

REMOÇÃO DE POLIFENÓIS DA FARINHA DE FOLHAS DE MANDIOCA¹

Angelita Duarte CORRÊA^{2,*}, Silvânio Rodrigues dos SANTOS³, Celeste Maria Patto de ABREU², Lieselotte JOKL⁴, Custódio Donizette dos SANTOS²

RESUMO

A farinha de folhas de mandioca apresenta baixa digestibilidade, mesmo possuindo um teor relativamente elevado em proteínas, principalmente, devido à presença de substâncias como os polifenóis. Visando melhorar o aproveitamento protéico desta farinha, empregaram-se três solventes (água, etanol 50mL/100mL e hidróxido de amônio 1mol/L) para remover os polifenóis. Folhas maduras de mandioca foram coletadas na fase vegetativa, em três repetições, colocadas em bandejas de papel e secas à sombra sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, em temperatura ambiente. Após secagem, retiraram-se os pecíolos e as folhas foram moídas e passadas em peneira de 40mesh. A 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, inibidor de tripsina e polifenóis e aumento de FDN, FDA, proteína bruta, β -caroteno e digestibilidade protéica *in vitro*. Dos solventes empregados para remover polifenóis, o hidróxido de amônio foi o mais eficaz, com índice de remoção de 94%, seguido pelo etanol (83%) e água (65%). A digestibilidade da proteína *in vitro* aumentou em 74%, quando o solvente empregado na remoção dos polifenóis foi o hidróxido de amônio.

Palavras-chave: folhas de mandioca; nutrientes; antinutrientes; polifenóis; digestibilidade protéica.

SUMMARY

REMOVAL OF POLYPHENOLS OF THE FLOUR CASSAVA LEAVES. 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 50mL/100mL and ammonium hydroxide 1mol/L) were used for the removal of the polyphenols. Mature leaves of cassava were picked in phase of vegetative development, in three repetitions, 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. The flour was submitted, before e after removal of polyphenols, 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, trypsin inhibitor and polyphenols and an increase in the levels of NDF, ADF, crude protein, β -carotene and *in vitro* protein digestibility. Of the 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%). The *in vitro* protein digestibility increased of 74%, when the solvent employed in the removal of the polyphenols was the ammonium hydroxide.

Keywords: cassava leaves; nutrients; antinutrients; polyphenols; protein digestibility.

1 - INTRODUÇÃO

A farinha de folhas de mandioca apresenta relativamente, elevados teores de proteínas porém, sua digestibilidade é baixa. Isso poderia ser atribuído, parcialmente, ao seu teor em fibras [20]. Em ensaio biológico com ratos realizado por VILAS-BÓAS [28] empregando dietas contendo a parte aérea de mandioca como fonte de fibras, nas proporções de 5, 10 e 15% de fibras, foi concluído que ratos alimentados com as dietas contendo fibras apresentaram crescimento menor e diminuição da eficiência alimentar em relação ao grupo controle. Houve também diminuição da digestibilidade protéica *in vivo*, sendo inversamente proporcional aos níveis de fibras da dieta.

Além das fibras, outros componentes químicos podem ter efeito prejudicial sobre o aproveitamento protéico. Os polifenóis, por exemplo, reduzem a digestibilidade e a disponibilidade de aminoácidos, como a lisina, em que seu grupo ϵ -amino torna-se indisponível [16, 23]. A presença de polifenóis (taninos) influencia também negativamente a disponibilidade de metionina [19] e, além disso, agrava a deficiência inerente de aminoácidos sulfurados das folhas de mandioca. A metionina além de doadora de grupos metil [11] é fonte de enxofre para a detoxificação de cianeto [20].

Neste trabalho empregaram-se três solventes para remover os polifenóis da farinha de folhas de mandioca, objetivando-se melhoria na digestibilidade da proteína. Nutrientes e antinutrientes foram analisados nas farinhas, antes e após a remoção dos polifenóis.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

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 coletadas em três repetições, pela manhã, no mês de outubro

¹ Recebido para publicação em 19/06/2001. Aceito para publicação em 31/03/2004 (000673).

² Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Caixa Postal 37. 37200-000 - Lavras/MG, E-mail: angelita@ufla.br

³ Bolsista PIBIC - CNPq.

⁴ Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

* A quem a correspondência deve ser enviada.

(fase de desenvolvimento foliar) e transportadas em caixas de isopor contendo gelo até o local da secagem. Em seguida, as folhas foram colocadas para secar à sombra, em bandejas de papel, sobre bancadas de madeira, em recinto fechado e arejado, em temperatura ambiente. Após secagem, foram retirados os pecíolos, as folhas trituradas em liquidificador e passadas em peneira de 40mesh. As farinhas obtidas foram submetidas às análises, antes e após a remoção dos polifenóis, no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras/Minas Gerais.

CORRÊA [9] coletou folhas de mandioca da cultivar citada acima, seguindo o mesmo procedimento, porém, no mês de abril, do mesmo ano, cujo período representava a fase de acúmulo de amido da planta. Fez as mesmas análises, exceto a remoção de polifenóis. Seus resultados serão comparados com os deste trabalho.

2.2 – Análises

- Umidade – foi utilizado o método de perdas de água por dessecação em temperaturas de 100 a 105°C na amostra de folhas frescas de mandioca, e na farinha de folhas, em triplicata, como descrito na AOAC [3].
 - Fibra detergente neutro e fibra detergente ácido proposto por Van Soest e Wine, descrito por SILVA [24] – após digestão das farinhas com soluções para fibra detergente neutro (FDN) e para fibra detergente ácido (FDA), os extratos foram filtrados em cadinhos de porcelana contendo lâ de vidro, sob vácuo e lavados com água quente e acetona. Os cadinhos foram levados à estufa e a quantidade de fibras determinada por diferença de peso.
 - Proteína bruta – foi determinada com base no teor de nitrogênio, dosado pelo método de Kjeldahl, de acordo com a metodologia proposta pela AOAC [3]. Utilizou-se o fator de conversão 6,25 para obter o teor de proteína.
 - Açúcares totais – os açúcares foram extraídos pelo método de Lane – Enyon, descrito na AOAC [3] e determinados pelo método de Somogy, adaptado por NELSON [18]. As farinhas foram digeridas com etanol 75mL/100mL e deixadas em repouso. Fez-se uma hidrólise ácida do extrato e a sua desproteinização. Dosaram-se os açúcares totais, por espectrofotometria a 510nm, empregando-se a glicose como padrão.
 - Vitamina C total – determinou-se o teor de vitamina C total pelo método colorimétrico de Roe e Kuether, descrito por STROHECKER & HENNING [26]. Extrauiu-se o ácido ascórbico das farinhas com ácido oxálico 0,5g/100mL e Kiesselegur em agitação. Após filtração, dosou-se a vitamina C no extrato usando o ácido ascórbico como padrão.
 - β -caroteno – empregou-se o método de NAGATA & YAMASHITA [17]. As farinhas foram homogeneizadas com uma mistura de acetona:hexano (4:6). Em seguida, o extrato foi usado para a leitura de absorvância em espectrofotômetro a quatro comprimentos de onda: 453; 505; 645 e 663nm. Para os cálculos das concentrações de β -caroteno utilizou-se a seguinte equação:

$$\beta\text{-caroteno (mg/100 mL)} = 0,216 A_{663} - 1,22 A_{645} - 0,304 A_{505} + 0,452 A_{453}$$
- Cianeto – extrato enzimático para a obtenção da linamarase [22] com adaptações) – uma folha de mandioca fresca foi cortada em pedaços de cerca de 0,25cm² e homogeneizados. Pesou-se 1,0g que foi triturado em gral de porcelana, contendo 0,1g de ácido ascórbico e 0,2g de polivinilpirrolidona-insolúvel (Sigma), em banho-de-gelo, até se obter uma massa homogênea. Em seguida suspendeu-se em 10mL de tampão citrato-fosfato 20mmol/L, pH 6,0 e centrifugou-se a 2.000x g, por 15 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi dialisado com tampão citrato-fosfato 50mmol/L, pH 6,0, para remover os glicosídeos cianogênicos.
 - ✓ Medida da atividade da linamarase [22] com adaptações) – alíquotas do extrato enzimático foram incubadas a 30°C, com o substrato p-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (10mmol/L), preparado em tampão citrato-fosfato 0,2mol/L, em pH 6,0. A reação foi interrompida pela adição de NaOH 0,2mol/L, nos tempos 10, 20, 30 e 40min. Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram incubados do mesmo modo que os experimentais. O p-nitrofenol (0,0174g/500mL) foi empregado para se construir a curva padrão, fazendo a leitura espectrofotométrica a 400nm. A atividade calculada foi expressa em μ mol de substrato hidrolisado por minuto (U) por 100g de matéria seca (MS).
 - ✓ Preparo dos extratos contendo glicosídeos cianogênicos para a dosagem de cianeto [13] com adaptações) – 1,0g da farinha foi misturada com 25mL de HCl 0,1mol/L e agitados por 15 minutos, em agitador magnético, em temperatura ambiente. Filtrou-se por tela de náilon e o pH do extrato foi ajustado para 6,0. A seguir, centrifugou-se a 2.000x g, por 15 minutos e o sobrenadante foi recolhido e congelado até ser analisado.
 - ✓ Determinação de cianeto – dosado segundo WOOD [30]. 0,15mL do extrato contendo os glicosídeos cianogênicos, foram misturados com 0,05mL do extrato enzimático e incubado a 30°C, por 1 hora. Em seguida, foi adicionado 0,8mL de uma mistura recente de ácido pícrico saturado (1,4 g/100mL a 30°C) e carbonato de sódio 5g/100mL na proporção 1:1. Deixou-se em repouso por 10 minutos, adicionou-se 1,5mL de água e aqueceram-se os tubos com as soluções durante 12 minutos em banho-maria em ebulição. A leitura foi feita a 530nm usando o cianeto de potássio como padrão. Além do branco reagente fez-se também branco de ex-

trato contendo os glicosídeos cianogênicos (sem enzima) e branco do extrato enzimático (sem glicosídeos cianogênicos).

- h) Inibidor de tripsina – de acordo com a técnica descrita por KAKADE et al. [14] e KAKADE, SIMONS & LIENER [15]. A farinha foi extraída com solução de NaOH 0,1mol/L em agitação magnética. Após centrifugação, uma alíquota do sobrenadante foi usada no ensaio enzimático empregando o BApNA (benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida) como substrato, e a enzima tripsina. A leitura da mistura foi feita a 410nm. A atividade do inibidor de tripsina foi expressa em termos de unidade de tripsina inibida (UTI)/mg de MS.
- i) Polifenóis – descritos por GOLSDTEIN & SWAIN [12]. A farinha foi extraída com metanol 50mL/100mL em refluxo por três vezes consecutivas. Os extratos foram reunidos, evaporados até o volume de 25mL e submetidos à dosagem de polifenóis, usando ácido tânico como padrão.
- j) Digestibilidade protéica *in vitro* – de acordo com AKESON & STAHMANN [1]. A farinha foi digerida com pepsina e pancreatina. A reação foi interrompida pela adição de ácido tricloroacético. Após centrifugação, dosou-se o nitrogênio no sobrenadante. A caseína foi usada como controle. A digestibilidade encontrada para caseína foi tomada como padrão, seu valor considerado como 100% e as digestibilidades das farinhas foram corrigidas em relação à caseína.
- k) Medida de pH [27] com adaptações – 0,5g de farinha com 50mL de água destilada foram agitadas por 30 segundos em agitador magnético, e deixadas em repouso por 30 minutos. Em seguida, agitadas e o pH lido no potenciômetro.
- l) Estatística – calculou-se a média das três repetições e o desvio padrão.

2.3 – Remoção de polifenóis

A remoção de polifenóis foi baseada no trabalho de SRIPAD & NASARINGA RAO [25], com adaptações. Três solventes - água, etanol 50mL/100mL e hidróxido de amônio 1mol/L - foram utilizados para remover os polifenóis da farinha de folhas de mandioca, em 3 repetições, na proporção de 1g para 25mL, respectivamente, com agitação magnética em 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 (2000g 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, em 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

mente fechados em temperatura ambiente, em um desidrator, até serem submetidos às análises.

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 colhidas em outubro. Os teores de umidade das folhas frescas e da farinha de folhas de mandioca foram, em média, iguais a $67,50 \pm 1,50$ e $9,12 \pm 0,33\text{g}/100\text{g}$, 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. O metanol seria o solvente orgânico mais indicado, uma vez que ele já é usado para quantificar os polifenóis nas amostras em análise. 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 [2], 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 1:1.000), quando podem aparecer irritações nas mucosas, olhos e pele, cefaléia, vertigem, embriedade e sonolência. Apesar dos efeitos tóxicos do hidróxido de amônio, ele foi usado, tendo em vista os bons resultados obtidos por PADMAJA [21], em estudos realizados com folhas de mandioca, e por WAICHUNGO & HOLT [29], com sorgo. O hidróxido de amônio pode provocar ulcerações profundas ou queimaduras; cegueira, quando em contato com os olhos; irritação nas mucosas do trato pulmonar com dispnéia, tosse e mesmo pneumonia grave, quando inalado [2]. Assim, todos os cuidados foram tomados ao manusear o hidróxido de amônio.

Dos 25g de farinha empregados na remoção de polifenóis com os solventes água, etanol 50mL/100mL e hidróxido de amônio 1mol/L, obteve-se, após a liofilização, quantidades médias de 13,33; 14,68 e 13,24g 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 5,3. Após a extração com os solventes água, etanol 50mL/100mL e hidróxido de amônio 1mol/L, os pH foram de 5,9; 6,2 e 7,2, respectivamente. Já PADMAJA [21] encontrou valores de pH nas folhas frescas de mandioca variando de 5,9 a 6,1. Após a pulverização com hidróxido de amônio

nio (a 2,5mol/L e concentrado) para remover os taninos, obteve-se valores de 6,3 e 6,8, respectivamente. Estas variações nos valores de pH dos extratos podem ser devidas aos constituintes solúveis nas amostras e também aos valores de 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 [21] ao empregar hidróxido de amônio a 2,5mol/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 & HOLT [29] também encontraram uma redução de cerca de 88% nos níveis de taninos em sorgo, quando tratados, por embebição, com hidróxido de amônio (0,01 a 1mol/L), por um período de, no máximo, 20 dias.

Na Tabela 1 são apresentadas também as percentagens médias da digestibilidade protéica *in vitro*. Observa-se um aumento de 22,93 a 74,37% após a remoção dos polifenóis, sobretudo quando o solvente empregado foi o hidróxido de amônio. CHA VAN et al. [8] também encontraram melhoria na digestibilidade protéica do sorgo, quando extraíram os taninos com soluções alcalinas. Estes resultados comprovam a influência negativa dos polifenóis sobre a digestibilidade da proteína *in vitro*.

TABELA 1. Teores médios¹ de polifenóis e digestibilidade protéica *in vitro* das farinhas de folhas de mandioca, coletadas em outubro, antes e após a remoção de polifenóis

Solventes para extração	Polifenóis ²		Remoção (%)	Digestibilidade (%) ³		Aumento digestibilidade (%)
	antes	após		antes	após	
Água	63,77 ±4,11	22,40 ±1,86	64,87	28,91 ±3,42	35,54 ±3,06	22,93
Etanol	63,77 ±4,11	10,63 ±0,78	83,33	28,91 ±3,42	43,32 ±2,53	49,84
NH ₄ OH	63,77 ±4,11	3,68 ±0,10	94,23	28,91 ±3,42	50,41 ±0,36	74,37

1 – Dados são médias de três repetições ± desvio padrão.

2 – mg de ácido tânico/g de matéria seca.

3 – Valores corrigidos para caseína, considerada 100% digerível.

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

A farinha de folhas coletadas em outubro (OUT) apresentou teores médios de FDN, FDA, açúcares totais e proteína bruta iguais a 33,83; 28,80; 2,92 e 28,60g/100g MS, respectivamente (Tabela 2). Entretanto, observou-se que estes níveis são 3 a 7,4% superiores aos encontrados na farinha das folhas coletadas em abril (ABR), fase de acúmulo de amido na planta [9].

Constituíram exceção os teores de açúcares totais, para os quais constatou-se uma redução de cerca de 23%.

A farinha **OUT** apresentou teores médios de vitamina C e β-caroteno de 72,91 e 77,39mg/100g MS, respectivamente. Comparada com a farinha **ABR**, observa-se diminuição nos teores de vitamina C, em cerca de 33%, mas mantiveram-se semelhantes em β-caroteno. Após a remoção dos polifenóis, ocorreu um aumento relativo nos teores de FDN, FDA, proteína bruta e β-caroteno (Tabela 2), pois estes componentes não foram provavelmente, solubilizados pelos solventes empregados. Como já era esperado, houve perda praticamente total nos teores de açúcares totais e vitamina C, com qualquer um dos solventes empregados.

Os níveis médios de cianeto, inibidor de tripsina e polifenóis encontrados para a farinha **OUT** foram muito mais elevados que os determinados na farinha **ABR** (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 a níveis não detectados.

DANTAS-BARROS [10] encontrou 12,80UTI/mg de amostra de inibidor de tripsina em leguminosas (*Desmodium discolor*) e observou que este teor não justificou o valor baixo da digestibilidade (69%), atribuindo-o aos polifenóis, cujo nível foi de 40mg/g de amostra. Também BARCELOS et al. [4], analisando grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] e guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp] crus ou processados, encontraram 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 ABR com a farinha OUT, observou-se uma redução de 45%. Essa redução é devida provavelmente, aos teores mais elevados de fatores antinutricionais presentes, principalmente os polifenóis, cujo aumento foi de 2,8 vezes (Tabela 2), uma vez que eles complexam 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

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 100g de matéria seca						Em matéria seca			
	FDN (g)	FDA (g)	Açúcares totais (g) ³	Proteína bruta (g)	Vitamina C (mg)	β -caroteno (mg)	Cianeto (mg/kg)	Inibidor tripsina (UTI ⁴ /mg)	Polifenóis (mg ⁵ /g)	Digestibilidade (%) ⁶
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
	$\pm 2,58$	$\pm 1,32$	$\pm 0,20$	$\pm 1,02$	$\pm 3,05$	$\pm 4,40$	$\pm 3,55$	$\pm 0,44$	$\pm 4,11$	$\pm 3,42$
Farinha de folhas coletadas em outubro, após remoção de polifenóis										
Solvente										
Água	46,8	31,2	0,10	31,84	Nd ⁷	81,53	Nd	6,29	22,40	35,54
	$\pm 2,27$	$\pm 1,44$	$\pm 0,01$	$\pm 0,81$		$\pm 5,43$		$\pm 0,41$	$\pm 1,80$	$\pm 3,06$
Etanol	57,7	29,5	0,04	36,47	Nd	94,38	Nd	Nd	10,63	43,32
	$\pm 2,74$	$\pm 2,89$	$\pm 0,00$	$\pm 1,10$		$\pm 2,11$			$\pm 0,78$	$\pm 2,53$
NH ₄ OH	56,6	44,1	0,03	32,15	Nd	96,64	Nd	Nd	3,68	50,41
	$\pm 0,71$	$\pm 1,27$	$\pm 0,00$	$\pm 0,06$		$\pm 2,94$			$\pm 0,10$	$\pm 0,36$

1 - Fase de acúmulo de amido, dados obtidos de CORRÊA [9]. 2 - Fase de desenvolvimento foliar, os dados são médias de três repetições \pm desvio padrão. 3 - g de glicose. 4 - UTI = unidades de tripsina inibida. 5 - mg de ácido tânico. 6 - Valores corrigidos para caseína considerada 100% digerível. 7 - Nd = Não detectado.

fatores antinutricionais, além da escolha da cultivar com menor nível inicial das substâncias em questão. Estes dados estão de acordo com CARVALHO, CHAGAS & JUSTE JUNIOR [5], CARVALHO et al. [6] e CARVALHO & KATO [7] que, estudando a composição da parte aérea da mandioca, observaram variações acentuadas com a idade das plantas e com o grau de enfolhamento. De acordo com CARVALHO et al. [6], 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 coletado no 16^o mês para se ter os menores teores de polifenóis e, ao mesmo tempo, os maiores de proteína. Portanto, sugere-se que as folhas devam ser coletadas próximas à fase de acúmulo de amido, na qual apresentarão menores níveis de fatores antinutricionais.

4 - CONCLUSÕES

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

O processo de extração com o etanol acarreta variações nos níveis de nutrientes da farinha de folhas de mandioca, reduz consideravelmente os antinutrientes e aumenta a digestibilidade protéica *in vitro*.

A escolha do estágio de desenvolvimento da planta deve ser levada em consideração, uma vez que a fari-

nha de folhas coletadas na fase de acúmulo de amido, apresenta menores teores de antinutrientes e uma maior digestibilidade protéica *in vitro*.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AKESON, W.R.; STAHMANN, M.A. A pepsin pancreatic digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, v. 83, p. 257-261, 1964.
- [2] ALVAREZ-LEITE, E.M.; JOKL, L. Riscos químicos e toxicológicos de algumas substâncias utilizadas em laboratórios. **Revista de Farmácia e Bioquímica da UFMG**, v. 11, p. 83-94, 1990.
- [3] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16. ed. Washington, 1995.
- [4] BARCELOS, M.F.P.; TAVARES, D.Q.; MIRANDA, M.A.C.; GERMER, S.P.M. Aspectos químicos e bioquímicos de leguminosas enlatadas em diferentes estádios de maturação. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 19, n. 1, p. 59-72, jan./abr. 1999.
- [5] CARVALHO, V.D.; CHAGAS, S.J.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**, v. 10, n. 1/2, p. 47-58, 1991.
- [6] CARVALHO, V.D.; CHAGAS, S.J.R.; MORAIS, A.R.; PAULA, M.B. 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**, v. 8, n. 1, p. 25-35, 1989.
- [7] CARVALHO, V.D.; KATO, M.S.A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p. 23-28, 1987.
- [8] CHA VAN, J.K.; KADAM, S.S.; GHOMSİKAR, C.P.; SALUNKHE, D.K. Removal of tannins and improve-

- ment of *in vitro* protein digestibility of orghum seeds by soaking in alkali. **Journal of Food Science**, v. 44, n. 5, p. 1319-1321, 1979.
- [9] CORRÊA, A.D. **Farinha de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz cv. Baiana) - efeito de processamentos sobre alguns nutrientes e antinutrientes**. Lavras, 2000. 108 p. Exame de Qualificação (Doutor em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras (UFLA).
- [10] 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, 1984. 135 p. Exame de Qualificação (Mestre em Bioquímica) – Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).
- [11] FULLER, H.L.; CHANG, S.I.; POTTER, D.K. Detoxication of dietary tannic acid by chicks. **Journal of Nutrition**, v. 91, p. 477-481, 1967.
- [12] GOLDSTEIN, J.L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. **Phytochemistry**, v. 2, p. 371-383, 1963.
- [13] IKEDIABI, 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**, v. 44, n. 12, p. 2803-2809, 1980.
- [14] 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**, v. 51, p. 376-382, 1974.
- [15] 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**, v. 46, p. 518-526, 1969.
- [16] KUMAR, R.; SINGH, M. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, p. 447-453, 1984.
- [17] NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomatoes fruit. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 39, n. 10, p. 925-928, 1992.
- [18] NELSON, N.A. A photometric adaptation of Somogy method for determination of glucose. **Journal of Biology Chemistry**, v. 153, n. 1, p. 375-380, 1944.
- [19] 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**, v. 54, p. 1620-1623, 1975.
- [20] OKE, O.L. Problems in the use of cassava as animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 3, p. 345-380, 1978.
- [21] PADMAJA, G. Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, p. 712-716, 1989.
- [22] SANTOS, C.D.; FERREIRA, C.; TERRA, W.R. Consumption of food and spatial organization of digestion in the cassava hornworm, *Erinnyis ello*. **Journal of Insect Physiology**, v. 29, n. 9, p. 707-714, 1983.
- [23] SGARBIERI, V.C. **Proteínas em Alimentos Protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.
- [24] SILVA, D.J. **Análise de Alimentos - métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1990. 165p.
- [25] 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**, v. 35, p. 962-967, 1987.
- [26] STROHECKER, R.; HENNING, H.M. **Análises de Vitaminas: métodos comprovados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.
- [27] VETTORI, L. **Métodos de análise de solos**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1969. 24p. (Boletim Técnico, 7).
- [28] VILAS-BÔAS, L.M.A. **Efeito da presença de fibra de mandioca na dieta sobre alguns parâmetros nutricionais e bioquímicos**. Belo Horizonte, 1979. 68p. Exame de Qualificação (Mestre em Bioquímica) – Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).
- [29] 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**, v. 43, p. 728-732, 1995.
- [30] WOOD, T. The isolation, properties, and enzymic breakdown of linamarin from cassava. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, v. 17, p. 85-90, 1966.

6 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.