfico apenas nos ratos alimentados com a dieta contendo farinha B. Os autores concluíram que, possivelmente, a disponibilidade da proteína constituísse um problema, podendo estar associada à digestibilidade.

Ensaio com ratos realizados por Rogers e Milner (1963), empregando dietas contendo folhas de mandioca liofilizadas não cozidas, em níveis de proteína de 10 a 15%, resultaram em sua rejeição pelos ratos. Os autores concluíram que essa rejeição aparentemente não estava relacionada ao teor de cianeto da folha de mandioca. No entanto, pode-se supor que a rejeição tenha sido devida aos taninos, que apresentam sabor amargo.

Carvalho, Silva e Clemente (1986) constataram que a adição de até 20% da parte aérea de mandioca ao fubá proporcionou aos ratos melhoria de ganho de peso e do coeficiente de eficácia protéica, porém proporções mais elevadas de adição foram prejudiciais ao desenvolvimento.

A farinha de folhas de mandioca apresenta teores elevados em proteínas, porém, sua digestibilidade é baixa, o que poderia ser atribuído, parcialmente, ao seu teor em fibra (Oke, 1978). Um ensaio biológico com ratos foi realizado por Vilas-Bôas (1979) empregando dietas contendo a parte aérea de mandioca como fonte de fibra, na proporção de 5, 10 e 15% de fibra. A autora concluiu que os ratos alimentados com as dietas contendo fibra apresentaram crescimento menor e diminuição da eficiência alimentar em relação ao grupo controle e houve também diminuição da digestibilidade protéica, sendo inversamente proporcional aos níveis de fibra.

Além das fibras, outros componentes químicos podem ter efeito prejudicial sobre o aproveitamento protéico. Os polifenóis, por exemplo, podem reduzir a digestibilidade e disponibilidade de aminoácidos, como no caso da lisina em que o grupo ϵ -amino pode tornar-se indisponível (Kumar e Singh, 1984; Pellett e Young, 1980; Sgarbieri, 1987, 1996). A presença de polifenóis (taninos) também influencia negativamente a disponibilidade de metionina (Nelson et al., 1975) e, além disso, agrava a deficiência inerente de aminoácidos sulfurados das folhas de mandioca. Tupynambá e Vieira (1979) mostraram que a suplementação com DL-metionina melhorou o valor nutritivo do concentrado protéico de folhas de mandioca. Assim, seria razoável a adição deste aminoácido em dietas baseadas em folhas de mandioca. Metionina adicional também é requerida por seu papel como doador de grupos metil (Fuller, Chang e Potter, 1967) e como fonte de enxofre lábil na eliminação de cianeto (Oke, 1978).

c) Açúcares

Os carboidratos, na forma de açúcar ou amido, fornecem a maior parte da energia para o homem, a maioria dos animais e também para muitos microorganismos. São também utilizados para armazenar energia e como unidade estrutural das células. Ocupam posição central no metabolismo das plantas verdes e de outros organismos fotossintetizantes que utilizam a energia solar para sintetizar carboidratos a partir de CO_2 e H_2O (Lehninger, 1995).

Os carboidratos representam a fração mais importante da maioria dos vegetais utilizados na alimentação humana, que podem ser encontrados nos cereais, tubérculos, leguminosas, frutas e verduras. Os principais monossacarídeos encontrados na forma livre são a glicose e a frutose, sendo a glicose encontrada em frutas, milho doce, xarope de milho, mel e certas raízes e a frutose encontrada junto com a glicose e a sacarose no mel e frutas. A sacarose, o açúcar comum, é encontrada principalmente na cana-de-açúcar, no

açúcar de beterraba, no melão e no xarope de milho, assim como em frutas, vegetais e mel (Mahan e Escott-Stump, 1998).

A capacidade de se ligar à água e controlar a atividade de água dos alimentos é uma das mais importantes propriedades dos carboidratos. Em muitos alimentos, os carboidratos podem atuar como fixadores de cor e de compostos voláteis do aroma (Whistler e Daniel, 1993).

d) Vitamina C

Na Figura 1 são mostrados os estereoisômeros do ácido ascórbico. O ácido L-ascórbico (I) é o nome trivial para o L-treo-2-hexenono-1-4-lactona, cujo enantiômero é o ácido D-ascórbico (II). Costuma-se designar este par enantiomérico como D e L-ácido xiloascórbico. Os outros dois estereoisômeros, D e L-eritro-2-hexenono-1,4-lactonas (III e IV) são conhecidos por um dos três nomes triviais, D ou L-ácido eritórbito, ácido isoascórbico ou ácido araboascórbico (Seib, 1985, citado por Roig, Rivera e Kennedy, 1993). As formas da vitamina C encontradas nos alimentos e no corpo são o ácido L-ascórbico e seu produto de oxidação, o ácido L-deidroascórbico, tendo a mesma atividade vitamínica (Nagy, 1980).

O ácido L-ascórbico é um agente redutor. O sistema redox (Figura 2) do ácido L-ascórbico tornou-se importante não somente por causa de suas aplicações comerciais, mas também devido ao seu papel biológico. Isso é atribuído principalmente à sua habilidade para agir como um radical e lixeiro de oxigênio (Liao e Seib, 1987).

As plantas e a maioria dos animais produzem o ácido L-ascórbico em seus organismos a partir da glicose. Já o homem, cobaias e primatas são incapazes de sintetizá-lo, tornando-o essencial à dieta. Assim, os primeiros exploradores de mares e terras eram sempre ameaçados por uma enfermidade

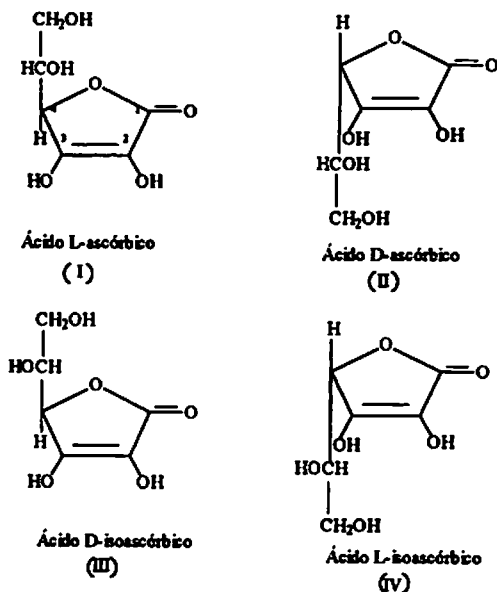


FIGURA 1 Estereoisômeros do ácido ascórbico.

chamada escorbuto, hoje reconhecida como doença nutricional causada por uma deficiência severa de vitamina C que se caracteriza por alterações patológicas nos dentes, gengivas e tecidos conjuntivos em geral (Sgarbieri, 1987).

Uma das funções já bem estabelecidas do ácido L-ascórbico é a sua atuação como cofator na biossíntese e estabilização do colágeno, na etapa de dopamina a norepinefrina e na hidroxilação do triptofano a 5-hidroxitriptofano, que, por descarboxilação, origina a serotonina. Essas substâncias são neurotransmissores importantes e, por isso, acredita-se que a deficiência de vitamina C possa afetar o funcionamento do sistema nervoso, o que explicaria os sintomas neurológicos dos indivíduos escorbútics (Sgarbieri, 1987). O ácido L-ascórbico também interage com minerais, particularmente o ferro, aumentando a sua absorção. Um assunto ainda bastante controverso é a prevenção do resfriado comum com o utilização do ácido ascórbico. Alguns pesquisadores

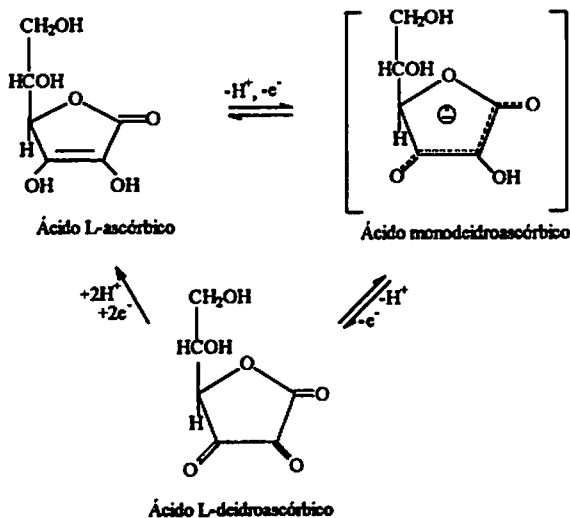


FIGURA 2 Estágios de redução do ácido L-ascórbico

demonstram a eficiência do ácido L-ascórbico na prevenção do resfriado, enquanto outros afirmam o contrário. Além disso, a ingestão apropriada de ácido L-ascórbico pode reduzir significativamente doenças do coração, mortalidade por câncer e outras doenças crônicas. Todavia, este é também um assunto ainda controverso (Roig, Rivera e Kennedy, 1993).

Quanto aos requerimentos ótimos de vitamina C, ainda existem controvérsias. Contudo, 15 mg diárias de vitamina C são suficientes para prevenir ou curar o escorbuto, mas a Academia Norte Americana de Ciências recomenda 45 mg por dia, para todas as idades e estágios fisiológicos, a fim de garantir um ótimo funcionamento metabólico (Sgarbieri, 1987). As frutas e vegetais são fontes importantes dessa vitamina, das quais a mais rica é a acerola, com 2,95 g/100g da porção comestível (Franco, 1986).

Carvalho et al. (1986), analisando a farinha de folhas de dez cultivares de mandioca, cujas folhas foram colhidas aos doze meses após plantio e secas

em estufas com ventilação a 45°C, encontraram teores de vitamina C total que variaram de 52,23 a 139,19 mg/100 g. A composição química da parte aérea da mandioca sofre variações acentuadas com a idade das plantas e depende também do grau de enfolhamento (Carvalho e Kato, 1987, Carvalho et al., 1989, Carvalho, Chagas e Juste Junior, 1991). A vitamina C total dos fenos atingiu teor máximo no 19º mês após o plantio (Carvalho et al., 1989).

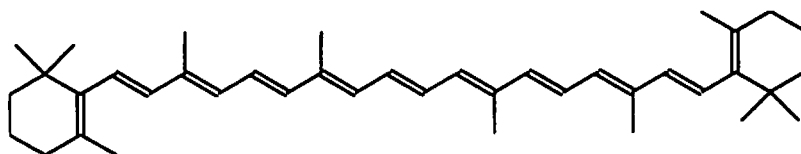
e) β -caroteno

Os carotenóides são os pigmentos lipossolúveis mais amplamente distribuídos na natureza e constituem um importante grupo, cujas cores variam do amarelo ao vermelho (Minazzi-Rodrigues e Penteadó, 1989). Os carotenóides estão distribuídos em dois grupos estruturais: os carotenos e as xantofilas. Eles são moderadamente estáveis ao calor, estão sujeitos à perda de cor por oxidação e podem ser facilmente isomerizados pelo calor, ácido ou luz (Elbe e Schwartz, 1996).

Os carotenóides desempenham funções importantes na fotossíntese e fotoproteção em tecidos de plantas. Em todos os tecidos que contêm clorofila, os carotenóides funcionam como pigmentos secundários na captação da energia da luz. O papel de fotoproteção dos carotenóides provém de sua habilidade em extinguir as espécies de oxigênio reativo formado pela exposição à luz e ao ar. Certos carotenóides de raízes e folhas servem como precursores do ácido abscísico, um componente que funciona como um mensageiro químico e regulador do crescimento. Além disso, a função antioxidante dos carotenóides tem um papel na redução do câncer, catarata, arteriosclerose e no processo de envelhecimento (Elbe e Schwartz, 1996).

Esses compostos receberam atenção especial pelo fato do β -caroteno servir como precursor de vitamina A para o ser humano (Marty e Berset, 1988). Ele é o carotenóide mais comum encontrado nos tecidos de planta, apresentando

a maior atividade pró-vitáminica. A estrutura retinóide, com o anel β -ionona, é a responsável pela atividade pró-vitáminica. (Elbe e Schwartz, 1996).



(anel β -ionona)

(anel β -ionona)

β -caroteno
($C_{40}H_{56}$)

Todos os vegetais de folhas verdes contêm carotenóides, mas suas cores são mascaradas pelo clorofila verde. Geralmente, as concentrações mais elevadas de carotenóides ocorrem naqueles tecidos com a maior quantidade de pigmentos clorofílicos (Elbe e Schwartz, 1996).

A maioria dos pigmentos carotenóides está presente na natureza sob a forma trans. Entretanto, durante o processamento de alimentos, uma parte dos trans-carotenos é convertida nos isômeros cis, diminuindo a atividade pró-vitáminica A (Sweeney e Marsh, 1970; Heinonen, 1990). Por apresentarem em sua molécula um sistema de duplas ligações conjugadas, esses compostos são suscetíveis à degradação sob ação de luz, oxigênio, ácidos ou metais. Assim sendo, com o processamento industrial ou até mesmo com o armazenamento, podem ocorrer perdas significativas. No entanto, a indústria alimentícia tem utilizado esses pigmentos em diversos produtos, incluindo sopas, margarinas e farináceos (Almeida e Penteado, 1987; Stalcup et al., 1990; Sims, 1993). Após seis meses de fabricação, Marty e Berset (1988) encontraram em alimentos extrusados apenas 8% dos β -carotenos adicionados inicialmente, refletindo a intensa degradação que sofreram.

Carvalho et al. (1986), trabalhando com farinha de dez cultivares de mandioca, cujas folhas foram colhidas aos 12 meses após plantio e secas em estufas de ventilação a 45°C, encontraram teores de β -caroteno que variaram de 4,74 a 6,31 mg/100g. O β -caroteno dos fenos produzidos com a parte aérea de cultivares de mandioca atingiram teor máximo no 15º mês após o plantio (Carvalho et al., 1989).

2.2 Fatores antinutricionais

O desempenho dos animais, inclusive o do homem, depende da digestibilidade dos nutrientes e da extensão com que estes nutrientes podem ser absorvidos e utilizados. Os fatores antinutricionais podem interferir na digestibilidade, absorção e utilização dos nutrientes pelo organismo provocando efeitos negativos no crescimento ou na saúde dos animais. Dentre as substâncias que as plantas geralmente contêm e que exercem efeitos antinutricionais, podem-se citar os glicosídeos cianogênicos, o oxalato, o nitrato, os inibidores de tripsina e os polifenóis.

a) Glicosídeos cianogênicos

Cianogênese é a habilidade de liberar o ácido cianídrico (HCN) exibida por plantas e por outros organismos vivos (Poulton, 1990). Várias plantas importantes economicamente são cianogênicas como, por exemplo, trevo branco, amêndoa, sorgo, feijão lima selvagem, seringueira e mandioca. Destas, a de maior destaque agrônômico como alimento é a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Em 1987, o Brasil produziu 23.494 milhões de toneladas de raízes de mandioca, e, em 1990, a produção foi de 102.720 milhões de toneladas, ou seja um aumento de mais de quatro vezes (Ramalho-Sobrinho, 1991; Cobre e Jabuonski, 1993).

Os compostos cianogênicos de muitas espécies de plantas já foram identificados. Em sua grande maioria são cianoidrinas, estruturas instáveis que, geralmente, são estabilizadas por glicosilação, originando o glicosídeo cianogênico ou, mais raramente, por esterificação do grupo hidroxila, resultando em cianolípido (Conn, 1980; Nahrsted, 1985). A liberação de ácido cianídrico em plantas cianogênicas ocorre somente quando há contato do glicosídeo cianogênico com a enzima β -glicosidase. A degradação do glicosídeo cianogênico é iniciada pela ruptura da ligação glicosídica, por uma ou mais β -glicosidases, resultando na correspondente cianoidrina. Este composto, instável e intermediário, pode decompor-se, espontaneamente ou enzimaticamente, pela ação da enzima hidroxinitrilo liase, formando um aldeído ou cetona com liberação de ácido cianídrico.

Há duas principais classes de β -glicosidases que agem nos glicosídeos cianogênicos: a) o tipo emulsina, que age nos di-glucósides cianogênicos (amigdalina) e glicosídeos cianogênicos aromáticos e b) o tipo linamarase, que age especificamente nos glicosídeos cianogênicos aromáticos e alifáticos, mas não nos di-glicosídeos (Pieres e Jansz, 1976).

A presença de cianógenos em alimentos é preocupante. As desordens de saúde associadas com dietas de subsistência contendo elevados teores de cianógeno, incluem: a) hipertireoidismo, resultante da interferência do tiocianato no metabolismo do iodo; b) neuropatia atáxica tropical, uma desordem neurológica e c) konzo, uma paralisia rápida e permanente (Osuntokun, 1981). A dose letal de HCN para o homem oscila entre 0,5 e 3,5 mg/kg de peso e, às vezes tem sido consumidas quantidades de alimentos cianogênicos suficientes para produzir intoxicação fatal (Wogan e Marletta, 1993).

Muitos dos glicosídeos são monossacarídeos cianogênicos, nos quais a cianoidrina instável é estabilizada por ligação glicosídica com resíduo simples de açúcar. Já nos dissacarídeos cianogênicos, como amigdalina, vicianina e

linustatina ou no trissacarídeo cianogênico xeratina, duas ou três moléculas de açúcares, respectivamente, estão envolvidos no processo químico de estabilização (Poulton, 1990).

As agliconas dos glicosídeos cianogênicos são derivadas de aminoácidos, por exemplo, em leguminosas e euphorbiáceas (mandioca), a valina e a isoleucina dão origem a linamarina e lotaustralina, respectivamente, enquanto a tirosina origina a durina na macadâmia e no sorgo (Poulton, 1990).

Uma característica comum das plantas cianogênicas é que a hidrólise dos glicosídeos cianogênicos ocorre em quantidades significativas somente após a ruptura do tecido, que pode ser causada por ação mecânica ou por infecções provocadas por fitopatógenos. Uma das explicações para esse fato é que os glicosídeos cianogênicos e suas enzimas catabólicas estariam separados na planta intacta, por compartimentalização (Poulton, 1990). Na mandioca todas as células da raiz possuem tanto os cianógenos linamarina e lotaustralina quanto a linamarase. Contudo, os níveis mais elevados dos glicosídeos e da glicosidase foram encontrados nas camadas de células mais externas (Kojima et al., 1983), sugerindo o envolvimento dos cianógenos nos mecanismos de defesa da planta contra o ataque de patógenos e de insetos.

Alguns experimentos também têm reforçado a possibilidade de os compostos cianogênicos funcionarem como armazenadores de nitrogênio (Lieberei, Selmar e Bietehl, 1985; Selmar, Lieberei e Biehl, 1988).

A Figura 3 ilustra a cianogênese da linamarina e lotaustralina, que são os glicosídeos cianogênicos encontrados na mandioca. Geralmente, tem-se admitido que a atividade da linamarase seja a etapa limitante na cianogênese (McMahon, White e Sayre, 1995). Foi demonstrado por Mkpong et al. (1990) que a linamarase da mandioca está localizada na parede da célula, porém, esse não parece ser o único sítio de localização da enzima. A distribuição da

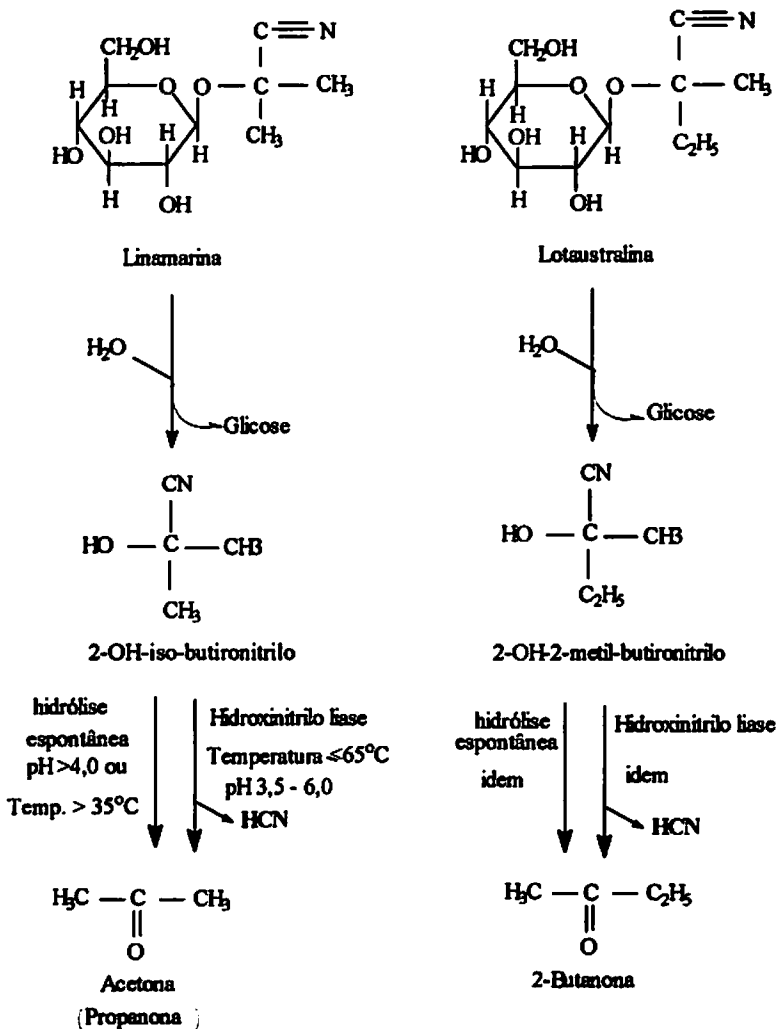


FIGURA 3 Cianogênese da linamarina e lotaustralina (McMahon, White e Sayre, 1995).

atividade de linamarase varia entre diferentes órgãos e tecidos da mesma planta. As folhas podem ter níveis de 3 a 50 vezes mais elevados da atividade de linamarase que as raízes (Cooke, Blake e Battershill, 1978; Yeoh, 1989; Mkpong et al., 1990). Além disso, há variações nos níveis de linamarase em tecidos do mesmo órgão da planta. A casca da raiz (a camada mais externa, 2 a

5 mm do córtex da raiz) pode ter uma atividade de linamarase 15 vezes maior (base de proteína) que a da camada mais interna do parênquima da raiz (Yeoh, 1989). Também a distribuição de linamarina nas raízes não é uniforme. A casca da raiz tem a mais elevada concentração de linamarina (12 vezes) que o parênquima mais interno (Bradbury, Egan e Lynch, 1991).

O nível de cianeto em folhas de mandioca varia de 3 a 4.000 mg/kg de peso fresco (Barrios e Bressani, 1967; Ravindran e Ravindran, 1988). Chew (1972) relatou que as folhas de 18 cultivares de mandioca, cultivadas sob condições idênticas, apresentaram teores de ácido cianídrico que variaram entre 174 e 622 mg/kg de peso fresco. Num estudo envolvendo 31 cultivares Yeoh e Oh (1979) obtiveram uma faixa de 135 a 854 mg de HCN/kg de peso fresco nas folhas. Teles et al. (1981) encontraram teores de ácido cianídrico que variaram entre 157 e 930 mg/kg de peso fresco em folhas de 10 cultivares de mandioca. Assim, a variação do nível de cianeto das folhas depende consideravelmente do fator genético.

Bassir e Fafunso (1976) estudaram as quatro principais técnicas de pré-cozimento de folhas de mandioca utilizadas em áreas tropicais com relação à remoção de cianeto. Observaram os autores que a lavagem das folhas de mandioca trituradas após fervura por 15 minutos em água foi o meio mais eficiente de remoção de cianeto antes do cozimento sob forma de guisados, com redução média de 85% do valor original de 466 a 630 mg/kg de cianeto nas folhas frescas. Além disso, o cozimento subsequente removeu quase todo o cianeto remanescente, restando de 1 a 2 mg/kg. Esta parece ser a forma mais eficiente de eliminação de cianeto nas folhas frescas de mandioca.

Gómez e Valdivieso (1985) verificaram o efeito na eliminação de cianeto da folhagem de mandioca seca ao sol em piso de concreto e seca em estufa a 60°C e concluíram que a secagem ao sol eliminou mais cianeto que em estufa a 60°C (82 a 94% versus 68 a 76%, respectivamente). Observaram

também que a maioria do cianeto na folhagem seca ao sol era cianeto livre (62 a 77%), enquanto na folhagem seca em estufa a 60°C era de apenas 24 a 36%.

Padmaja (1989) constatou também que murchamento do ramo todo de mandioca, sob sombra por 16 horas seguida pela secagem das folhas a 60°C, foi mais eficaz na redução dos níveis de cianeto. Já as folhas murchas picadas retiveram a maior percentagem de cianeto que a folha inteira murcha, após secagem.

b) Nitratos e nitritos

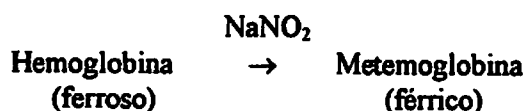
Os nitratos e nitritos encontram-se naturalmente distribuídos no meio ambiente (solo, água e vegetais) em decorrência do ciclo do nitrogênio (Araújo e Midio, 1989).

Os nitritos se originam, principalmente, pela ação das bactérias nitrificantes sobre o nitrato. A proliferação dessas bactérias é favorecida pela má conservação após o cozimento, pelo armazenamento em condições de temperatura e umidade inadequadas e pela interrupção da baixa temperatura nos produtos congelados (Phillips, 1968). A redução do nitrato a nitrito pode ocorrer tanto nas hortaliças frescas como nas submetidas ao processo de cocção (Olmedo e Bosch, 1988 a, b).

Entre as verduras que geralmente contêm concentrações elevadas de nitratos, chegando a alcançar níveis acima de 3.000 mg/kg, destacam-se o espinafre, a beterraba, o rabanete, a beringela, o aipo, a alface, o nabo, a cenoura e a couve (Kamm, Mckeown e Smith, 1965; Wolff e Wasserman, 1972). Todavia, esses valores podem variar em função de fatores ambientais, genéticos, de maturação e até mesmo da amostragem para a sua análise em alimentos. Lara e Takahashi (1982) determinaram os níveis de nitratos em diversas hortaliças (20 amostras para cada hortaliça), provenientes de feiras livres na cidade de São Paulo, encontrando teores (em mg de nitrato de sódio/kg) que variaram para a

alface de 63 a 3.294, para a couve de 323 a 5.896 e para o espinafre de 545 a 4.136.

Os nitratos não são considerados compostos de alto risco em provocar intoxicações, apesar de existirem evidências de que podem interferir no metabolismo da vitamina A e nas funções da glândula tireóide (Swan, 1975). Porém, uma elevada ingestão de nitratos, que sob certas condições podem ser reduzidos a nitritos, representa um risco, por serem o ponto de partida para uma cadeia de reações que os converte em substâncias tóxicas. Assim, os nitritos são considerados o principal agente tóxico. A formação de metemoglobina por oxidação do íon ferroso do complexo porfirínico em íon férrico representa o mais importante efeito tóxico agudo decorrente da presença do nitrito no organismo (Olmedo e Bosch, 1988a, b).



A metemoglobina não se liga reversivelmente ao oxigênio e sua presença também influencia a curva de dissociação de oxigênio da hemoglobina residual, sendo, desta forma, menos efetiva no transporte de oxigênio, acarretando a morte por hipoxia (Phillips, 1968; Wolff e Wasserman, 1972; Swan, 1975; Boronat, Padrós e Alonso, 1982; Olmedo e Bosch, 1988b).

Em sua revisão, Araújo e Midio (1989) comentaram que a ingestão de nitratos e nitritos pode levar também à formação de compostos N-nitrosos, como, por exemplo, as nitrosaminas, que são compostos potencialmente carcinogênicos.

c) **Ácido oxálico**

O ácido oxálico é um sólido cristalino branco, solúvel em água (aproximadamente 10 g/100mL) a 20°C. É um ácido forte ($pK_1 = 1,46$; $pK_2 = 4,40$) que forma sais de sódio e potássio solúveis em água, mas menos solúveis com alcalinos terrosos e outros metais bivalentes. O oxalato de cálcio é particularmente insolúvel a pH neutro ou alcalino, mas se dissolve facilmente em meio ácido (Guil et al., 1996).

A ingestão acidental de 5 g, ou mais, de ácido oxálico puro, como produto químico, produz, sem dúvida, severa úlcera na boca, estômago e intestino, hemorragia gástrica, cólica renal e algumas vezes, convulsão (Fasset, 1973). A importância de se dosar ácido oxálico em alimentos está no fato de que o mesmo pode formar um complexo com o cálcio, tornando-o indisponível (Liener, 1980). Porém, existem relatos sobre danos decorrentes da ingestão de alimentos contendo oxalatos, mas a maioria dos seres humanos tem boa capacidade de se adaptar a níveis muito baixos de cálcio. Para que seja notado um efeito crônico, é necessário que haja a combinação de uma elevada ingestão de oxalato com a baixa ingestão de cálcio e de vitamina D, por um período prolongado (Fasset, 1973). Assim, do ponto de vista estritamente nutricional, o problema é com relação a biodisponibilidade de cálcio na dieta alimentar. Segundo Guil et al. (1996) esta biodisponibilidade é determinada pela razão (g ácido oxálico/kg)/(g cálcio/kg). Portanto é importante conhecer o risco em potencial da presença de ácido oxálico nos alimentos folhosos.

d) **Inibidores de tripsina**

Os inibidores de proteases são, na sua maioria, proteínas de ampla distribuição no reino vegetal, capazes de inibir as atividades das enzimas tripsina, quimotripsina e carboxipeptidases. Dentre os inibidores de proteases, os

da tripsina são os mais amplamente estudados (Liener e Kakade, 1980; Sgarbieri, 1987).

Os inibidores de tripsina, particularmente da soja, vêm sendo estudados desde o início deste século. Com base nos muitos estudos com animais monogástricos têm-se atribuído aos inibidores de tripsina, presentes na alimentação à base de leguminosas, a responsabilidade de reduzir a taxa de crescimento e provocar alterações metabólicas do pâncreas (Sgarbieri, 1987; Al-Wesali et al., 1995). Todavia, a adição do inibidor quimicamente puro a uma dieta sintética e balanceada para ratos em crescimento não interferiu com o crescimento dos animais, porém produziu uma hipertrofia pancreática. A mesma ocorre devido ao mecanismo de inibição retroativo do controle da secreção do pâncreas. Os níveis de tripsina livre no intestino delgado determinam a quantidade de secreção pancreática, ou seja, quando o nível de tripsina abaixa a um certo limiar, o pâncreas é induzido, pela ação da colecistoquinina, a secretar mais enzima. O inibidor de tripsina bloqueia a ação enzimática resultando em aumento excessivo da concentração plasmática de colecistoquinina. Desta forma, o pâncreas é continuamente estimulado a liberar mais enzima, provocando a hipertrofia pancreática (Sgarbieri, 1987).

Embora a hipertrofia pancreática seja, freqüentemente, relatada em animais de laboratório, e supostamente desencadeada pela presença de inibidores de proteases, não existem evidências de efeitos deletérios em seres humanos (Deshpande e Nielsen, 1987).

Diferentemente de ratos e galinhas, a ingestão de farinha de soja crua por porcos da Índia, bezerras e suínos não provoca hipertrofia pancreática, contudo observa-se hiposecreção das enzimas pancreáticas e sérica, depressão do ganho de peso corporal ou perda de peso de animais (Hasdai, Nitsan e Volcani 1989).

A maioria dos inibidores de proteases de plantas é destruído pelo calor, ocasionando uma melhoria do valor nutritivo da proteína. A destruição da

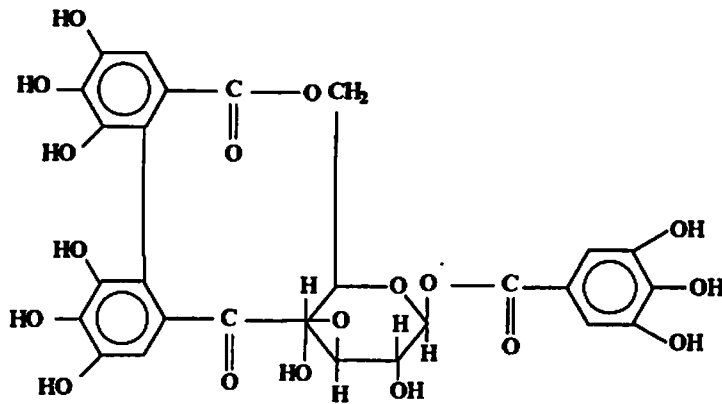
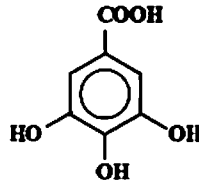
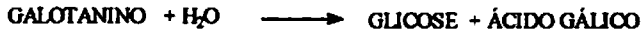
atividade do inibidor de tripsina da soja pelo calor depende da temperatura, duração do aquecimento, tamanho da partícula e condições de umidade. Estas variáveis são controladas no processamento industrial da farinha de soja, a fim de se obter um produto com um máximo valor nutritivo (Liener e Kakade, 1980).

e) Polifenóis

Os polifenóis de origem vegetal são substâncias que variam de compostos de baixo peso molecular, como os ácidos caféico, sinápico e gálico, a compostos com pesos moleculares mais elevados, com estruturas mais complexas, como taninos e lignina (Eggum e Campbell, 1979).

Os taninos são compostos fenólicos solúveis em água, com peso molecular entre 500 e 3000 Daltons (Gupta e Haslam, 1979), com cores que podem variar do branco ao marrom-claro e com sabor adstringente (Bobbio e Bobbio, 1995). Estes polifenóis contêm um grande número de hidroxilas ou outros grupos funcionais e por isto são capazes de formar ligações cruzadas estáveis com proteínas e outras macromoléculas. Quatro tipos de ligações estão envolvidas nos complexos tanino-proteína: ligação de hidrogênio, interação hidrofóbica, atrações eletrostáticas e ligações covalentes associada com oxidação (Chung et al., 1998).

Os taninos podem ser classificados em dois grupos: hidrolisáveis e não hidrolisáveis (taninos condensados). Os taninos hidrolisáveis (Figura 4), muito usados na curtição de couro, contêm um núcleo central polihidroxilado, como a glicose, que são, parcialmente ou totalmente, esterificados com ácido gálico (galotaninos) ou ácido hexahidroxi-difênico (elagitaninos). Após hidrólise com ácidos, bases ou certas enzimas, os galotaninos produzem glicose e ácidos gálico. O ácido hexahidroxi-difênico dos elagitaninos sofrem lactonização para produzir o ácido elágico (Chung et al., 1998). O ácido tânico (Figura 5), como



ELAGITANINO (CORILAGINO)

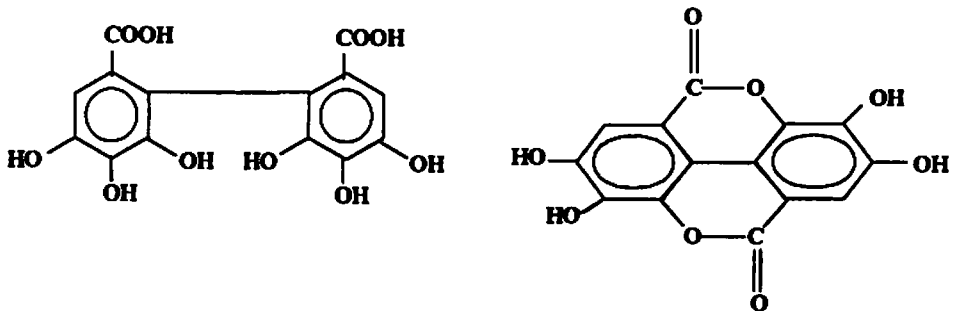


FIGURA 4 Taninos hidrolisáveis.

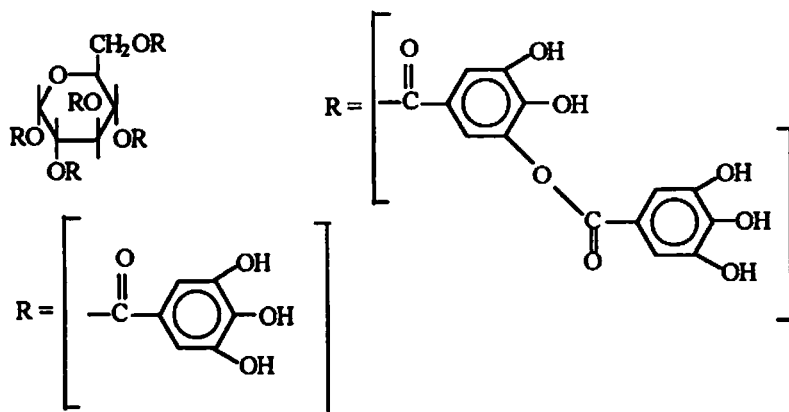
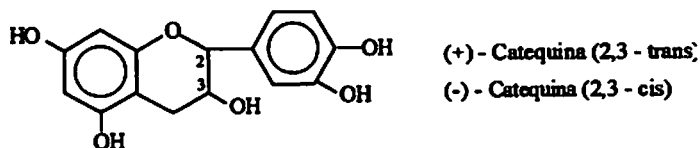


FIGURA 5 Estrutura do ácido tânico (Sgarbieri, 1987).

um exemplo de tanino hidrolisável, fornece por hidrólise glicose e ácido gálico na proporção de até sete resíduos de ácido gálico por unidade de glicose.

Os taninos não hidrolisáveis são estruturalmente mais complexos que os hidrolisáveis. Eles são, principalmente, os produtos polimerizados dos flavan-3-ols e flavan-3,4-diols, ou mistura do dois. Os polímeros referidos como flavolanos são popularmente chamados taninos condensados. Os taninos condensados são amplamente distribuídos em frutas, verduras, forragem, cacau, vinho tinto e certos grãos de alimentos, como o sorgo e legumes (Chung et al., 1998).

Os flavan-3-ols são freqüentemente referidos como catequinas. As moléculas de catequinas possuem dois átomos de carbonos assimétricos no C₂ e C₃, existindo, portanto, quatro isômeros. Estes são (+) e (-) catequinas em que os grupos 2-fenil e 3-hidroxi estão na posição trans (Chung et al., 1998).



influência dos taninos na absorção de cálcio fornecido por três variedades de feijão, tanto cruas como cozidas.

O consumo de alimentos ricos em taninos, como chá de ervas, provoca a incidência de câncer, como do esôfago, mas pode ter uma associação negativa com a incidência de câncer de estômago. Muitos taninos têm mostrado reduzir a atividade mutagênica. As atividades anticarcinogênica e antimutagênica dos taninos devem estar relacionadas à sua propriedade antioxidativa, que é importante na proteção do dano oxidativo celular, incluindo peroxidação lipídica (Chung et al., 1998).

Os taninos presentes em concentrações variadas nos alimentos têm efeitos profundos na saúde humana. Como os taninos podem estar envolvidos na formação de câncer, são antinutritivos ou apresentam outros efeitos adversos, não é desejável ingeri-lo em grandes quantidades. Entretanto, a ingestão do tipo correto e de pequena quantidade pode promover condições ótimas de saúde, uma vez que afetam as enzimas metabólicas, a imunomodulação ou outras funções (Chung et al., 1998). Assim, após um ampla revisão dos taninos em relação à saúde humana, Chung et al. (1998) concluíram que mais estudos são necessários para determinar: a) o destino dos taninos no corpo humano, b) a carcinogenicidade ou não de cada molécula de tanino em órgãos alvos específicos, c) o mecanismo de ação envolvido nas atividades anticarcinogênica, antimutagênica e antimicrobiana e d) a aplicação de taninos na medicina e indústria.

O teor de taninos em folhas de mandioca aumenta com a maturidade (Gómez e Valdivieso, 1985; Ravindran e Ravindran, 1988) e varia entre cultivares numa faixa de 2,91 a 4,30% equivalentes de ácido tânico na matéria seca (Padmaja, 1989). Por sua vez, Reed et al. (1982) encontraram que a fibra detergente neutra (FDN) obtida da farinha de folhas secas a 55°C, por 48 horas em estufa de ventilação forçada, contém taninos condensados e níveis elevados

de proteína bruta. A quantidade de proteína bruta na FDN, que é insolúvel quando tratada com pepsina e protease, é altamente correlacionada com a quantidade de taninos na FDN. Os taninos condensados são ricos em prodelfinidina e devem ser um importante fator limitante no valor nutritivo de forragem da mandioca.

Para aumentar a disponibilidade biológica de proteínas de folhas de mandioca, Padmaja (1989) estudou os efeitos de certos tratamentos na redução dos níveis de taninos condensados. Esse autor constatou que a secagem a 60°C reduziu o teor de taninos. Murchamento do ramo todo sob sombra por 16 horas, seguido pela secagem das folhas a 60°C foi mais vantajoso na redução dos níveis deste composto. Ele também observou um teor de tanino ligeiramente mais elevado na farinha de folhas de mandioca que foram secas em estufa a 45°C, por 24 horas. Além disso, ele também observou redução dos níveis de taninos de 79 e 95% quando pulverizou hidróxido de amônio, 2,5 mol/L e concentrado, sobre as folhas de mandioca frescas, respectivamente. Gómez e Valdivieso (1985) verificaram que a folhagem de mandioca seca ao sol apresentou níveis mais baixo de taninos que a seca em estufa 60°C.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L. B. de; PENTEADO, M. de V. C. Carotenóides com atividade pró-vitamínica A de cenouras (*Daucus carota* L.) comercializadas em São Paulo, Brasil. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 133-141, 1987.
- ALTERNATIVAS alimentares. Belo Horizonte: Prefeitura Municipal – Secretaria Municipal de Abastecimento, 1994. 49 p.
- AL-WESALI, M.; LAMBERT, N.; WELHAM, T. DOMONEY, C. The influence of pea seed trypsin inhibitors on the *in vitro* digestibility of casein. *Journal of the Science of Food and Agricultural*, London, v. 68, n.4, p. 431-437, 1995.
- ANUÁRIO estatístico do Brasil - 1992. Rio de Janeiro, IBGE, 1992.v. 2,1119 p.
- ARAÚJO, A. C. P.; MIDIO, A. F. Nitratos, nitritos e compostos N-nitrosos em alimentos: onde está o problema? *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 41, n. 10, p. 947-956, 1989.
- ARAÚJO, R. L. de. Situação alimentar e nutricional do Brasil – 1992. Brasília: Vox, 1992. 203 p.
- AWOYINKA, A. F.; ABEGUNDE, V. O.; ADEWUSI, S. R. A. Nutrient content of young cassava leaves and assessment of their acceptance as a green vegetable in Nigeria. *Plant Foods for Human Nutrition*, Dordrecht, v. 47, p. 21-28, 1995.
- BARRIOS, E. A.; BRESSANI, R. Composición química de la raíz y de la hoja de algunas variedades de yuca Manihot. *Turrialba*, San José, v. 17, n. 3, p. 314-320, 1967.

- BASSIR, O.; FAFUNSO, M. Effect of pre-cooking processing on the cyanide contents of the leaves of eight cultivars of the cassava plant *Manihot esculenta*. **Plant Foods for Man**, v. 2, p.91-94, 1976.
- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2. ed. São Paulo:Varela, 1995. 223 p.
- BORONAT, M. C. T.; PADRÓS, R. B.; ALONSO, M. I. Nitratos y nitritos en la alimentación infantil: riesgos de sua ingesta. **Alimentaria**, Madrid, v. 19, n. 133, p. 31-35, 1982.
- BRADBURY, J. H.; EGAN, S. V.; LYNCH, M. J. Analysis of cyanide in cassava using acid hydrolysis of cyanogenic glucosides. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 55, p. 277-290, 1991.
- BRANDÃO, C. T.; BRANDÃO, R. F. **Alternativas alimentares**. Brasília: CNBB - Pastoral da criança, 1989. 51 p.
- CARVALHO, V. D. de; CHAGAS, S. J. de R.; JUSTE JUNIOR, E. S. G. Influência da idade na colheita sobre a produtividade e valor nutritivo da parte aérea de seis cultivares de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v. 10, n. 1/2, p. 47-58, 1991.
- CARVALHO, V. D. de; CHAGAS, S. J. R.; MORAIS, A. R. de; PAULA, M. B. de. Efeito da época de colheita na produtividade e teores de vitamina C e β -caroteno da parte aérea de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v. 8, n. 1, p. 25-35, 1989.
- CARVALHO, V. D. de; PAULA, M. B. de; JUSTE JUNIOR, E. S. G.; KATO, M. do S. A. Características nutritivas de fenos do terço superior e das folhas de cultivares de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v. 5, n. 1, p. 63-70, 1986.
- CARVALHO, V. D. de; KATO, M. do S. A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 13, n. 145, p. 23-28, 1987.

CARVALHO, V. D. de; SILVA, A. T. da; CLEMENTE, E. Efeito da suplementação de rações a base de fubá com feno da parte aérea de mandioca em alguns parâmetros nutricionais de ratos. *Revista Brasileira de Mandioca*, Cruz das Almas, v. 5, n. 1, p. 77-82, 1986.

CHEW, M. Y. Cyanide content of tapioca (*Manihot utilissima*) leaf. *Malaysian Agricultural Journal*, Kuala Lumpur, v. 48, p. 354-356, 1972.

CHUNG, K. T.; WONG, T. Y.; WEI, C. I.; HUANG, Y. W.; LIN, Y. Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 38, n. 6, p. 421-464, 1998.

COBRE, R. V.; JABUONSKI, R. E. A importância econômica e social das plantas olerícolas. In: FERREIRA, M. E.; CASTELANE, P. D.; DRUZ, M. C. P. (eds.). *Nutrição e adubação de hortaliças*. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fósforo, 1993. p. 1-14.

CONN, E. E. Cyanogenic compounds. *Annual Reviews Plant Physiology*, Palo Alto, v. 31, p. 433-451, 1980.

COOKE, R. D.; BLAKE, G. G.; BATTERSHILL, J. M. Purification of cassava linamarase. *Phytochemistry*, Oxford, v. 17, p. 381-383, 1978.

DAHNIYA, M. T.; OPUTA, C. O.; HAHN, S. K. Effects of harvesting frequency on leaf and root yields of cassava. *Expl. Agric.*, v. 17, p. 91-95, 1981.

DESHPANDE, S. S.; NIELSEN, S. S. *In vitro* digestibility of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: the role of heat-stable protease inhibitors. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 52, n. 5, p. 1330-1334, 1987.

EGGUM, B. O.; CAMPBELL, L. D. Nutritional and antinutritional assay. In: EGGUM, B. O.; CAMPBELL, L. D. *Seed protein improvement in cereals and grain legumes*. Viena: International Atomic Energy Agency, 1979. v. 1. p. 353-368.

- EGGUM, O. L.** The protein quality of cassava leaves. *The British Journal of Nutrition*, New York, v. 24, p. 761-769, 1970.
- ELBE, J. H. von; SCHWARTZ, S. J.** Colorants. In: **FENNEMA, O. R. (ed.).** *Food Chemistry*. 3. ed. New York: M. Dekker, 1996. p. 651-722.
- FASSET, D. W.** Oxalates. In: **COMMITTEE ON FOOD PROTECTION.** *Toxicants occurring naturally in foods*. 2.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1973. p. 346-352.
- FRANCO, G. V. E.** *Tabela de composição química dos alimentos*. 8. ed. São Paulo: Atheneu, 1992. 230 p.
- FULLER, H. L.; CHANG, S. I.; POTTER, D. K.** Detoxication of dietary tannic acid by chicks. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 91, p. 477-481, 1967.
- GÓMEZ, G.; NOMA, A. T.** The amino acid composition of cassava leaves, foliage, root tissues and whole-root chips. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v. 33, n. 4, p. 595-601, 1986.
- GÓMEZ, G.; VALDIVIESO, M.** Cassava foliage: chemical composition, cyanide content and effect of drying on cyanide elimination. *Journal of the Science of Food and Agricultural*, Chichester, v. 36, p. 433-441, 1985.
- GÓMEZ, G.; VALDIVIESO, M.; NOMA, A. T.** The influence of cultivar and plant age on the chemical composition of field-grown cassava leaves and roots. *Qual. Plant Foods Hum. Nutr.*, Dordrecht, v. 35, p. 109-119, 1985.
- GORDON, D. T.** Functional properties vs physiological action of total dietary fiber. *Cereal Foods World*, St Paul, v. 34, n. 7, p. 517-525, 1989.
- GUIL, J. L.; TORIJA, M. E.; GIMÉNEZ, J. J.; RODRIGUEZ-GARCIA, I; GIMÉNEZ, A.** Oxalic acid and calcium determination in wild edible plants. *Journal Agricultural Food Chemistry*, London, v. 44, p. 1821-1823, 1996.

- GUPTA, R. K.; HASLAN, E. Vegetable tannins: structure and biosynthesis. In: HULSE, J. H. (ed.). *Polyphenols in cereals and legumes*. Ottawa: IDRC, 1979. p. 15-24.
- HALL, J. M. A review of total dietary fiber methodology. *Cereal Foods World*, St Paul, v. 34, n. 7, p. 526-528, 1989.
- HASDAL, A.; NITSAN, Z.; VOLCANI, R. Growth, digestibility, and enzyme activities in the pancreas and intestines of guinea-pigs fed on raw and heated soya-bean flour. *British Journal of Nutrition*, New York, v. 62, n. 3, p. 529-537, 1989.
- HEINONEN, M. I. Carotenoids and provitamin A activity of carrot (*Daucus carota* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 38, n. 3, p. 609-612, 1990.
- KAMM, L.; McKEOWN, G. G.; SMITH, D. M. Food additives: new colorimetric method for the determination of the nitrate and nitrite content of baby foods. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, Washington, v. 48, n. 5, p. 892-897, 1965.
- KOJIMA, M.; IWATSUKI, N.; DATA, E. S.; VILLEGAS, C. D. V.; URITANI, I. Changes of cyanide content and linamarase activity in wounded cassava roots. *Plant Physiology*, Rockville, v. 72, p. 186-189, 1983.
- KUMAR, R.; SINGH, M. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal Agricultural Food Chemistry*, London, v. 32, p. 447-453, 1984.
- LAJOLO, F. M.; TIRAPEGUI, J. Proteínas e aminoácidos. In: DUTRA-de-OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. (eds.). *Ciências nutricionais*. São Paulo: Sarvier, 1998. p. 42-69.
- LANCASTER, P. A.; BROOKS, J. E. Cassava leaves as human food. *Economy Botany*, New York, v. 37, n. 3, p. 331-348, 1983.
- LARA, W. H.; TAKAHASHI, M. Y. Níveis de nitrato em hortaliças. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 42, n. 1/2, p. 53-57, 1982.

- LEE, S. C.; VICENT, R.; PROSKY, L.; SULLIVAN, D. M. Evaluating an analytical method for complex carbohydrate determinations. *Cereal Foods World*, St Paul, v. 41, n. 2, p. 64-70, 1996.
- LEHNINGER, A. L. *Princípios de bioquímica*. Tradução de W. R. Loodi e A. A. Simões. São Paulo: Sarvier, 1995. 839 p. Tradução de: Principles of biochemistry.
- LIAO, M. L.; SEIB, P. A. Selected reactions of L-ascorbic acid related to foods. *Food Technology*, Chicago, v. 11, p. 104-107, 1987.
- LIEBEREI, R.; SELMAR, D.; BIEHL, B. Metabolization of cyanogenic glycosides in *Hevea brasilienses*. *Plant Syst. Evol.*, Viena, v. 150, p.46-63, 1985.
- LIENER, I. E. Miscellaneous toxic factors. In: LIENER, I. E. (ed.). *Toxic constituents of plant foodstuffs*. 2. ed. New York: Academic, 1980. p. 429 - 467.
- LIENER, I. E.; KAKADE, M. L. Protease inhibitors. In: LIENER, I. E. (ed.). *Toxic constituents of plant foodstuffs*. 2.ed. New York: Academic, 1980. p. 7-71.
- MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. *Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia*. 9.ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179 p.
- MARCONDES, E.; MONTEIRO, D. M.; BARBIERI, D.; QUARENTEI, G.; YUNES, J.; CAMPOS, J. V. M.; SETIAN, N.; FERNANDES, W. dos S. *Desnutrição*. São Paulo: Sarvier, 1976. 286 p.
- MARTY, C.; BERSET, C. Degradation products of trans- β -carotene produced during extrusion cooking. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 53, n. 6, p. 1880-1886, 1988.
- McMAHON, J. M.; WHITE, W. L. B.; SAYRE, R. T. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal Experimental Botany*, Oxford, v. 46, n. 288, p. 731-741, 1995.

- MINAZZI-RODRIGUES, R. S.; PENTEADO, M. de V. C. Carotenóides com atividade pró-vitáminica A em hortaliças folhosas. Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 25, p. 39-52, 1989.**
- MKPONG, O. E. YAN, H.; CHISM, G.; SAYRE, R. T. Purification characterization and localization of linamarase in cassava. Plant Physiology, Rockville, v. 93, p. 176-181, 1990.**
- NAGY, S. Vitamin C contents of citrus fruits and their products: a review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, London, v. 28, p. 8-18, 1980.**
- NAHRSTED, A. Cyanogenic compounds as protecting agents for organisms. Plant Syst. Evol., Vienna, v. 150, p. 35-47, 1985.**
- NELSON, T. S.; STEPHENSON, E. L.; BURGOS, A.; FLOYD, J.; YORK, J. O. Effect of tannin content and dry matter digestion on energy utilization and average amino acid availability of hybrid sorghum grains. Poultry Science, Champaign, v. 54, 1620-1623, 1975.**
- NWOKOLO, E. Leaf meals from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and siam weed (*Eupatorium odoratum* L.) as nutrient sources in poultry diets. Nutrition Reports International, Los Altos, v. 36, p. 819-826, 1987.**
- OKE, O. L. Problems in the use of cassava as animal feed. Animal Feed Science and Technology, Amsterdam, v. 3, p. 345-380, 1978.**
- OLMEDO, R. G.; BOSCH, N. B. Aspectos toxicológicos de la presencia de nitratos y nitritos en los productos hortícolas cocidos y en su agua de cocción. Alimentaria, Madrid, v. 25, p. 71-75, 1988a.**
- OLMEDO, R. G.; BOSCH, N. B. Ingestion de nitratos procedentes de productos hortícolas y su incidencia toxicológica. Alimentaria, Madrid, v. 25, p. 76-78, 1988b.**

- OLSON, A.; GRAY, G. M.; CHIU, M.** Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. **Food Technology**, Chicago, v. 41, n. 2, p. 71-80, 1987.
- OSUNTOKUN, B. O.** Cassava diet, chronic cyanide intoxication and neuropathy in Nigerien Africans. **World Rev. Nutr. Dietet.**, v. 36, p. 141-173, 1981.
- PADMAJA, G.** Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 37, p. 712-716, 1989.
- PECHNIK, E.; GUIMARÃES, L. R.** Sobre o aproveitamento da folha de mandioca (*Manihot* sp.) na alimentação humana III – Mandioca mansa. **Arquivo Brasileiro de Nutrição**, Rio de Janeiro, v. 18, 25-36, 1962.
- PELLETT, P. L.; YOUNG, V. R.** **Nutritional evaluation of protein foods.** Tokio: The United Nations University, 1980. 154 p.
- PHILLIPS, W. E. J.** Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh and processed spinach during storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 1, p.88-91, 1968.
- PIERES, N.; JANSZ, E. R.** Cyanide liberation from linamarin II – Purification and some properties of the cyanide liberating enzymes of manioc rind. **J. Natn. Sci. Coun. Sri Lanka**, v. 4, n. 1, p. 29-47, 1976.
- POULTON, J. E.** Cyanogenesis in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 94, p. 401-405, 1990.
- POURCHET-CAMPOS, M. A.** Fibra e nutrição. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3/4, p. 167-171, 1988.
- POURCHET-CAMPOS, M. A.** Fibra: a fração alimentar que desafia os estudiosos. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 2, p. 53-63, 1990.

- PROULX, W. R.; WEAVER, C. M.; BOCK, M. A.** Trypsin inhibitor activity and tannin content do not affect calcium bioavailability of three commonly consumed legumes. **Journal of Food Science, La Salle Saint**, v. 58, n. 2, p. 382-384, 1993.
- RAMALHO-SOBRINHO, R.** Olericultura no Brasil – área e produção por cultura e por estado no ano de 1990. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA**, 31, Belo Horizonte, 1991. Palestras... Belo Horizonte: EMATER, 1991. p. 174-183.
- RAVINDRAN, V.** Cassava leaves as animal feed: potential and limitations. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, London, v. 61, p. 141-150, 1993.
- RAVINDRAN, V.; RAJAGURU, A. S. B.** Effect of stem pruning on cassava root yield and leaf growth. **Journal Agricultural Science**, New York, v. 25, p. 32-37, 1988.
- RAVINDRAN. G.; RAVINDRAN, V.** Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 27, p. 299-309, 1988.
- REED, J. D.; McDOWELL, R. E.; VAN SOEST, P. J.; HORVATH, P. J.** Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forrage. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, London, v. 33, p. 213-220, 1982.
- REYES, F. G. R.** Substâncias naturalmente presentes nos alimentos ou que se formam no processamento. In: **SIMPÓSIO SOBRE A ALIMENTAÇÃO NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS E DEGENERATIVAS**, 1, Campinas, 1993. Anais... Campinas: UNICAMP, 1993. p. 32-33.
- ROBERFROID, M.** Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 33, n. 2, p. 103-148, 1993.
- ROGERS, D. J.; MILNER, M.** Amino acid profile of manioc leaf protein in relation to nutritive value. **Economic Botany**, New York, v. 17, p. 211-216, 1963.

- ROIG, M. G.; RIVERA, Z. S.; KENNEDY, J. F. L-ascórbico acid: an overview. International Journal of Food Science and Nutrition, Oxford, v. 44, p. 59-72, 1993.**
- ROSS, E; ENRIQUES, F. Q. The nutritive value of cassava leaf meal. Poultry Science, Champaign, v. 48, n. 3, p. 846-853, 1969.**
- SCHNEEMAN, B. O. Dietary fiber: physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. Food Technology, Chicago, v. 40, n. 2, p. 104-110, 1986.**
- SCHNEEMAN, B.O. Soluble vs insoluble fiber different physiological responses. The type of fiber consumed seems to have a impact on the physiological response. Food Technology, Chicago, v. 41, n. 2, p. 81-82, 1987.**
- SELMAR, D.; LIEBEREI, R.; BIEHL, B. Mobilization and utilization of cyanogenic glycosides. The linustatin pathway. Plant Physiology, Rockville, v. 86, n. 3, p. 711-716, 1988.**
- SGARBIERI, V. C. Alimentação e nutrição: fator saúde e desenvolvimento. São Paulo: Almed, 1987. 387 p.**
- SGARBIERI, V. C. Proteínas em alimentos: propriedades, degradação, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.**
- SILVA, M. E. B. da; SILVA, C. M. S. da; SEARA, L. T. Influência da dieta na incidência e desenvolvimento do câncer de cólon e reto em Maceió. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Poços de Caldas, 1996. Resumos ... Viçosa: UFV, 1996. p. 99.**
- SIMS, A. Application of photodiodearray to HPLC methods development-pigments in food. Am. Lab., v. 25, p. 20-24, 1993.**
- SLAVIN, J. L. Dietary fiber: classification, chemical analysis, and food sources. J. Am. Diet. Assoc., Chicago, v. 87, n. 9, p. 1164-1171, 1987.**

- STALCUP, A. M.; JIN, H. L.; ARMSTRONG, DW.; MAZUR, P.; DERGUINI, F.; NAKANISHI, K. Separation of carotenes on cyclodextrin-bonded phases. *J. Chromatogr., Amsterdam*, v. 499, p. 627-635, 1990.
- SWAN, P. F. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *Journal of the Science of Food and Agricultural*, Chichester, v. 26, p. 1761-1770, 1975.
- SWEENEY, J. P.; MARSH, A. C. Vitaminas and other nutrients. Separation of stereoisomers in vegetables. *J.Assoc. Off. Anal.Chem.*, v. 53, n. 5, p. 937-940, 1970.
- TELES, F. F. F.; KIMO, J. W.; BATISTA, C. M.; SILVEIRA, A. J. da. Clorofila total e toxidez cianogênica de folhas da mandioca (*M. esculenta* Crantz) cultivadas em Minas Gerais. *Revista Seiva, Viçosa*, v. 41, n. 89, p. 72-76, 1981.
- THEANDER, O., WESTERLUND, E.; AMAN, P. Structure and components of dietary fiber. *Cereal Foods World*, St Paul, v. 38, n. 3, p. 135 - 141, 1993.
- TROWELL, H., SOUTHGATE, D. A. T.; WOLEVER, T. M. S.; LEIDS, A. R.; GASSULL, M. A.; JENKINS, D. A. Dietary fiber redefined. *Lancet*, London, v. 1, p. 967, 1976.
- TUPYNAMBÁ, M. L. V. C.; VIEIRA, E. C. Isolation of cassava leaf protein and determination of its nutritive value. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v. 19, n. 2, p. 249-259, 1979.
- VILAS BÔAS, L. M. A. Efeito da presença de fibra de mandioca na dieta sobre alguns parâmetros nutricionais e bioquímicos. Belo Horizonte: UFMG, 1979. 68 p. (Dissertação – Mestrado em Bioquímica).
- WHISTLER, R. L.; DANIEL, J. R. Carboidratos. In: FENNEMA, O. R. (ed.). *Química de los alimentos*. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 81-156.

- WOGAN, G. N.; MARLETTA, M. A. Componentes perjudiciales o potencialmente perjudiciales de los alimentos. In: FENNEMA, O.R. *Química de los alimentos*. 2. ed.. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 775-811.
- WOLLF, I. A.; WASSERMAN, A. E. Nitrates, nitrites and nitrosamines. *Science*, Washington, v. 177, p. 15-19, 1972.
- YEOH, H. H. Kinetic properties of β -glucosidase from cassava. *Phytochemistry*, Oxford, v. 28, n. 3, p. 721-724, 1989.
- YEOH, H. H.; CHEW, M. Y. Protein content and amino acid composition of cassava leaf. *Phytochemistry*, Oxford, v. 15, p. 1597-1599, 1976.
- YEOH, H. H.; OH, H. Y. Cyanide content of cassava. *Malaysian Agricultural Journal*, Kuala Lumpur, v. 52, p. 24-28, 1979.

CAPÍTULO 2

FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA I – EFEITO DA SECAGEM DAS FOLHAS SOBRE A ATIVIDADE DA LINAMARASE

RESUMO

Uma das propriedades tóxicas associadas às folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) frescas é devida ao ácido cianídrico livre, que é liberado quando seus glicosídeos cianogênicos, linamarina e lotaustralina, são hidrolisados. Das enzimas envolvidas na liberação de ácido cianídrico, a principal é a linamarase. O efeito da temperatura de secagem de folhas de mandioca, cultivar Baiana, sobre a liberação do ácido cianídrico foi estudado. Antes da secagem das folhas, foram realizados dois ensaios *in vitro*: determinação do pH ótimo e medida da estabilidade térmica da linamarase, visando a escolha das temperaturas de secagem. O pH ótimo foi 6,0 e a linamarase manteve-se estável por duas horas, entre 15 e 30°C. Em temperaturas maiores que 30°C, a enzima começou a perder progressivamente a atividade. A partir dos resultados obtidos, foram realizadas as seguintes formas de secar as folhas, que foram colocadas em bandejas de papel e estas: 1 - sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente, por 14 horas (das 17 às 7 h) e, em seguida, ao sol, sobre piso de concreto; 2 - à sombra, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente; 3 - ao sol, sobre piso de concreto; 4 - em estufa, a 30°C; 5 - em estufa a 40°C. Após secagem, retirou-se o peciolo e as folhas foram moídas. Em seguida, determinou-se o teor de cianeto e mediu-se as atividades das linamarase e tripsina em cada amostra de

farinha. O menor teor em cianeto foi encontrado para a farinha de folhas secas à sombra. A linamarase e a tripsina apresentaram maiores atividades nas farinhas de folhas secas ao sol e em estufa a 40°C, apresentando uma relação direta com o teor de cianeto. Esses resultados contrariam a medida da estabilidade térmica da linamarase *in vitro*, onde ela permaneceu estável somente até 30°C. É provável, que a perda de atividade desta enzima no interior da folha de mandioca durante o período de secagem seja mais lenta do que quando se trabalha *in vitro*, o que levou a uma desnaturação mais rápida. Concluiu-se que o processo de secagem à sombra é o melhor para a eliminação de cianeto. Todavia, para a cultivar Baiana, poderia-se secar as folhas nas diferentes formas empregadas neste trabalho, se for para usar a farinha no preparo de multimisturas ou adicionadas como pitadas nas refeições. Caso contrário, deve-se ter o cuidado de selecionar outras cultivares de mandioca que tenham níveis iniciais mais baixos de cianeto nas folhas, evitando-se assim qualquer risco de toxidez.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Folhas de mandioca, secagem, farinha, linamarase, cianeto.

THE FLOUR OF CASSAVA LEAVES I – THE EFFECTS OF LEAF- DRYING ON THE ACTIVITY OF LINAMARASE

ABSTRACT

One of the toxicant properties associated to the fresh leaves of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is due to the free hydrogen cyanide. It is liberated when its cyanogenic glycosides, linamarin and lotaustralin, are hydrolysed. Of the enzymes involved in the liberation of hydrogen cyanide, the main one is the linamarase. The effect of the temperature of the drying of cassava leaves on the release of hydrogen cyanide was studied. Before the drying of the leaves, two rehearsals in vitro were accomplished: determination of the pH optimum and measure of the thermal stability of the linamarase, seeking the choice of the drying temperatures. The pH optimum was 6,0 and the linamarase kept stable for two hours, between 15 and 30°C. In temperatures higher than 30°C, the enzyme began to lose its activity progressively. Starting from the obtained results, the following leaf-drying strategies were applied, the leaves being placed in paper trays and the following: 1 – on a wood bench, in a shut and airy place, at room temperature for 14 hours (overnight), and soon after under the sun light, on a concrete floor ; 2 – under shadow, on a wood bench, in a shut and airy place, at room temperature; 3 - under the sun light, on a concrete floor; 4 – in oven at 30°C; 5 - in oven at 40°C. After drying, the petiole was removed and the leaves were ground and sieved using of 40-mesh sieve. Soon afterwards the level of cyanide was determined and the activities of the linamarase and trypsin were measured, in each flour sample. The lowest level in cyanide was found for the flour leaves dried in the shadow. The linamarase and the trypsin presented higher activities levels in the flours of leaves dried under sun and those dried in

oven to 40°C, evidencing a direct relationship with the level of cyanide. These results are in contradiction with the measure of the thermal stability of the in vitro linamarase, where it stayed stable only up to 30°C. It is probable, that the loss of activity of this enzyme in interior of the cassava leaf during the drying period is slower than when one works in vitro, which leads to a faster desnaturation. The conclusion drawn was that the under-shadow drying process is the best choic for the elimination of cyanide. Nevertheless, as for the Baiana cultivar, one might have the leaves dried using any of the different methods mentioned in this piece of work, if one is to use the flour in preparation of multi-component mixtures or added as pinches in meals. Otherwise, one must considerer other cassava cultivars which feature lower initial cyanide levels on their leaves, in order to avoid any risk of toxicity.

INDEX TERMS: Cassava leaves, drying, flour, linamarase, cyanide.

1 INTRODUÇÃO

As folhas de mandioca frescas contêm glicosídeos cianogênicos, linamarina e lotaustralina que, ao sofrerem hidrólise, liberam o ácido cianídrico, tóxico aos seres humanos. Essa liberação é propiciada pela ação da enzima linamarase em plantas cujos tecidos foram danificados mecanicamente ou quando a integridade fisiológica foi perdida, como no caso de murchamento das folhas, ou pela ação da β -glicosidase no trato digestivo de animais.

Animais podem eliminar cianeto por várias vias metabólicas, sendo a principal a reação com tiosulfato para formar tiocianato. Essa conversão representa uma redução de 200 vezes em toxicidade. O tiocianato, entretanto, interfere no metabolismo de iodo, causando hipertireoidismo em animais (Langer, 1966; Sihombing, Cromwell e Hays, 1971) e humanos (Ekpechi, Dimitriadou e Fraser, 1966).

Gómez e Valdivieso (1985) verificaram os efeitos da secagem ao sol, sobre piso de concreto ou em estufa a 60°C sobre a eliminação de cianeto da folhagem de mandioca. Concluíram que secagem ao sol reduziu mais o teor de cianeto que aquela a 60°C (82 a 94% versus 68 a 76%, respectivamente). Também observaram que a maior parte do cianeto presente na folhagem seca ao sol era constituída por cianeto livre (62 a 77%), enquanto na folhagem seca a 60°C, havia apenas 24 a 36%. Padmaja (1989) estudou o efeito de três temperaturas de secagem (45, 60 e 75°C) sobre o nível de cianeto de folhas de cinco variedades de mandioca e observou que os menores teores foram encontrados nas folhas secas a 60°C, variando de 7,7 a 15 mg/100 g de matéria seca. Também constatou que o murchamento do ramo todo sob sombra, por 16 horas, seguido pela secagem das folhas a 60°C foi mais eficaz na redução dos níveis de cianeto. Porém, a picagem das folhas murchas antes da secagem

acarretou a maior retenção de cianeto, comparada com a secagem da folha inteira murcha.

No Brasil, o pó de folhas de mandioca vem sendo utilizado como ingrediente de multimisturas ou adicionado à refeição (uma pitada de três dedos), no combate à desnutrição de crianças, sendo acrescentadas à merenda escolar ou incluídas em cestas básicas para famílias carentes, em várias regiões (Brandão e Brandão, 1989; Alternativas ..., 1994). Todavia, até esta data não existem pesquisas em relação ao teor de cianeto nessas multimisturas. Além disso, o nível de cianeto em folhas de mandioca de diferentes cultivares é muito variado, sendo esta variabilidade devida, principalmente, ao fator genético (Barrios e Bressani, 1967; Chew, 1972; Yeoh e Oh, 1979; Teles et al., 1981; Ravindran e Ravindran, 1988). Portanto, a escolha da cultivar a ser processada também deve ser considerada como um fator importante.

Neste trabalho estudou-se o efeito da temperatura de secagem das folhas de mandioca da cultivar Baiana, utilizada para o consumo da raiz tuberosa, sobre a liberação de cianeto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram estabelecidas duas etapas neste experimento.

2.1 Etapa I

Nesta etapa foram determinadas as condições ótimas de ação *in vitro* da linamarase (pH e estabilidade térmica), visando escolher a temperatura de secagem das folhas de mandioca que resultasse em maior liberação do cianeto. As folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, cultivar Baiana) maduras e frescas, originárias do Sítio Santa Maria, Município de Ijaci-MG, foram colhidas pela manhã, transportadas para o laboratório em caixa de isopor contendo gelo e processadas logo em seguida.

- a) Umidade (AOAC, 1990) – foi utilizado o método de perdas de água por dessecação em temperatura de 100 a 105°C da amostra de folhas frescas de mandioca, em triplicata.
- b) Obtenção da linamarase (Santos, 1985, com adaptações) – uma folha de mandioca fresca foi cortada com uma tesoura em pedaços de cerca 0,25 cm² e homogeneizados. Pesou-se 1,0 g que foi triturado em gral de porcelana contendo 0,1 g de ácido ascórbico e 0,2 g de polivinilpirrolidona-insolúvel (Sigma P – 6755) em banho-de-gelo, até se obter uma massa homogênea. Em seguida, suspendeu-se em 10 mL de tampão citrato-fosfato 20 mmol/L, pH 6,0 e centrifugou-se a 2.000 x g, por 15 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi recolhido, dividido em porções e congelado até ser utilizado.
- c) Obtenção da curva de pH (Santos, 1985, adaptado) – alíquotas de 0,2 mL do extrato enzimático foram incubadas a 30°C, com 0,2 mL do substrato,

p-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (10 mmol/L), preparado em tampão citrato-fosfato 0,2 mol/L, variando o pH de 3,0 a 7,0, em intervalos de 0,5 unidades. A reação foi interrompida pela adição de 1,6 mL de NaOH 0,2 mol/L, nos tempos 10, 20, 30 e 40 minutos. Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram incubados do mesmo modo que os experimentais. A leitura espectrofotométrica foi feita a 400 nm, contra água. Considerou-se como pH ótimo (100% de atividade) a inclinação da reta do gráfico (absorbância x tempo) que apresentou maior valor.

- d) Medida da estabilidade térmica da linamarase – alíquotas de 0,2 mL do extrato enzimático foram incubadas nas temperaturas de 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 e 70°C, por duas horas, antes da realização do ensaio nas mesmas condições descritas no item c, mas apenas em pH 6,0. A curva padrão foi obtida com alíquotas de 0,05 a 0,40 mL da solução aquosa de p-nitrofenol (0,0174 g/500 mL) para um volume de 0,40 mL, seguido da adição de 1,6 mL de NaOH 0,2 mol/L. A leitura espectrofotométrica foi feita a 400 nm, contra água. A atividade calculada foi expressa em μ mol de substrato hidrolisado por minuto (U) por 100 g de matéria seca (MS).

2.2 Etapa II

Em função dos resultados obtidos na etapa I, as folhas de mandioca foram colhidas com o pecíolo pela manhã (exceto aquelas a serem submetidas à secagem pela forma 1), no mês de abril (fase de acúmulo de amido), transportadas em caixas de isopor contendo gelo até o local da secagem, sendo colocadas em bandejas de papel e secas das seguintes formas:

- 1 - sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente, por 14 horas (das 17 às 7 h) e, em seguida, ao sol, sobre piso de concreto;

- 2 - à sombra, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente;
- 3 - ao sol, sobre piso de concreto;
- 4 - em estufa a 30°C;
- 5 - em estufa a 40°C.

Após a secagem, retiraram-se os pecíolos e as folhas foram trituradas em liquidificador e passadas em peneira de 40 mesh, sendo o resíduo triturado em gral de porcelana. As farinhas foram embaladas em recipientes de vidro envoltos com papel alumínio e hermeticamente fechados, até as análises químicas.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições (Pimentel Gomes, 1990).

2.2.1 Análises químicas

- a) Umidade (AOAC, 1990) – foi utilizado o método de perdas de água por dessecação em temperaturas de 100 a 105 °C da amostra de folhas frescas de mandioca e da farinha de folhas, em triplicata.
- b) Cianeto
 - ✓ Extrato enzimático para a obtenção da linamarase – foi preparado como descrito no item b da Etapa I. Em seguida, foi dialisado com tampão citrato-fosfato 50 mmol/L, pH 6,0, para remover os glicosídeos cianogênicos. A atividade da enzima foi medida como descrita no item d da Etapa I.
 - ✓ Preparo dos extratos contendo glicosídeos cianogênicos para a dosagem de cianeto (Ikediobi, Onyia e Eluwah, 1980, com algumas adaptações) – 1,0 g da farinha de folhas foi misturado com 25 mL de HCl 0,1 mol/L e agitados por 15 minutos, em agitador magnético, à temperatura ambiente. Filtrou-se e o pH do extrato foi ajustado para 6,0 com solução de NaOH 0,2 mol/L. A seguir centrifugou-se a 2.000 x g por 15 minutos e o sobrenadante foi recolhido e congelado até ser analisado.

- ✓ **Determinação de cianeto (Wood, 1966)** – foram pipetados 0,15 mL do extrato contendo os glicosídeos cianogênicos, 0,05 mL do extrato enzimático e a mistura incubada a 30°C, por 1 hora. Em seguida, foi adicionado 0,8 mL de uma mistura recente de ácido pícrico saturado (1,4 g/100 mL a 30°C) e carbonato de sódio 5g /100 mL na proporção 1:1. Foi deixada em repouso por 10 minutos, adicionou-se 1,5 mL de água e aqueceram-se os tubos com as soluções durante 12 minutos em banho-maria em ebulição. A leitura foi feita em 530 nm, utilizando o cianeto de potássio como padrão. Além do branco reagente fez-se também branco de extrato contendo os glicosídeos cianogênicos (sem enzima) e branco do extrato enzimático (sem glicosídeos cianogênicos). Os resultados foram expressos em mg de cianeto/100 g de MS.
- c) **Atividade da linamarase na farinha de folhas** – o extrato enzimático foi obtido agitando-se por 30 minutos, em agitador magnético, dentro da geladeira, 0,3 g da farinha de folhas de mandioca em 10 mL de tampão citrato-fosfato 20 mmol/L, pH 6,0, contendo 0,1 g de ácido ascórbico e 0,2 g de polivinilpirrolidona-insolúvel. Em seguida, o extrato foi filtrado por tela de náilon e centrifugado a 2.000 x g por 15 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi coletado e mediu-se a atividade da enzima, como descrito no item d da Etapa I.
- d) **Atividade da tripsina na farinha de folhas (Erlanger, Kokowsky e Cohen, 1961)** – o extrato enzimático foi obtido agitando-se por 15 minutos, em agitador magnético, a 4°C, 1,0 g da farinha de folhas de mandioca em 15 mL de água destilada. O extrato foi filtrado por tela de náilon, centrifugado a 2.000 x g por 15 minutos, a 4°C e congelado até ser analisado. Alíquotas de 0,2 mL do extrato enzimático foram utilizadas para determinar a atividade de tripsina a 37°C, juntamente com 1,0 mL de tampão tris 0,2 mol/L, pH 8,5, e 1,0 mL do substrato benzoil-dL-arginina-p-nitroanilida – BApNA (0,435

g/L) e a reação foi interrompida pela adição de 0,2 mL de ácido acético 30 mL/100 mL. Em cada determinação, a mistura de reação foi incubada por 0, 30, 60, 120 e 240 minutos. Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram incubados do mesmo modo que os experimentais. A leitura espectrofotométrica foi realizada em 410 nm. A atividade foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar da p-nitroanilina (8800) e foi expressa em nmol de substrato hidrolisado/minuto (mU) por 100 g de MS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de umidade da folha fresca e das farinhas de folhas de mandioca foram, em média, iguais a 70,50 e 9,40 g/100 g, respectivamente.

Na Figura 1 mostra-se a atividade da enzima em função do pH. A linamarase, atuando nos pH 3,0, 3,5 e 4,0 apresentou atividades de 1, 12 e 40,5%, respectivamente. Observou-se que o pH ótimo da enzima foi 6,0. Este valor está dentro daqueles registrados na literatura, entre 6,0 e 7,3 (Cooke, Blake e Battershill, 1978; Eksittikul e Chulavatnatol, 1988; Yeoh, 1989; Mkpung et al., 1990).

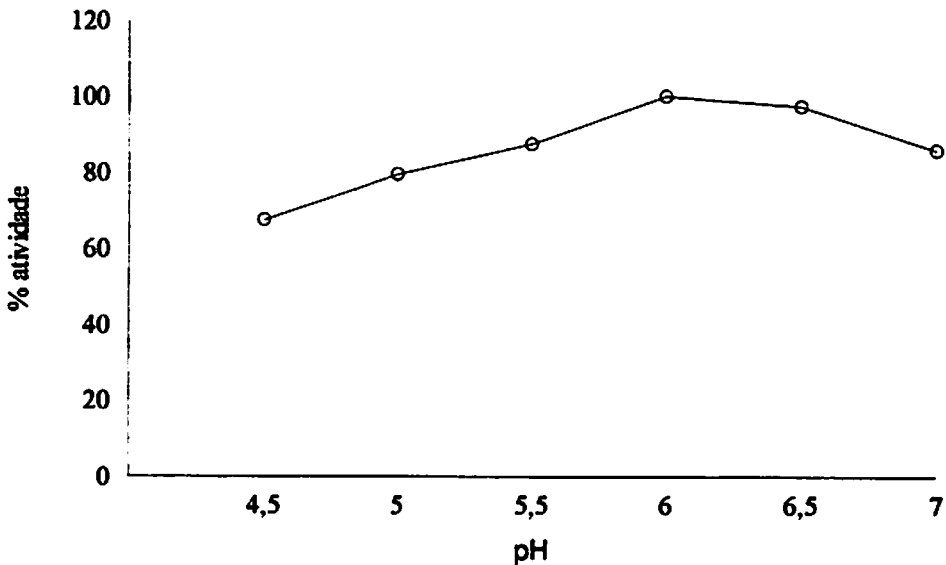


FIGURA 1 Atividade da linamarase em função do pH.

Uma vez determinado o pH ótimo, nas condições de ensaio empregadas, pôde-se medir a estabilidade térmica da enzima. De acordo com a Figura 2, verificou-se que a atividade enzimática manteve-se estável por duas horas, entre

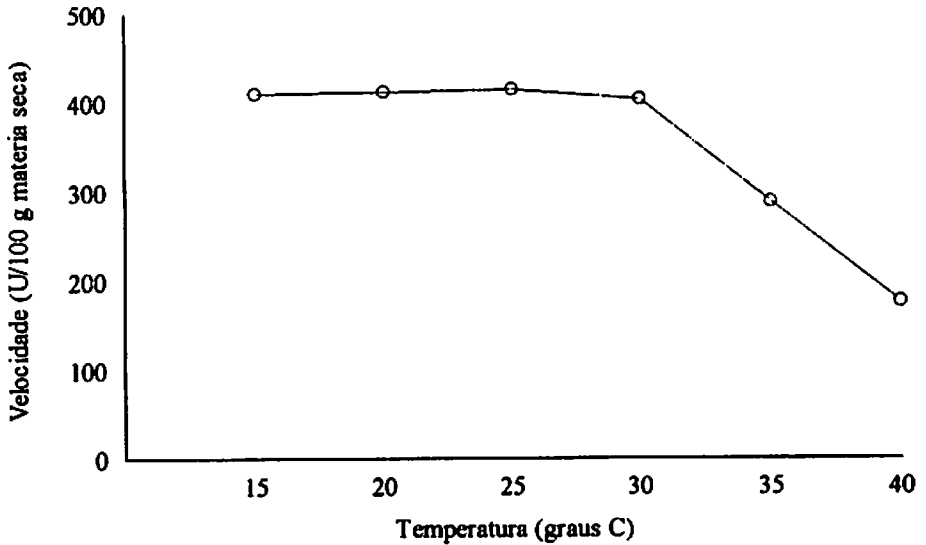


FIGURA 2 Estabilidade térmica da linamarase por duas horas em diferentes temperaturas.

15 e 30°C. Em temperaturas maiores que 30°C a enzima começou progressivamente a perder atividade. Após duas horas a 35 e a 40°C, a enzima perdeu 30 e 57 % da sua atividade, respectivamente, e a 50, 60 e 70°C a enzima perdeu totalmente a sua atividade. Já Yeoh (1989) encontrou uma redução de 34 % na atividade da linamarase de folhas de mandioca, após 30 minutos a 55°C e uma redução de 50 %, após uma h a 50°C. Esses dados mostram que a enzima pode perder a sua atividade dependendo da temperatura e do tempo de exposição. Mkpog et al. (1990) também mediram a atividade da linamarase em folhas de mandioca frescas de dez variedades e encontraram valores que variaram entre 320 e 3.430 U/100 g MS estando o valor médio encontrado para a cultivar Baiana (411 U/100 g MS) dentro da referida faixa.

A análise de variância dos teores de cianeto e das velocidades de reação da linamarase e da tripsina da farinha de folhas de mandioca resultou em diferenças significativas, a 1% de probabilidade pelo teste F, quando as folhas

A análise de variância dos teores de cianeto e das velocidades de reação da linamarase e da tripsina da farinha de folhas de mandioca resultou em diferenças significativas, a 1% de probabilidade pelo teste F, quando as folhas foram submetidas às diferentes formas de secagem (Tabela 1A, Anexo A). Na Tabela 1 são apresentados os resultados médios dos teores de cianeto e das velocidades da linamarase e da tripsina, obtidos para as farinhas de folhas de mandioca.

TABELA 1 Teores médios de cianeto e velocidades médias da linamarase e tripsina das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem.

Secagem*	Em 100 g de matéria seca		
	Cianeto mg	Linamarase U	Tripsina mU
1	50,85 ab	1.876 b	365,52 b
2	19,39 d	1.729 b	397,68 b
3	49,25 b	3.519 a	698,42 a
4	36,22 c	1.663 b	352,79 b
5	56,46 a	3.337 a	703,00 a

Teores médios de umidade (g/100 g) da folha fresca : 70,50 e das farinhas de folhas: 9,40.

* Secagem: 1- colocadas sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente, por 14 horas (das 17 às 7 h) e, em seguida, ao sol, sobre piso de concreto; 2 - à sombra, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente; 3 - ao sol, sobre piso de concreto; 4 - em estufa a 30°C; 5 - em estufa a 40°C.

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

A farinha das folhas secas à sombra apresentou o teor de cianeto, em mg/100g de MS, mais baixo (19,39), seguida pela seca em estufa a 30°C (36,22).

- ✓ 44 h (inclusive as 14 h de sol), para as folhas colocadas sobre bancadas de madeira à tarde e depois ao sol na manhã seguinte (1);
- ✓ 28 h para as secas em estufa a 30°C (4);
- ✓ 26 h (com 14 h de sol) para as secas ao sol (3);
- ✓ 24 h para as secas em estufa a 40°C (5).

Durante a secagem, com o murchamento das folhas, ocorre liberação de ácido cianídrico devido à ação da enzima linamarase sobre o glicosídeo cianogênico. Portanto, quanto mais tempo a linamarase puder atuar sobre os glicosídeos cianogênicos, maior será a liberação do ácido cianídrico, e, para que isto ocorra, é necessária a presença de água, uma vez que a linamarase é uma enzima hidrolítica. Isso deve explicar porque a secagem à sombra ocasionou maior redução de HCN. Todavia, os níveis que permaneceram após as diferentes formas de secagem ainda tomam a farinha de folhas de mandioca tóxica, uma vez que teores de 5 a 10 mg HCN/100 g são considerados tóxicos, segundo Ikediobi, Onyia e Eluwah (1980). Considerando-se que, de modo geral, 100 g da multimistura contêm 3 g de pó de folhas (Madruga e Camara, 1997), e caso se utilize a farinha produzida neste trabalho, obter-se-ia um teor máximo de 1,7 mg de cianeto (secagem a 40°C) para um consumo de 100 g da multimistura/dia, o que não é tóxico. Também a adição de uma pitada de três dedos, equivalente a 1,5 g, de pó de folhas por refeição (Alternativas ..., 1994) não acarretaria problemas de toxidez.

A linamarase apresentou maior atividade (U/100 g MS) na farinha, cujas folhas foram secas ao sol (3.520) e em estufa a 40°C (3.380). Esses resultados contradizem aquele obtido no estudo da estabilidade térmica desta enzima, no qual ela permaneceu estável somente até 30°C. É provável que a perda de atividade desta enzima no interior da folha de mandioca durante o período de secagem seja mais lenta do que quando se trabalha in vitro, o que levou a uma

desnaturação mais rápida. Mais estudos devem ser realizados para buscar informações que expliquem tais resultados.

Observou-se também uma relação direta entre o teor de cianeto e a atividade da linamarase. A fim de buscar uma explicação para esse resultado, mediu-se também a atividade da tripsina (enzima proteolítica), a qual apresentou o mesmo comportamento da linamarase, ou seja, maior atividade (703 mU/100 g MS) nas farinhas das folhas secas ao sol e em estufa a 40°C. Constata-se, assim, que houve diminuição da atividade destas enzimas quando as temperaturas de secagem foram menores. Uma vez que a linamarase, quando em solução, perdeu a sua estabilidade térmica a partir de 30°C, talvez a permanência da enzima por mais tempo na presença de água (maior período de secagem) tenha levado a uma diminuição da sua atividade, o mesmo ocorrendo com a tripsina.

4 CONCLUSÃO

Das temperaturas estudadas neste trabalho, a secagem das folhas de mandioca à sombra acarretou a maior liberação de ácido cianídrico. Todavia, para a cultivar Baiana, poderia-se secar as folhas nas diferentes formas empregadas neste trabalho, se for para utilizar a farinha no preparo de multimisturas ou adicionadas como pitadas nas refeições. Caso contrário, deve-se ter o cuidado de selecionar outras cultivares de mandioca que tenham níveis iniciais mais baixos de cianeto nas folhas, evitando-se assim qualquer risco de toxidez.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTERNATIVAS alimentares II. Belo Horizonte: Prefeitura Municipal – Secretaria Municipal de Abastecimento, 1994. 49 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists.** 15. ed. Arlington, 1990. 2v.
- BARRIOS, E. A.; BRESSANI, R. Composición química de la raíz y de la hoja de algunas variedades de yuca *Manihot*. **Turrialba, San José**, v. 17, n. 3, p. 314-320, 1967.
- BRANDÃO, C. T.; BRANDÃO, R. F. **Alternativas alimentares.** Brasília: CNBB – Pastoral da criança, 1989. 51 p.
- CHEW, M. Y. Cyanide content of tapioca (*Manihot utilissima*) leaf. **Malaysian Agricultural Journal**, Kuala Lumpur, v. 48, p. 354-356, 1972.
- COOKE, R. D.; BLAKE, G. G.; BATTERSHILL, J. M. Purification of cassava linamarase. **Phytochemistry**, Oxford, v. 17, p. 381-383, 1978.
- EKPECHI, O. L.; DIMITRIADOU, A.; FRASER, R. Goitrogenic activity of cassava (a staple Nigerian food). **Nature**, London, v. 210, p. 1137-1138, 1966.
- EKSITTIKUL, T.; CHULAVATNATOL, M. Characterization of cyanogenic β -glucosidase (linamarase) from cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Archive of Biochemistry and Biophysic.**, San Diego, v. 266, n. 1, p. 263-269, 1988.
- ERLANGER, B. F.; KOKOWSKY, N.; COHEN, W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. **Archives Biochemistry and Biophysic**, San Diego, v. 95, n. 1, p. 271-278, 1961.

- GÓMEZ, G.; VALDIVIESO, M.** Cassava foliage: chemical composition, cyanide content and effect of drying on cyanide elimination. **Journal of the Science Food and Agricultural**, Chichester, v. 36, p. 433 - 441, 1985.
- IKEDIOSI, C. O.; ONYIA, G. O. C.; ELUWAH, C. E.** A rapid and inexpensive enzymatic assay for total cyanide in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and cassava products. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 44, n. 12, p. 2803-2809, 1980.
- LANGER, P.** Antithyroid action in rats of small doses of some naturally occurring compounds. **Endocrinology**, Bethesda, v. 79, p. 1117-1122, 1966.
- MADRUGA, M. S.; CAMARA, F. S.** Multimistura: teor de proteínas e aminoácidos. In: **SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, 2, Campinas, 1997. Resumos... Campinas: FEA-UNICAMP, 1997. p. 177.
- MKPONG, O. E.; YAN, H.; CHISM, G.; SAYRE, R. T.** Purification, characterization, and localization of linamarase in cassava. **Plant Physiology**, Rockville, v. 93, p. 176-181, 1990.
- PADMAJA, G.** Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 37, p. 712-716, 1989.
- PIMENTEL GOMES, F.** Curso de estatística experimental. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1990. 467 p.
- RAVINDRAN. G.; RAVINDRAN, V.** Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 27, p. 299-309, 1988.
- SANTOS, C. D. dos.** Fisiologia e bioquímica da digestão em *Erinnyis ello* (Lepoptera: Sphingidae). São Paulo: USP, 1985. 178 p. (Tese - Doutorado em Bioquímica).

- SIHOMBING, D. T. H.; CROMWELL, G. L.; HAYS, V. W. Effect of added thiocyanate and iodine to corn-soybean meal diets on performance and thyroid status of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 33, p. 1154, 1971.
- TELES, F. F. F.; KIMO, J. W.; BATISTA, C. M.; SILVEIRA, A. J. da. Clorofila total e toxidez cianogênica de folhas de mandiocas (*M. esculenta* Crantz) cultivadas em Minas Gerais. **Revista Seiva**, Viçosa, v. 41, n. 89. p. 72-76, 1981.
- WOOD, T. The isolation, properties, and enzymic breakdown of linamarin from cassava. **Journal of the Science Food and Agricultural**, London, v. 17, p. 85- 90, 1966.
- YEOH, H. H. Kinetic properties of β -glucosidase from cassava. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 721-724, 1989.
- YEOH, H. H.; OH, H. Y. Cyanide content of cassava. **Malaysian Agricultural Journal**, Kuala Lumpur, v. 52, p. 24-28, 1979.

CAPÍTULO 3

FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA II – EFEITO DA SECAGEM DAS FOLHAS SOBRE OS NÍVEIS DE ALGUNS NUTRIENTES E ANTINUTRIENTES

RESUMO

O pó de folhas de mandioca, secas apenas à sombra, vem sendo utilizado no Brasil em programas de melhoria da qualidade nutricional de famílias carentes e crianças desnutridas como fonte, principalmente, de vitaminas e minerais. Visando encontrar temperaturas de secagem das folhas de mandioca em que não ocorressem perdas de nutrientes e que permitissem uma redução/inativação maior dos antinutrientes, quando comparada com a secagem à sombra, foram escolhidas as seguintes formas de secar as folhas, sendo colocadas em bandejas de papel e estas: Após secagem, retiraram-se os pecíolos e as folhas foram moídas e passadas em peneira de 40 mesh, sendo o resíduo triturado em gral de porcelana. Após homogeneização, a farinha foi submetida às análises de umidade, fibra detergente neutra, fibra detergente ácida, proteína bruta, açúcares totais, vitamina C, β -caroteno, cianeto, nitrato, oxalato, inibidor de tripsina, polifenóis e digestibilidade protéica *in vitro*. Os teores mais elevados de proteína bruta e os mais baixos de açúcares e vitamina C totais foram encontrados nas farinhas de folhas secas à sombra. Os teores mais baixos de β -caroteno foram encontrados nas farinhas de folhas secas da forma 1. Em relação aos antinutrientes, a farinha de folhas secas à sombra apresentaram teores mais baixos de cianeto, inibidor de tripsina e polifenóis. Como consequência, a digestibilidade protéica *in vitro* foi a mais elevada. Observou-se que nas

temperaturas mais elevadas de secagem houve redução nos teores de nitrato e oxalato. Concluiu-se que a secagem à sombra continua sendo a melhor opção, porém, em períodos de chuva se poderia optar pela secagem artificial em estufa a 30°C. Contudo, é recomendável selecionar cultivares que apresentem teores mais baixos de substâncias antinutritivas.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: folhas de mandioca, farinha, secagem, nutrientes, antinutrientes, digestibilidade protéica.

**THE FLOUR OF CASSAVA LEAVES II – THE EFFECT OF THE
DRYING OF THE LEAVES ON THE LEVELS OF SOME NUTRIENTS
AND ANTINUTRIENTS**

ABSTRACT

The flour made of cassava leaves dried in the shade, has been used in Brazil in programs that seek the improvement of the nutritive quality of food for families in need and undernourished children as a source, mainly, of vitamins and minerals. Seeking to find temperatures of drying the cassava leaves, at which losses of nutrients wouldn't occur and that would allow for a larger reduction/inactivation of the antinutrients, when compared with the drying to the shade system, the following forms of drying the leaves were chosen, the leaves having been placed in paper trays and the following: 1 – on a wood bench, in a shut and airy place, at room temperature for 14 hours (overnight), and soon after under the sun light, on a concrete floor ; 2 – under shadow, on a wood bench, in a shut and airy place, at room temperature; 3 - under the sun light, on a concrete floor; 4 – in oven at 30°C; 5 - in oven at 40°C. After drying, the petiole was removed and the leaves were ground and sieved using of 40-mesh sieve, the residue being triturated in porcelain grail. After homogenization this flour was submitted to the moisture, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, crude protein, total sugars, vitamin C, β -carotene, cyanide, nitrate, oxalate, trypsin inhibitor, poliphenols, and in vitro protein digestibility analyses. All the nutrients analyzed in the flours of cassava leaves, except for the fibers, presented significant differences to one another. The leaves which were dried in the shade fared higher levels of crude protein and lower levels of total sugars and vitamin total C. As for the β -carotene, the lowest levels were found in the flour of leaves

dried by form 1. As for the antinutrients, the flour of leaves dried to the shade presented lower levels of cyanide, trypsin inhibitor and poliphenols. As consequence, the in vitro protein digestibility turned out to be higher. It was observed that there was a reduction in the levels of nitrate and oxalate in the elevated temperatures of drying. The conclusion drawn was that the drying under the shade system continues to be the best option. However, during rainy periods one could opt for the drying artificial in oven at 30°C. Anyway, it is advisable to select cultivars that feature lower levels of antinutritive substances.

INDEX TERMS: Cassava leaves, drying, flour, nutrients, antinutrients, protein digestibility.

1 INTRODUÇÃO

O pó de folhas de mandioca secas apenas à sombra vem sendo utilizado no Brasil em programas de melhoria da qualidade nutricional de famílias carentes e crianças desnutridas, como fonte, principalmente, de vitaminas e minerais (Brandão e Brandão, 1989; Alternativas ..., 1994). Quando os vegetais são secos por métodos convencionais, ocorrem perdas de ácido ascórbico e caroteno (vitamina C e A, respectivamente), enquanto que o aquecimento moderado das proteínas provoca somente desnaturação protéica, sem qualquer desvantagem sob o ponto de vista nutricional (Antunes, 1994).

Segundo Cheftel, Cheftel e Besançon (1992), o efeito dos tratamentos térmicos sobre as proteínas depende das condições em que se realizam e da natureza do produto. Os mais drásticos, em presença ou não de açúcares, são sempre desfavoráveis às proteínas enquanto que os tratamentos moderados somente são prejudiciais quando se realizam na presença de açúcares redutores. Ainda de acordo com, esses autores, as vitaminas A e C podem ser destruídas parcialmente por oxidação durante a secagem com ar quente.

O ácido ascórbico é um nutriente afetado, na maioria das vezes, por qualquer forma de processamento. Por outro lado são muitos os fatores que podem influenciar na degradação do ácido ascórbico, sendo impossível estabelecer com clareza as relações precisas entre precursores e produtos, exceto para as etapas iniciais da reação. Entre aqueles que influenciam os mecanismos degradativos podem ser citados a temperatura, a concentração de sal e açúcar, o pH, a presença ou não do oxigênio, as enzimas, os catalisadores metálicos, a concentração inicial do ácido e a relação ácido ascórbico/ácido deidroascórbico. Já o caroteno é degradado por mecanismo de oxidação de radical livre, com grau de oxidação dependendo da temperatura de secagem. Em temperaturas elevadas,

o β -caroteno pode fragmentar-se, originando uma série de hidrocarbonetos aromáticos. Na presença de oxigênio ocorrem perdas consideráveis de carotenóides ativados pela luz, enzimas e por co-oxidação com hidroperóxidos lipídicos (Tannenbaum, Young e Archer, 1993).

Na literatura pesquisada, duas substâncias antinutricionais têm sido destacadas em folhas de mandioca: os glicosídeos cianogênicos e os taninos (Reed et al., 1982; Gómez e Valdivieso, 1985; Ravindran e Ravindran, 1988; Padmaja, 1989). A primeira está relacionada à liberação de HCN, que é tóxico, e a segunda à digestibilidade da proteína. Entretanto, outras substâncias antinutricionais, que poderiam estar presentes e prejudicando a qualidade da farinha de folhas de mandioca, deveriam ser estudadas, como o nitrato, o oxalato e o inibidor de tripsina. O uso abusivo de fertilizantes tem levado a um aumento no acúmulo de nitrato nos vegetais, especialmente nos folhosos (Rath, Ximenes e Reyes, 1994). O efeito tóxico do nitrato ocorre quando ele é reduzido a nitrito, que oxida a oxihemoglobina para uma forma incapaz de transportar oxigênio e atua como um precursor carcinogênico em combinações N-nitroso, ou seja, nitrato e nitrito em alimentos podem reagir com aminas secundárias para formar nitrosaminas.

Certas nitrosaminas são carcinogênicas por provocarem o aparecimento de tumores malignos em algumas espécies de animais, porém, não há evidências de que possam acarretar câncer em humanos (Sgarbieri, 1987). Segundo Faboya (1990), o oxalato interage com o cátion bivalente Ca levando à formação de cristais insolúveis de oxalato, impedindo a disponibilidade de cálcio para o organismo. Já o inibidor de tripsina é responsável pelo atraso no crescimento e hipertrofia pancreática em determinados animais (Sgarbieri, 1987).

Algumas dessas substâncias antinutritivas podem ter os seus teores reduzidos durante a secagem das folhas de mandioca. É o caso do HCN, cujos teores são reduzidos devido ao contato da enzima linamarase com o substrato

glicosídeo cianogênico, quando ocorre o rompimento dos tecidos (murchamento da folha).

No presente trabalho, estudou-se o efeito de diferentes formas de secagem de folhas de mandioca sobre o teor de alguns nutrientes e antinutrientes, a fim de encontrar temperaturas de secagem que não acarretassem perdas de nutrientes e que permitissem maior redução/inativação dos antinutrientes, quando comparadas com a secagem apenas à sombra.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras.

2.1 Coleta e preparo da amostra

As folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, cultivar Baiana) foram coletadas, preparadas e armazenadas como descrito no Capítulo 2, Etapa II. O delineamento estatístico utilizado também foi o mesmo (Pimentel Gomes, 1990). As farinhas obtidas foram submetidas às análises químicas descritas em seguida.

2.2 Análises químicas

- a) Umidade (AOAC, 1990) – descrita no Capítulo 2, etapa II.
- b) Fibra detergente neutro e fibra detergente ácido proposto por Van Soest e Wine, descrito por Silva (1990) – após digestão da amostra com soluções para fibra detergente neutro (FDN) e para fibra detergente ácido (FDA) por 1h a 100°C, os extratos foram filtrados em cadinhos de porcelana (tarados) contendo lã de vidro, sob vácuo e lavados com água quente e acetona. Os cadinhos foram levados à estufa por 24 h e a quantidade de fibras determinada por diferença de peso. Os resultados foram expressos em g/100g de matéria seca (MS).
- c) Proteína bruta (AOAC, 1990) – foi determinada com base no teor de nitrogênio, dosado pelo método de Kjeldahl. Utilizou-se o fator de conversão 6,25 para obter o teor de proteína. Os resultados foram expressos em g/100g de MS.

- d) Açúcares totais – os açúcares foram extraídos pelo método de Lane - Enyon AOAC (1990) e determinados pelo método de Somogy, adaptado por Nelson (1944). Após digestão das farinhas com etanol 75 mL/100 mL a 80°C por 1 h, foram deixadas em repouso por 15 h. Em seguida, o volume da solução foi ajustado para 50 mL. Fez-se uma hidrólise ácida do extrato e a sua desproteínização. Dosaram-se os açúcares totais, por espectrofotometria em 510 nm, empregando-se a glicose como padrão. Os resultados foram expressos em g de equivalentes de glicose/100 g de MS.
- e) Vitamina C total – determinou-se o teor de vitamina C total pelo método colorimétrico de Roe e Kuether, descrito por Strohecker e Henning (1967). Extrauiu-se o ácido ascórbico das farinhas com ácido oxálico 0,5 g/100 mL e Kiesselgur em agitação. Após filtração, dosou-se a vitamina C no extrato, empregando-se o 2,4-dinitrofenilhidrazina e usando o ácido ascórbico como padrão. Os resultados foram expressos em g de ácido ascórbico/100 g de MS.
- f) β -caroteno (Nagata e Yamashita, 1992) – as farinhas foram homogeneizadas com uma mistura de acetona:hexano (4:6). Em seguida, o extrato foi usado para a leitura de absorbância em espectrofotômetro a quatro comprimentos de onda: 453; 505; 645 e 663 nm. Para os cálculos das concentrações de β -caroteno utilizou-se a seguinte equação:
- $$\beta\text{-caroteno (mg/100 mL)} = 0,216 A_{663} - 1,22 A_{645} - 0,304 A_{505} + 0,452 A_{453}.$$
- Os resultados foram expressos em mg /100 g de MS.
- g) Nitrato (Cataldo et al., 1975) – o nitrato é extraído a 45°C com água deionizada. Na dosagem, um complexo é formado pela nitração do ácido salicílico sob condições altamente ácidas, o qual pode ser lido a 410 nm em soluções básicas (pH maior que 12). A absorbância do material é diretamente proporcional à quantidade de nitrato presente, sem a ocorrência da interferência de íons amônio, nitrito ou cloro. Empregou-se como padrão o KNO₃. Os resultados foram expressos em g de nitrato/100 g de MS.

- h) Oxalato (Loures e Jokl, 1990) – o ácido oxálico é extraído a quente com ácido clorídrico, precipitado e quantificado pela titulação do oxalato de cálcio com permanganato de potássio. Os resultados foram expressos em g de oxalato/100 g de MS.
- i) Cianeto (Wood, 1966; Ikediobi, Onyia e Eluwah, 1980) – descrito no Capítulo 2, etapa II.
- j) Inibidor de tripsina (Kakade, Simons e Liener, 1969; Kakade et al., 1974) – a farinha foi extraída com solução de NaOH 0,1 mol/L em agitação magnética. Após centrifugação, uma alíquota do sobrenadante foi usada no ensaio enzimático empregando o BApNA (benzoi-DL-arginina-p-nitroanilida) como substrato e a enzima tripsina. Se existir inibidor na amostra, este inibe a ação da tripsina sobre o BApNA. A leitura da mistura foi feita a 410 nm. A atividade do inibidor de tripsina foi expressa em termos de unidade de tripsina inibida (UTI)/ mg de MS.
- k) Polifenóis (Goldstein e Swain, 1963) – a farinha foi extraída com metanol 50mL/100 mL em refluxo por três vezes consecutivas. Os extratos de cada extração foram reunidos, evaporados até o volume de 25 mL e submetidos à dosagem de polifenóis segundo Folin-Denis, usando ácido tânico como padrão. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido tânico/100 g de MS.
- l) Digestibilidade protéica in vitro (Akeson e Stahmann, 1964) – a farinha (com teor de nitrogênio conhecido) foi digerida com pepsina e pancreatina, em seus pH ótimos. A reação foi interrompida pela adição de ácido tricloroacético. Após centrifugação, dosou-se nitrogênio no sobrenadante. A caseína foi usada como controle. A digestibilidade encontrada para caseína foi tomada como padrão e seu valor considerado como 100%. As digestibilidades das farinhas foram corrigidas em relação à caseína e os resultados expressos em percentagens.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de umidade das folhas frescas e das farinhas de folhas de mandioca foram, em média, iguais a 70,50 e 9,40 g/100 g, respectivamente.

Todos os nutrientes analisados nas farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem, a exceção das FDN e FDA, apresentaram diferenças significativas, a 1% de probabilidade, pelo teste F. (Tabela 2A, Anexo A). Na Tabela 1 são apresentados os teores médios dos nutrientes analisados nas farinhas de folhas de mandioca, submetidas a diferentes formas de secagem. Os teores das FDN e FDA variaram de 30,59 a 32,82g/ 100 g de MS e 24,24 a 26,81g/100 g de MS, respectivamente. Reed et al. (1982) encontraram na farinha de seis variedades de mandioca de Porto Rico, colhidas aproximadamente aos sete meses, cujas folhas foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 48 horas, teores médios de FDN e FDA em 100 g de MS, de 35,4 e 19,1, respectivamente. Comparando-se esses dados com os deste trabalho, observou-se que há uma variação acentuada nos teores de FDA. Esta é, provavelmente, inerente a cultivar ou devida à idade das folhas.

A farinha de folhas secas à sombra apresentou os teores, em 100 g de MS, mais baixos de açúcares totais (3,82g) e vitamina C (108,62 mg) e os mais elevados de proteína bruta (27,00 g). Em relação ao β -caroteno, o teor (mg/100 g de MS) mais elevado foi encontrado na farinha de folhas de mandioca secas a 30°C (84,83), mas diferiu estatisticamente apenas das colocadas sobre bancadas de madeira à tarde e na manhã seguinte ao sol (64,88). Segundo diversos autores, as folhas de mandioca apresentam um teor em proteína bruta que varia de 14,7 a 40 g/100 g de MS (Pechnik e Guimarães, 1962, Rogers e Milner, 1963; Ross e Enriques, 1969; Yeoh e Chew, 1976; Tupynambá e Vieira, 1979;

TABELA 1 Teores médios de alguns nutrientes das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem.

Secagem*	em 100 g de matéria seca					
	FDN (g)	FDA (g)	Proteína Bruta (g)	Açúcares totais (g)	Vitamina C (mg)	β-caroteno (mg)
1	32,24	24,80	23,75 d	6,08 a	143,32 ab	64,88 b
2	32,82	26,81	27,00 a	3,82 c	108,62 b	78,65 a
3	31,13	24,24	25,25 bc	6,14 a	167,96 a	79,98 a
4	32,63	26,25	24,25 cd	4,61 b	157,90 a	84,83 a
5	30,59	25,33	26,00 ab	5,02 b	168,53 a	79,20 a

Teores médios de umidade (g/100 g) da folha fresca : 70,50 e das farinhas de folhas: 9,40.

* Secagem: 1 - sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente por 14 horas (das 17 às 7 h) e, em seguida, ao sol, sobre piso de concreto; 2 - à sombra, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente; 3 - ao sol, sobre piso de concreto; 4 - em estufa a 30°C; 5 - em estufa a 40°C.

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Reed et al., 1982; Lancaster e Brooks, 1983; Carvalho et al., 1986; Awoyinka, Abegunde e Adewusi, 1995). Esta ampla variabilidade é atribuída, de modo geral, a fatores associados às diferenças de cultivares, fertilidade do solo, clima, estágio de maturidade e processos de amostragem. Já para a vitamina C e o β -caroteno, foram encontrados teores, em 100 g de MS, de 4,91 a 179 mg e de 24,3 a 113,23 mg, respectivamente (Maeda e Salunkhe, 1981; Carvalho et al., 1986). Esta ampla variação é, provavelmente, inerente à cultivar ou devida ao estágio de desenvolvimento da planta, à idade das folhas e às diferentes temperaturas de secagem empregadas.

A análise de variância das substâncias antinutritivas e da digestibilidade protéica *in vitro* da farinha de folhas de mandioca, secas sob diferentes formas, mostrou diferenças significativas a 1% de probabilidade, pelo teste de F (Tabela 3 A, Anexo A). Na Tabela 2 são apresentados os teores médios das substâncias analisadas e da digestibilidade protéica *in vitro*. Observou-se que a secagem à sombra proporcionou à farinha teores mais baixos de cianeto, de inibidor de tripsina e de polifenóis e, como consequência, a digestibilidade protéica foi a mais elevada. Dessas substâncias, já se sabe que os polifenóis diminuem a digestibilidade. Seus níveis variaram de 22,68 a 27,80 mg de equivalentes de ácido tânico/g de MS na farinha de folhas em estudo. Já Padmaja (1989) encontrou, na farinha de folhas maduras de cinco variedades de mandioca, teores de polifenóis que variaram entre 29,3 e 37,8 mg de equivalentes ácido tânico/g de MS, não sendo significativamente diferentes da farinha de folhas jovens. Awoyinka, Abegunde e Adewusi (1995), analisando polifenóis nas farinhas de folhas jovens, secas em estufa de ventilação a 70°C, por três dias, de três variedades de mandioca, encontraram níveis, em mg/g, de 2,1, 8,3 e 29,7. Essas diferenças provavelmente, são inerentes à cultivar, devido ao estágio de desenvolvimento da planta, à secagem e também à metodologia de extração e dosagem de polifenóis.

TABELA 2 Teores médios de substâncias antinutritivas e digestibilidade protéica in vitro das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem.

Secagem [*]	Em 100 g de matéria seca			Inibidor		
	Cianeto (mg)	Nitrato (g)	Oxalato (g)	tripsina UTI ^x	Polifenóis ^y	Digest. in vitro (%) ^z
1	50,85 ab	0,31 a	1,94 c	8,07 a	27,80 a	41,17 c
2	19,39 d	0,24 b	2,75 a	3,79 c	22,68 c	52,63 a
3	49,25 b	0,16 e	2,57 b	6,40 b	24,26 bc	46,39 b
4	36,22 c	0,18 d	2,58 b	6,80 ab	24,79 b	43,42 bc
5	56,46 a	0,20 c	2,68 ab	6,78 ab	23,98 bc	46,73 b

* Teores médios de umidade (g/100 g) da folha fresca : 70,50 e das farinhas de folhas: 9,40.

Secagem: 1 - Colocadas sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente, por 14 h (das 17 às 7 h) e, em seguida, ao sol, sobre piso de concreto; 2 - à sombra, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente; 3 - ao sol, sobre piso de concreto; 4 - em estufa a 30°C; 5 - em estufa a 40°C.

x UTI = Unidades de tripsina inibida/mg de matéria seca.

y mg de equivalentes de ácido tânico/g de MS.

z Valores corrigidos para caseína, considerada 100% digerível.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste Tuckey, $p \leq 0,05$).

O nível de cianeto (19,39 mg/100 g de MS) encontrado na farinha das folhas secas à sombra ainda é bastante elevado, uma vez que teores entre 5 e 10mg/100 g de farinha são considerados tóxicos (Ikediobi, Onyia e Eluwah, 1980). O nível de inibidor de tripsina variou de 3,79 a 8,07 UTI/mg de MS, podendo ser considerado baixo quando comparado com grãos de soja crua, cujos teores em 50 variedades variaram de 15,3 a 107,0 UTI/mg (Silva, Barbosa

e Portela, 1979; Barcelos, 1998). Observou-se também que temperaturas mais elevadas de secagem reduziram os teores de nitrato e oxalato. O teor de nitrato, em g/100 g de peso fresco, nas folhas de mandioca foram inferiores (0,032 a 0,062) aos encontrados no espinafre (0,3) e na alface (0,6). O nível de oxalato, em peso fresco, nas folhas de mandioca variou de 0,39 a 0,55 g/100 g, sendo inferior ao encontrado no espinafre (0,82 g/100 g), uma das hortaliças mais ricas em oxalato (Franco, 1992).

4 CONCLUSÃO

Em relação aos nutrientes e antinutrientes estudados, a secagem à sombra foi a melhor opção, porém, em períodos de chuva poder-se-ia optar pela secagem artificial a 30°C. Contudo, é recomendável a seleção de cultivares que apresentem teores mais baixos de substâncias antinutritivas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 83, p. 257-261, 1964.
- ALTERNATIVAS alimentares - II. Belo Horizonte: Prefeitura Municipal – Secretaria Municipal de Abastecimento, 1994. 49 p.
- ANTUNES, A. J. Perdas de nutrientes no processamento de alimentos. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE ALIMENTOS ENRIQUECIDOS, 1, Campinas, 1994. Anais... Campinas: ITAL, 1994. p. 8-13.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists*. 15.ed. Arlington, 1990. 2v.
- AWOYINKA, A. F.; ABEGUNDE, V. O.; ADEWUSI, S. R. A. Nutrient content of young cassava leaves and assessment of their acceptance as a green vegetable in Nigeria. *Plant Foods for Human Nutrition*, Dordrecht, v. 47, p. 21 -28, 1995.
- BARCELOS, M. de F. P. *Ensaio tecnológico, bioquímico e sensorial de soja e guandu enlatados no estágio verde e maturação de colheita*. Campinas: UNICAMP, 1998. 160 p. (Tese - Doutorado Ciência da Nutrição).
- BRANDÃO, C. T.; BRANDÃO, R. F. *Alternativas alimentares*. Brasília: CNBB – Pastoral da criança, 1989. 51 p.
- CARVALHO, V. D. de; PAULA, M. B. de; JUSTE JUNIOR, E. S. G.; KATO, M. S. A. Características nutritivas de fenos do terço superior e das folhas de cultivares de mandioca. *Revista Brasileira de Mandioca, Cruz das Almas*, v. 51 , n. 1, p. 63-70, 1986.

- CATALDO, D. A.; HAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Science Plant Anal.*, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975.
- CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL, H.; BESANÇON, P. *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Tradução de Francisco López Capont. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1992. v. 2, 405 p. Título original "Introduction a la biochimie et a la technologie des aliments".
- FABOYA, O. O. The interaction between oxalic acid and divalent ions – Mg²⁺, Zn²⁺, and Ca²⁺ – in aqueous medium. *Food Chemistry*, Oxford, v. 38, n. 3, p. 179-187, 1990.
- FRANCO, G.V. E. *Tabela de composição química dos alimentos*. 8. ed. São Paulo: Atheneu, 1992. 230 p.
- GOLDSTEIN, J. L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. *Phytochemistry*, Oxford, v. 2, p. 371-383, 1963.
- GÓMEZ, G. ; VALDIVIESO, M. Cassava foliage: chemical composition, cyanide content and effect of drying on cyanide elimination. *Journal of the Science Food and Agricultural*, Chichester, v. 36, p. 433-441, 1985.
- IKEDILOBE, C. O.; ONYIA, G. O. C.; ELUWAH, C. E. A rapid and inexpensive enzymatic assay for total cyanide in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and cassava products. *Agricultural and Biological Chemistry*, Tokyo, v. 44, n. 12, p. 2803-2809, 1980.
- KAKADE, M. L.; RACKIS, J. J.; MCGHEE, J. E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy product: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry*, St Paul, v. 51, p. 376-382, 1974.
- KAKADE, M. L.; SIMONS, N.; LIENER, I. E. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chemistry*, St Paul, v. 46, p. 518-526, 1969.

LANCASTER, P. A.; BROOKS, J. E. Cassava leaves as human food. *Economic Botany*, New York, v. 37, n. 3, p. 331-348, 1983.

LOURES, A.; JOKL, L. Microtécnica para determinação de ácido oxálico em folhas e derivados. In: **ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS**, 6, Curitiba, 1990. **Resumos...** Curitiba: Instituto de Tecnologia do Paraná, 1990. p. 59.

MAEDA, E. E.; SALUNKHE, D. K. Retention of ascorbic acid and total carotene in sober dried vegetables. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 46, p. 1288-1290, 1981.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomatoes fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, Tokyo, v. 39, n. 10, p. 925 - 928, 1992.

NELSON, N. A. A photometric adaptation of Somogy's method for determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v. 153, n. 1, p. 375-380, 1944.

PADMAJA, G. Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 37, p. 712-716, 1989.

PECHNIK, E.; GUIMARÃES, L. R. Sobre o aproveitamento da folha de mandioca (*Manihot* sp.) na alimentação humana III – Mandioca mansa. *Arquivo Brasileiro de Nutrição*, Rio de Janeiro, v. 18, p. 25-36, 1962.

PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1990. 467 p.

RATH, S.; XIMENES, M. I. N; REYES, F. G. R. Teor de nitrato e nitrito em vegetais cultivados no Distrito Federal: um estudo preliminar. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 54, n. 2, p. 126-130, 1994.

- RAVINDRAN, G.; RAVINDRAN, V.** Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 27, p. 299 - 309, 1988.
- REED, J. D.; McDOWELL, R. E.; VAN SOEST, P. J.; HORVARTH, P. J.** Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. **Journal of the Science Food and Agricultural**, London, v. 33, p. 213-220, 1982.
- ROGERS, D. J.; MILNER, M.** Amino acid profile of manioc leaf protein in relation to nutritive value. **Economic Botany**, New York, v. 17, p. 211-216, 1963.
- ROSS, E.; ENRIQUEZ, F. Q.** The nutritive value of cassava leaf meal. **Poultry Science**, Champaign, v. 48, n. 3, p. 846-853, 1969.
- SGARBIERI, V. C.** Alimentação e nutrição - fator de saúde e desenvolvimento. Campinas: UNICAMP, 1987. 387 p.
- SILVA, A. D.; BARBOSA, C. F.; PORTELA, F.** Inibidores proteolíticos em variedades de soja. **Científica**, Jaboticabal, v. 7, p. 317-320, 1979.
- SILVA, D. J.** Análise de alimentos - métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 1990. 165 p.
- STROHECKER, R.; HENNING, H. M.** Analises de vitaminas: métodos comprovados. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.
- TANNENBAUM, S. R.; YOUNG, V.R.; ARCHER, M. C.** Vitaminas y minerales. In: FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 537-613.
- TUPYNAMBÁ, M. L. V. C.; VIEIRA, E. C.** Isolation of cassava leaf protein and determination of its nutritive value. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 19, n. 2, p. 249-259, 1979.

WOOD, T. The isolation, properties, and enzymic breakdown of linamarin from cassava. **Journal of the Science Food and Agricultural**, London, v. 17, p. 85-90, 1966.

YEOH, H. H.; CHEW, M. Y. Protein content and amino acid composition of cassava leaf. **Phytochemistry**, Oxford, v. 15, p. 1597-1599, 1976.

CAPÍTULO 4

FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA III – EFEITO DA REMOÇÃO DE POLIFENÓIS SOBRE A DIGESTIBILIDADE PROTÉICA *IN VITRO*; ESTUDOS PRELIMINARES

RESUMO

Mesmo possuindo um teor relativamente elevado em proteínas, a farinha de folhas de mandioca apresenta baixa digestibilidade, principalmente, devido à presença de substâncias como os polifenóis. Visando melhorar o aproveitamento protéico desta farinha empregaram-se três solventes (água, etanol 50 mL/100 mL e hidróxido de amônio 1 mol/L) para remover os polifenóis. Folhas maduras de mandioca foram colhidas em três repetições, no mês de outubro (fase vegetativa). Foram colocadas em bandejas de papel e secas à sombra sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente. Após secagem, retiraram-se os pecíolos e as folhas foram moídas e passadas em peneira de 40 mesh. Esta farinha foi submetida, antes e após a remoção dos polifenóis, às análises de umidade, fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), açúcares totais, proteína bruta, vitamina C total, β -caroteno, cianeto, inibidor de tripsina, polifenóis e digestibilidade protéica *in vitro*. Após remoção dos polifenóis, houve diminuição dos teores de açúcares totais, vitamina C total (níveis não detectados), inibidor de tripsina e polifenóis e aumento dos de FDN, FDA, proteína bruta e β -caroteno, com conseqüente melhoria da digestibilidade protéica *in vitro*. Dos três solventes empregados para remover os polifenóis, o hidróxido de amônio foi o mais eficaz, com índice de remoção de 94%, seguido pelo etanol (83%) e água (65%). Houve aumento na

digestibilidade da proteína de até 74%, quando o solvente empregado na remoção dos polifenóis foi o hidróxido de amônio. Quando se comparou os resultados das farinhas de folhas colhidas em dois estádios de desenvolvimento da planta (fase de acúmulo de amido e de desenvolvimento vegetativo), observou-se que, em relação aos antinutrientes, seria recomendável colher as folhas durante a fase de acúmulo de amido, quando seus teores parecem estar em menor concentração e a digestibilidade protéica *in vitro* é mais elevada.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Farinha, folhas de mandioca, polifenóis, nutrientes, antinutrientes, digestibilidade protéica.

THE FLOUR CASSAVA LEAVES III - EFFECT OF REMOVAL OF POLYPHENOLS ON THE IN VITRO PROTEIN DIGESTIBILITY; PRELIMINARY STUDIES

ABSTRACT

Even featuring a relatively high level in proteins, the flour of cassava leaves presents low digestibility, mainly, due to the presence of such substances as polyphenols. Seeking to improve the protein availability of such flour, three solvents (water, ethanol 50 mL/100 mL and ammonium hydroxide 1 mol/L) were used for the removal of the polyphenols. Mature leaves of cassava were picked in three repetitions, in the month of October (phase of vegetative development). They were placed in paper trays and dried under shadow, on a wood bench, in a shut and airy place, at room temperature;. After drying, the petioles were removed and the leaves were ground and sieved using 40-mesh sieve. This flour was submitted to the analyses of moisture, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), total sugars, crude protein, vitamin total C, β -carotene, cyanide, trypsin inhibitor, polyphenols and in vitro protein digestibility. After the removal of the polyphenols, there was a decrease in the levels of total sugars, vitamin total C (levels not detected), trypsin inhibitor and polyphenols and an increase in the levels of NDF, ADF, crude protein and β -carotene with consequent improvement of the protein digestibility. Of the three solvents employed in the removal the polyphenols, the ammonium hydroxide was the most effective, with index of removal of 94%, followed by the ethanol (83%) and water (65%). There was an increase in the protein digestibility of up to 74%, when the solvent employed in the removal of the polyphenols was the ammonium hydroxide. When the results of the flours of leaves picked in two

different stages of plant development was compared (phase of accumulation of starch and of vegetative development), it was observed that, in relation to the antinutrients, it would be advisable to pick the leaves during the phase of accumulation of starch, when its levels seem to be in smaller concentration and the in vitro protein digestibility is higher.

INDEX TERMS: Flour, cassava leaves, polyphenols, nutrients, antinutrients, protein digestibility.

1 INTRODUÇÃO

A farinha de folhas de mandioca apresenta teores elevados em proteínas, porém, sua digestibilidade é baixa. Isso poderia ser atribuído, parcialmente, ao seu teor em fibra (Oke, 1978). Um ensaio biológico com ratos foi realizado por Vilas-Bôas (1979) empregando dietas contendo a parte aérea de mandioca como fonte de fibra, nas proporções de 5, 10 e 15% de fibra. Ela concluiu que os ratos alimentados com as dietas contendo fibra apresentaram crescimento menor e diminuição da eficiência alimentar em relação ao grupo controle e houve também diminuição da digestibilidade protéica, sendo inversamente proporcional aos níveis de fibra. Além das fibras, outros componentes químicos podem ter efeito prejudicial sobre o aproveitamento protéico. Os polifenóis, por exemplo, podem reduzir a digestibilidade e a disponibilidade de aminoácidos, como no caso da lisina, em que o grupo ϵ -amino pode tornar-se indisponível (Kumar e Singh, 1984; Pellett e Young, 1980; Sgarbieri, 1987; 1996). A presença de polifenóis (taninos) influencia também negativamente a disponibilidade de metionina (Nelson et al., 1975) e, além disso, agrava a deficiência inerente de aminoácidos sulfurados das folhas de mandioca. Tupynambá e Vieira (1979) mostraram que a suplementação com DL-metionina melhorou o valor nutritivo do concentrado protéico de folhas de mandioca. Metionina adicional também é requerida por seu papel como doador de grupos metil (Fuller, Chang e Potter, 1967) e como fonte de enxofre lábil na detoxificação de cianeto (Oke, 1978).

Com o objetivo de melhorar o aproveitamento protéico da farinha de folhas de mandioca foram empregados três solventes para remover os polifenóis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras.

2.1 Coleta e preparo da amostra

As folhas maduras e frescas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, cultivar Baiana), originárias do Sítio Santa Maria, Município de Ijaci-MG, foram colhidas em três repetições, pela manhã, no mês de outubro (fase de desenvolvimento foliar) e transportadas em caixas de isopor contendo gelo até o local da secagem. Em seguida, foram colocadas para secar à sombra, em bandejas de papel, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, à temperatura ambiente. Após secagem, foram retirados os pecíolos, as folhas foram trituradas em liquidificador e passadas em peneira de 40 mesh. As farinhas obtidas foram submetidas às análises químicas antes e após a remoção dos polifenóis.

2.2 Análises químicas

a) As determinações da fibra detergente neutra e fibra detergente ácida (Silva, 1990), umidade e proteína bruta (AOAC, 1990), açúcares totais (Nelson, 1944; AOAC, 1990), vitamina C total (Strohecker e Henning, 1967), β -caroteno (Nagata e Yamashita, 1992), cianeto (Wood, 1966; Ikediobi, Onyia e Eluwah, 1980), inibidor de tripsina (Kakade, Simons e Liener, 1969; Kakade et al., 1974), polifenóis (Goldstein e Swain, 1963) e digestibilidade protéica *in vitro* (Akeson e Stahmann, 1964) estão descritas no Capítulo 3, item 2, Material e métodos.

b) Medida de pH (Vettori, 1969, com adaptações) – 0,5 g de farinha com 50 mL de água destilada foram agitadas por 30 segundos em agitador magnético e deixadas em repouso por 30 minutos. Em seguida, foram agitadas e o pH lido com o emprego de um potenciômetro.

2.3 Remoção de polifenóis

A remoção de polifenóis foi baseada no trabalho de Sripad e Nasaringa Rao (1987), com adaptações. Três solventes – água, etanol 50 mL/100 mL e hidróxido de amônio 1 mol/L – foram utilizados para remover os polifenóis da farinha de folhas de mandioca (3 repetições), na proporção de 1 g para 25 mL, respectivamente, com agitação magnética à temperatura ambiente por 30 minutos, por quatro extrações sucessivas. Após cada agitação, filtrou-se por tela de náilon, a exceção da remoção com hidróxido de amônio. Com este solvente foi necessário centrifugar (2000 g x 10 minutos) antes de filtrar. O resíduo da remoção com hidróxido de amônio foi colocado sobre papel de filtro, em placa de Petri e deixado sobre bancada de madeira, a temperatura ambiente por 17 horas, para evaporar a amônia (a fim de evitar danos ao liofilizador). Todos os resíduos foram transferidos para erlenmeyers, tendo sido congelados e liofilizados. A seguir, foram triturados em gral, pesados e guardados em frascos de vidro hermeticamente fechados e à temperatura ambiente, em dessecador, até serem submetidos às análises químicas.

3..RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Tempo gasto para secagem das folhas de mandioca

Foram necessários 10 dias para a secagem das folhas de mandioca, nas condições ideais estabelecidas no Capítulo 2. Os teores de umidade das folhas frescas e da farinha de folhas de mandioca foram, em média, iguais a 67,50 e 9,12 g/100 g, respectivamente.

3.2 Remoção dos polifenóis

A escolha dos solventes para a remoção dos polifenóis foi baseada na solubilidade e no menor risco de toxidez. Entre os solventes orgânicos, o metanol, empregado na extração de polifenóis quando se faz a dosagem, seria o mais indicado. Porém, devido aos seus efeitos tóxicos conhecidos, como ação irritante sobre a pele e as mucosas, ação depressora do sistema nervoso central, ação sobre o nervo óptico e córnea, mais os efeitos neurológicos, como cefaléia, fadiga, insônia, vertigens e ataxia (Alvarez-Leite e Jokl, 1990), ele não foi usado. O etanol foi preferido porque são poucos os efeitos tóxicos resultantes do manuseio deste solvente, a não ser nos casos de exposição a elevadas concentrações de vapores no ar (acima de 1:1000) quando podem aparecer irritações das mucosas, olhos e pele, cefaléia, vertigem, ebriedade e sonolência. Já o hidróxido de amônio pode provocar ulcerações profundas ou queimaduras, efeitos que não se evidenciam de imediato; cegueira, quando em contato com os olhos; irritação nas mucosas do trato pulmonar com dispnéia, tosse e mesmo pneumonia grave, quando inalado (Alvarez-Leite e Jokl, 1990). Apesar dos seus efeitos tóxicos, ele foi utilizado, tendo em vista os bons resultados obtidos por Padmaja (1989) em estudos realizados com folhas de mandioca e por Waichungo e Holt (1995) com sorgo.

Das 25 g de farinha empregadas na remoção de polifenóis com os solventes água, etanol 50 ml/100 mL e hidróxido de amônio 1 mol/L, obteve-se, após a liofilização, quantidades médias de 13,33; 14,68 e 13,24 g de matéria seca (MS), respectivamente. Esta perda, em parte, foi devida ao manuseio das farinhas durante as etapas de extração. A necessidade de introduzir mais uma etapa – a secagem ao ar após a liofilização – na remoção dos polifenóis da farinha com água ou hidróxido de amônio, acarretou mais 9 a 10% de perdas de amostra, comparada à remoção com etanol.

O pH médio do extrato aquoso da farinha de folhas, antes da remoção dos polifenóis, foi igual a 5,3. Após a extração com os solventes água, etanol 50 mL/100 mL e hidróxido de amônio 1 mol/L, os pH foram de 5,9; 6,2 e 7,2, respectivamente. Já Padmaja (1989) encontrou valores de pH nas folhas frescas de mandioca variando de 5,9 a 6,1. Após a pulverização com hidróxido de amônio (a 2,5 mol/L e concentrado) para remover os taninos, obteve-se valores de 6,3 e 6,8, respectivamente. Estas variações nos valores de pH podem ser devidas aos constituintes solúveis nas amostras e também aos pH dos solventes empregados.

3.3 Polifenóis versus digestibilidade protéica in vitro

Dos três solventes empregados na remoção de polifenóis (Tabela 1) o hidróxido de amônio foi o mais eficaz, com redução de 94,23%, seguido pelo etanol (83,33%) e água (64,87%). Isto também foi constatado por Padmaja (1989) ao empregar hidróxido de amônio a 2,5 mol/L ou concentrado, ocorrendo a redução dos níveis de taninos em 79 e 95%, respectivamente. Ele pulverizou o hidróxido de amônio sobre as folhas de mandioca frescas para reduzir os taninos. As folhas ficaram expostas ao álcali por 24 horas, dentro de recipientes fechados e, depois, foram levadas à estufa a 60°C, por 24 horas. Waichungo e Holt (1995) também encontraram uma redução de cerca de 88% nos níveis de

TABELA 1 Teores médios de polifenóis e digestibilidade protéica in vitro das farinhas de folhas de mandioca, antes e após a remoção de polifenóis.

Solventes para extração	Polifenóis ¹		Remoção (%)	Digestibilidade (%) ²		Aumento digestibilidade (%)
	antes	após		antes	após	
Água	63,77	22,40	64,87	28,91	35,54	22,93
Etanol	63,77	10,63	83,33	28,91	43,32	49,84
NH ₄ OH	63,77	3,68	94,23	28,91	50,41	74,37

1 - mg de equivalentes de ácido tânico/g de matéria seca.

2 - Valores corrigidos para caseína, considerada 100% digerível.

taninos em sorgo, quando tratados, por embebição, com hidróxido de amônio (0,01 a 1 mol/L), por um período de no máximo 20 dias.

Na Tabela 1 são apresentadas também as percentagens médias da digestibilidade protéica *in vitro*. Observou-se que houve um aumento (22,93 a 74,37%) após a remoção dos polifenóis, sobretudo quando o solvente empregado foi o hidróxido de amônio. Chavan et al. (1979) também encontraram melhoria na digestibilidade protéica do sorgo, quando extraíram os taninos com soluções alcalinas. Estes resultados comprovam a influência negativa de polifenóis sobre a digestibilidade da proteína.

3.4 Nutrientes e antinutrientes das farinhas de folhas colhidas em dois estágios de desenvolvimento, antes e após a remoção dos polifenóis

A farinha de folhas colhidas em outubro apresentou teores médios de FDN, FDA, açúcares totais e proteína bruta iguais a 33,83; 28,80; 2,92 e 28,60 g/100 g MS, respectivamente (Tabela 2). Entretanto, observou-se que estes níveis são 3 a 7,4% superiores aos encontrados na farinha das folhas colhidas em abril, fase de acúmulo de amido na planta (Capítulo 3). Constituíram exceção os teores de açúcares totais, para os quais se constatou uma redução de cerca de 23%.

A cultivar analisada neste trabalho apresentou, na farinha, teores médios de vitamina C e β -caroteno de 72,91 e 77,39 mg/100 g MS, respectivamente, quando as folhas foram colhidas em outubro. Comparada com a farinha das folhas colhidas em abril (Capítulo 3), observou-se que houve diminuição acentuada nos teores de vitamina C, em cerca de 33%, mas manteve-se semelhantes em β -caroteno. Após a remoção dos polifenóis, observou-se um aumento relativo nos teores de FDN, FDA, proteína bruta, e β -caroteno (Tabela 2). Como já era esperado, houve perda praticamente total nos teores de açúcares totais e vitamina C, com qualquer um dos solventes empregados.

TABELA 2 Teores médios de nutrientes, antinutrientes e digestibilidade protéica in vitro das farinhas de folhas de mandioca secas à sombra, antes e após remoção de polifenóis.

Amostras										
Farinha antes da remoção de polifenóis										
Mês	Em 100 g de matéria seca						Em matéria seca			Digesti- bilidade (%) ⁶
	FDN (g)	FDA (g)	Açúcares totais (g) ³	Proteína bruta (g)	Vitami- na C (mg)	β-car- oteno (mg)	Cianeto (mg/kg)	Inibidor tripsina (UTI ⁴ /mg)	Polifenóis (mg ⁵ /g)	
Abril ¹	32,82	26,81	3,82	27,00	108,62	78,65	19,39	3,79	22,68	52,63
Outubro ²	33,83	28,80	2,92	28,60	72,91	77,39	85,20	11,14	63,77	28,91
Farinha de folhas colhidas em outubro, após remoção de polifenóis										
Solvente										
Água	46,80	31,27	0,10	31,84	Nd ⁷	81,53	Nd	6,29	22,40	35,54
Etanol	57,73	29,50	0,04	36,47	Nd	94,38	Nd	Nd	10,63	43,32
NH ₄ OH	56,60	44,13	0,03	32,15	Nd	96,64	Nd	Nd	3,68	50,41

1 - Fase de acúmulo de amido (colheita das raízes), dados obtidos do Capítulo 3. 2 - Fase de desenvolvimento foliar. 3 - g de glicose. 4 - UTI = unidades de tripsina inibida. 5 - mg de equivalentes de ácido tânico. 6 - Valores corrigidos para caseína considerada 100% digerível. 7 - Nd = Não detectado.

Os níveis médios de cianeto (85,2 mg/kg MS), inibidor de tripsina (11,14 UTI/mg MS) e polifenóis (63,77 mg de equivalentes ácido tânico/g MS) encontrados para a farinha de folhas colhidas em outubro foram muito mais elevados que os determinados na farinha das folhas colhidas em abril (cerca de 4,3; 2,9 e 2,8 vezes mais, respectivamente). Verificou-se também que, após os tratamentos para a remoção de polifenóis, o cianeto não foi detectado nas farinhas. Além disso, houve redução nos teores de inibidor de tripsina de 43,54% quando a água foi usada como extrator e até níveis não detectados quando se empregou os outros dois solventes. Redução também foi constatada para os polifenóis. Neste trabalho foi utilizado a secagem das folhas de mandioca sob sombra, todavia, cabe ressaltar que, poderia-se empregar outras formas de secagem, uma vez que durante a remoção de polifenóis há redução de cianeto à níveis não detectados.

Dantas-Barros (1984) encontrou um teor de inibidor de tripsina na semente da leguminosa *Desmodium discolor* de 12,80 UTI/mg de amostra e observou que este teor não justificou o valor baixo da digestibilidade (69%), atribuindo-o aos polifenóis, cujo nível foi de 40 mg/g de amostra. Também Barcelos (1998), analisando grãos de soja e guandu crus ou processados, encontrou teores médios de inibidor de tripsina, em UTI/mg MS e desengordurada, iguais a 39,62 e 4,54; e 7,41 e 1,48, respectivamente. A redução nos níveis de inibidor de tripsina nos grãos processados melhorou a digestibilidade protéica in vitro da soja de 65 para 78% (caseína considerada como 100% digerível). Entretanto, para o guandu este aumento não foi significativamente diferente. No caso da farinha de folhas de mandioca, o inibidor de tripsina parece também não ter influência sobre a digestibilidade protéica in vitro ou, se tiver, é pequena.

Quando se comparou o valor da digestibilidade protéica in vitro da farinha de folhas colhidas em abril com aquela das colhidas em outubro,

observou-se uma redução de 45%. Possivelmente, isso se deve aos teores mais elevados de substâncias antinutritivas presentes, principalmente dos polifenóis, cujo aumento foi 2,8 vezes mais, que podem complexar com as proteínas, diminuindo sua digestibilidade.

Com base nesses resultados, pôde-se constatar que a escolha do estágio de desenvolvimento da planta também é um fator muito importante na produção da farinha de folhas de mandioca com menores teores desses fatores antinutritivos, além da escolha da cultivar com menor nível inicial das substâncias em questão. Estes dados estão de acordo com Carvalho e Kato (1987), Carvalho et al. (1989) e Carvalho, Chagas e Juste Junior (1991) que, estudando a composição da parte aérea da mandioca, observaram que ela sofre variações acentuadas com a idade das plantas e com o grau de enfolhamento. De acordo com Carvalho et al. (1989), os teores de β -caroteno e vitamina C total de fenos de folhas de mandioca atingiram seus maiores valores no 15^o e 19^o meses após o plantio, respectivamente. O terço superior da folhagem de mandioca deve ser colhido no 16^o mês para se ter os menores teores de polifenóis e, ao mesmo tempo, os mais elevados de proteína. Portanto, sugere-se que as folhas deverão ser colhidas próximas à fase de acúmulo de amido, na qual apresentarão menores níveis de substâncias antinutritivas.

4 CONCLUSÃO

A remoção de polifenóis na farinha de folhas de mandioca foi mais eficaz com o hidróxido de amônio 1 mol/L, dentre os solventes testados. Todavia, em função dos cuidados que se deve tomar ao manusear o hidróxido de amônio e também devido a uma possível toxidez residual, poder-se-ia recomendar o emprego do etanol 50 mL/100 mL, como alternativa por se tratar de um solvente relativamente barato, acessível e volátil.

O processo de extração com o etanol acarretou variações nos níveis de nutrientes da farinha de folhas de mandioca colhida em outubro, reduziu consideravelmente os de antinutrientes, à medida que a digestibilidade protéica in vitro melhorou.

Além disso, deve-se trabalhar com uma farinha obtida de folhas colhidas na fase de acúmulo de amido, a fim de se obter níveis de antinutrientes mais baixos e uma digestibilidade protéica in vitro mais elevada, como ponto de partida.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 83, p. 257-261, 1964.
- ALVAREZ-LEITE, E. M.; JOKL, L. Riscos químicos e toxicológicos de algumas substâncias utilizadas em laboratórios. *Revista de Farmácia e Bioquímica da UFMG*, Belo Horizonte, v. 11, p. 83-94, 1990.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists*. 15. ed. Arlington, 1990. 2 v.
- BARCELOS, M. de F. P. *Ensaio tecnológico, bioquímico e sensorial de soja e guandu enlatados no estádio verde e maturação de colheita*. Campinas: UNICAMP, 1998. 160 p. (Tese – Doutorado Ciência da Nutrição).
- CARVALHO, V. D. de; CHAGAS, S. J. de R.; JUSTE JUNIOR, E. S. G. Influência da idade na colheita sobre a produtividade e valor nutritivo da parte aérea de seis cultivares de mandioca. *Revista Brasileira de Mandioca*, Cruz das Almas, v. 10, n. 1/2, p. 47-58, 1991.
- CARVALHO, V. D. de; CHAGAS, S. J. de R.; MORAIS, A. R. de; PAULA, M. B. de. Efeito da época de colheita na produtividade e teores de vitamina C e β -caroteno da parte aérea de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Brasileira de Mandioca*, Cruz das Almas, v. 8, n. 1, p. 25-35, 1989.
- CARVALHO, V. D. de; KATO, M. do S. A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 13, n. 145, p. 23-28, 1987.
- CHAVAN, J. K.; KADAM, S. S.; GHOMSIKAR, C. P.; SALUNKHE, D. K. Removal of tannins and improvement of *in vitro* protein digestibility of orghum seeds by soaking in alkali. *Journal of Food Science*, La Salle Saint, v. 44, n. 5, p. 1319-1321, 1979.

- DANTAS-BARROS, A. M. **Variação de nitrogênio, aminoácidos, fatores antinutricionais e digestibilidade *in vitro* em leguminosas, durante fases de desenvolvimento e nos concentrados protéicos de folhas.** Belo Horizonte: UFMG, 1984. 135 p. (Dissertação – Mestrado em Bioquímica).
- FULLER, H. L.; CHANG, S. I.; POTTER, D. K. **Detoxication of dietary tannic acid by chicks.** *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 91, p. 477-481, 1967.
- GOLDSTEIN, J. L.; SWAIN, T. **Changes in tannins in ripening fruits.** *Phytochemistry*, Oxford, v. 2, p. 371-383, 1963.
- IKEDIABI, C. O.; ONYA, G. O. C.; ELUWAH, C. E. **A rapid and inexpensive enzymatic assay for total cyanide in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and cassava products.** *Agricultural and Biological Chemistry*, Tokyo, v. 44, n. 12, p. 2803-2809, 1980.
- KAKADE, M. L.; RACKIS, J. J.; McGHEE, J. E.; PUSKI, G. **Determination of trypsin inhibitor activity of soy product: a collaborative analysis of an improved procedure.** *Cereal Chemistry*, St. Paul, v. 51, p. 376-382, 1974.
- KAKADE, M. L.; SIMONS, N.; LIENER, I. E. **An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples.** *Cereal Chemistry*, St. Paul, v. 46, p. 518-526, 1969.
- KUMAR, R.; SINGH, M. **Tannins: their adverse role in ruminant nutrition.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 32, p. 447-453, 1984.
- NAGATA, M.; YAMASHITA, I. **Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomatoes fruit.** *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, Tokio, v. 39, n. 10, p. 925-928, 1992.
- NELSON, N. A. **A photometric adaptation of Somogy method for determination of glucose.** *Journal of Biology Chemistry*, Baltimore, v. 153, n. 1, p. 375-380, 1944.

- NELSON, T. S.; STEPHENSON, E. L.; BURGOS, A.; FLOYD, J.; YORK, J. O.** Effect of tannin content and dry matter digestion on energy utilization and average amino acid availability of hybrid sorghum grains. **Poultry Science**, Champaign, v. 54, 1620-1623, 1975.
- OKE, O. L.** Problems in the use of cassava as animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 3, p. 345-380, 1978.
- PADMAJA, G.** Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 37, p. 712-716, 1989.
- PELLETT, P. L.; YOUNG, V. R.** Nutritional evaluation of protein foods. Tokyo: The United Nations University, 1980. 154 p.
- SGARBIERI, V. C.** Alimentação e nutrição: fator saúde e desenvolvimento. São Paulo: Almed, 1987. 387 p.
- SGARBIERI, V. C.** Proteínas em alimentos: propriedades, degradação, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.
- SILVA, D. J.** Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 1990. 165 p.
- SRIPAD, G.; NASARINGA RAO, M. S.** Effect of methods to remove polyphenols from sunflower meal on the physicochemical properties of the proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 35, p. 962-967, 1987.
- STROHECKER, R.; HENNING, H. M.** Análises de vitaminas: métodos comprovados. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.
- TUPYNAMBÁ, M. L. V. C.; VIEIRA, E. C.** Isolation of cassava leaf protein and determination of its nutritive value. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 19, n. 2, p. 249-259, 1979.

VETTORI, L. Métodos de análise de solos. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1969. 24 p. (Boletim Técnico,7).

VILAS-BÔAS, L. M. A. Efeito da presença de fibra de mandioca na dieta sobre alguns parâmetros nutricionais e bioquímicos. Belo Horizonte: UFMG, 1979. 68 p. (Dissertação – Mestrado em Bioquímica).

WAICHUNGO, W. W.; HOLT, D. L. Use of ammonium hydroxide to reduce the level of assayable tannin in high-tannin sorghum grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry, London, v. 43, p. 728-732, 1995.

WOOD, T. The isolation, properties, and enzymic breakdown of linamarin from cassava. Journal of the Science of Food and Agricultural, London, v. 17, p. 85-90, 1966.

PERSPECTIVAS

A partir das constatações deste trabalho, sugere-se:

- ✓ **investigar outras substâncias antinutritivas, como por exemplo, hemaglutininas, saponinas e outras;**
- ✓ **selecionar cultivares regionais com menores níveis de substâncias antinutritivas nas folhas, avaliando também outros estádios de desenvolvimento da planta;**
- ✓ **aprimorar o método de remoção de polifenóis, produzir em escala piloto e avaliar a farinha resultante por meio de ensaios biológicos.**

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância do teor de cianeto e velocidades da linamarase e tripsina das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem	106
TABELA 2A	Resumo da análise de variância de alguns nutrientes das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem	107
TABELA 3A	Resumo da análise de variância de substâncias antinutritivas e digestibilidade protéica in vitro das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem	108

TABELA 1A Resumo da análise de variância do teor de cianeto e velocidades da linamarase e tripsina das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem.

FV	QM			
	GL	Cianeto	Linamarase	Tripsina
Secagem	4	883,28**	3.468.348,96**	130.743,12**
Residuo	15	9,90	72.989,35	8.220,33
Total	19			
CV (%)		7,41	11,10	18,00

**Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

TABELA 2A Resumo da análise de variância de alguns nutrientes das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem.

FV	QM						
	GL	FDN	FDA	Proteína bruta	Açúcares totais	β-caroteno	Vitamina C
Secagem	4	3,80	4,11	6,87**	3,92**	223,24**	2.482,46**
Resíduo	15	2,01	2,03	0,42	0,05	18,36	277,41
CV (%)		4,45	5,59	2,56	4,38	5,53	11,66

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

TABELA 3A Resumo da análise de variância das substâncias antinutritivas e da digestibilidade protéica in vitro das farinhas de folhas de mandioca submetidas a diferentes formas de secagem.

FV	QM						
	GL	Cianeto	Nitrato	Oxalato	Inibidor tripsina	Polifenóis	Digestibilidade in vitro
Secagem	4	883,29**	0,01**	0,42**	9,92**	14,40**	74,57**
Resíduo	15	9,90	0,00	0,00	0,36	0,74	3,09
C.V. (%)		7,41	2,45	2,03	9,48	3,48	3,82

** Significativo a de 1% de probabilidade, pelo teste F.