

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU**

**PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FARINHA DE MANDIOCA
COMUM ENRIQUECIDA COM ADIÇÃO DAS PRÓPRIAS FOLHAS
DESIDRATADAS PARA CONSUMO ALIMENTAR**

MARIANGELA ROSÁRIO AGOSTINI

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU-SP
Dezembro – 2006

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU**

**PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FARINHA DE MANDIOCA
COMUM ENRIQUECIDA COM ADIÇÃO DAS PRÓPRIAS FOLHAS
DESIDRATADAS PARA CONSUMO ALIMENTAR**

MARIANGELA ROSÁRIO AGOSTINI

Orientador Prof. Dr. Cláudio Cabello

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU-SP
Dezembro – 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Agostini, Mariangela Rosário, 1978-
A276p Produção e utilização de farinha de mandioca comum enriquecida com adição das própria folhas desidratadas para consumo alimentar / Mariangela Rosário Agostini. - Botucatu: [s.n.], 2006.
vi, 84f. : il. color., gráfs, tabs.

Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2006
Orientador: Cláudio Cabello
Inclui bibliografia

1. Farinha de mandioca. 2. Mandioca - Folhas. 3. Fenóis.
4. Alimentos - Análise. I. Cabello, Cláudio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DA FARINHA DE MANDIOCA ENRIQUECIDA
COM ADIÇÃO DAS PRÓPRIAS FOLHAS NO CONSUMO ALIMENTAR"

ALUNA: MARIANGELA ROSÁRIO AGOSTINI

ORIENTADOR: PROF. DR. CLAUDIO CABELLO

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. CLAUDIO CABELLO



PROF. DR. ROGÉRIO LOPES VIEITES



PROF. DR. LUIS FERNANDO BARBISAN

Data da Realização: 02 de fevereiro de 2007.

**À minha Mãe,
pelo amor incondicional, incentivo e apoio sempre, minha eterna gratidão.
...a minha amada Mãe que me acompanhou em cada segundo
dessa trajetória, dedico.**

AGRADECIMENTOS

- Á Deus pela vida.
- Ao meu Pai pelo amor, confiança e integridade agradeço.
- Ao Ado, meu querido irmão pela cumplicidade, amizade e amor.
- Ao meu avo Ary Rosário (*in memorian*) pelo exemplo de humanidade, humildade, sabedoria e dignidade á seguir, pelo amor eterno, ofereço.
- Aos meus sobrinhos lindos Natália e Felipe, por tornarem meus dias mais felizes.
- Ao meu irmão caçula João Vitor pela luz que a todos nós a trouxe.
- Aos meus familiares pela boa convivência e incentivo sempre.
- Ao meu orientador Prof. Dr. Cláudio pelo apoio e ensinamento constante, pelo exemplo de profissional, agradeço.
- Ao primo Fernando Rosário pela amizade incondicional e apoio sempre, agradeço.
- Ao Cássio pela amizade e consideração.
- As minhas amigas de Garça pela amizade verdadeira.
- Ao Prof. Vitor pela oportunidade, incentivo e amizade.
- Luis Antonio (Toti) e amigos de Botucatu pela convivência, amizade e apoio constante.
- Aos meus amigos Douglas, Sérgio e Eduardo, colaboradores técnicos do Laboratório Cerat, pela colaboração na execução do trabalho, satisfação em fazê-lo e, pelo carinho.
- Aos funcionários e Prof.s do Laboratório Cerat Luis, Alessandra, Magali, Marcelo pelo apoio na pesquisa e boa convivência .
- A Indústria de Alimentos Deusa pelo apoio constante.
- As amigas Lisandra e Magali, pelo apoio e amizade.

- A minhas irmãs Vanessa, Maíra, Isa, Ariane e Mariana pelos momentos de felicidade constante e dificuldades, dispondo sempre de uma palavra certa nos momentos mais incertos, minha amizade eterna.
- Rosangela, pós-graduação e Zacarias pela espontaneidade em ajudar sempre.
- Marlene da secretária da Pós-graduação pela atenção e bom atendimento.
- Ao Prof. Luis Fernando pela colaboração na execução desse trabalho, auxílio na realização das estatísticas sugestões apresentadas e atenção sempre.
- Ao Prof. Dr. Rogério Lopes, pela amizade, apoio e auxílios na execução desse trabalho.
- Ao Prof. Godinho pelas informações transmitidas e apoio.
- Ao Departamento Ceatox, na pessoa de Alaor pelo auxílio na leitura de minerais.
- Ao Departamento Solos pela colaboração na realização das análises de minerais.
- Biotério da Faculdade de Medicina de Botucatu pela colaboração na execução do trabalho e disposição de materiais utilizados.
- Ao Molina pela confiança, apoio e amizade, sempre.
- A Universidade de Piracicaba UNIP, pela disposição de materiais.
- A CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior, pela concessão de bolsa de estudo.
- Ao governo para com a saúde e alimentação das nossas crianças, o meu apelo.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMO.....	2
SUMMARY.....	5
1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Cultura da mandioca (<i>Manihot esculenta Crantz</i>).....	12
2.1.1 Composição da mandioca.....	13
2.1.2 Processamento de farinha de mandioca.....	14
2.2 Folhas de mandioca como fonte de micro e macronutrientes.....	15
2.2.1 A proteína da folha da mandioca.....	17
2.2.2 Processos e aplicações das proteínas vegetais.....	18
2.2.3 Processos de extração de proteínas de folhas de mandioca.....	19
2.3 Utilização da folha da mandioca em alimentação humana.....	19
2.3.1 Legislação vigente.....	22
2.4. Biodisponibilidade de nutrientes e fatores antinutricionais.....	23
2.4.1 Biodisponibilidade.....	23
2.4.2 Fatores antinutricionais.....	24
2.4.3 Glicosídeos cianogênicos.....	26
2.4.4 Compostos fenólicos.....	28
2.4.5 Ácido fítico.....	29
2.4.5.1 Redução do conteúdo de ácido fítico nos alimentos.....	31
2.4.6 Ácido oxálico.....	32
2.4.7 Taninos.....	34
2.4.7.1 Efeito dos taninos no trato digestório dos animais domésticos.....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1 Coleta da matéria-prima.....	39

3.1.2	Caracterização da matéria-prima.....	40
3.2	Metodologia analítica utilizada.....	40
3.2.1	Teor de umidade pelo método de secagem em estufa.....	40
3.2.2	Determinação de pH.....	40
3.2.3	Determinação do teor de taninos.....	40
3.2.4	Determinação do teor de fibra bruta.....	41
3.2.5	Determinação do teor de proteínas.....	41
3.2.6	Determinação do teor de lipídeos.....	41
3.2.7	Determinação do teor de cianeto total.....	42
3.2.8	Determinação de açúcares solúveis totais.....	42
3.2.9	Determinação de carboidratos totais.....	42
3.2.10	Determinação de acidez titulável.....	42
3.2.11	Amido.....	42
3.3	Produção de farinha de mandioca.....	43
3.4	Produção de farinha de folhas de mandioca.....	44
3.4.1	Desidratação das folhas.....	44
3.4.2	Desintegração das folhas.....	44
3.4.3	Produção de farinha de mandioca enriquecida com a adição das folhas de mandioca.....	44
3.5	Formulação de dietas a partir da farinha de mandioca e folhas em diferentes proporções.....	45
3.6	Experimentação Animal.....	48
3.6.1	Protocolo Experimental.....	48
3.6.2	Delineamento Experimental.....	50
3.6.2.1	Identificação dos animais.....	50
3.6.2.2	Sacrifício de animais e coleta de sangue e fígado.....	51
3.6.3	Determinação das enzimas séricas ALT.....	51
3.6.4	Coloração de Hematoxilina-Eosina (HE).....	52
3.6.5	Mineralização Óssea.....	55

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
4.1 Resultados da composição centesimal.....	56
4.2 Resultados dos ensaios das dietas.....	62
4.3 Resultados do peso absoluto e relativo dos animais e marcadores Bioquímicos.....	65
4.4 Mineralização óssea.....	67
4.5 Utilização de macronutriente (proteínas) e sua biodisponibilidade pelos ratos machos e fêmeas.....	69
4.6 Histologia do fígado.....	70
5 CONCLUSÕES.....	72
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
7 APÊNDICE.....	79
7.1 Peso corporal e peso relativo de ratos machos e fêmeas, submetidos a diferentes dietas durante o período.....	80
7.2 Valores médios de consumo total de ração dos diferentes grupos experimentais.....	82
7.3 Mineralização óssea referente aos animais do sexo masculino.....	83
7.4 Mineralização óssea referente aos animais do sexo feminino.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabelas	Página
1 Composição da raiz da mandioca.....	13
2 Componentes utilizados para o preparo das dietas suficiente para o tratamento dos ratos durante 60 dias.....	45
3 Composição das farinhas de mandioca com adição das folhas de mandioca moída na proporção de 10, 20 e 30%.....	46
4 Composição do Complexo Mineral – Mistura salina, utilizados como fonte de micronutrientes das dietas preparadas.....	47
5 Composição do Complexo Vitamínico, utilizados como fonte de micronutrientes das dietas preparadas.....	48
6 Análise centesimal de amostra de farinha de mandioca Fécula Branca.....	57
7 Análise centesimal de amostras das folhas pulverizadas de mandioca Fécula Branca.....	58
8 Análise de Taninos em amostras de folhas de mandioca.....	59
9 Valores de micronutrientes encontrados nas cinco dietas preparadas para o tratamento.....	60
10 Valores de micronutrientes encontrados nas folhas de mandioca.....	61
11 Valores médios do peso e ganho de peso corpóreo dos diferentes grupos experimentais (machos).....	62
12 Valores médios do peso e ganho de peso corpóreo dos diferentes grupos experimentais (fêmeas).....	64
13 Valores médios de peso corpóreo final (g), peso relativo do fígado (%), peso do fêmur (g) e valores da enzima alanina aminotransferase (ALT) dos diferentes grupos experimentais (machos).....	65
14 Valores médios de peso corpóreo final (g), peso relativo do fígado (%), peso do fêmur (g) e valores da enzima alanina aminotransferase (ALT) dos diferentes grupos experimentais (fêmeas).....	66

15 Retenção média de Ca (cálcio) nos ossos referentes aos animais dos diferentes grupos experimentais (machos).....	67
16 Retenção média de Ca (cálcio) nos ossos referentes aos animais dos diferentes grupos experimentais (fêmeas).....	68
17 Coeficiente de Eficácia Protéica (CEP) referentes aos animais dos diferentes grupos experimentais.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
1 Foto das folhas de mandioca.....	43
2 Foto das dietas peletizadas.....	47
3 Foto dos animais utilizados nesse experimento.....	49
4 Lesões hepáticas decorrentes de toxicidade em cortes histológicos de Fígado.....	54
5 Ganho de peso final para animais do sexo masculino.....	63
6 Ganho de peso final para animais do sexo feminino.....	64
7 Cortes histológicos de fígado referentes aos animais do sexo masculino e feminino, dos grupos das dietas manufaturada (controle) e dieta com adição de 30% de folhas.....	70

RESUMO

A farinha de mandioca é consumida intensamente na culinária brasileira, participando como fonte importante de carboidratos na dieta. Em algumas regiões onde condições sócio econômicas impõe restrições a uma dieta balanceada, esta fonte de carboidrato se apresenta talvez como a única fonte de nutrientes para o consumo.

A mandioca possui baixas concentrações de proteínas e matérias graxas quando comparada a outras fontes de alimento concorrentes nestes nichos, tais como o feijão e o milho e, portanto esta característica não a recomenda como constituinte principal nas dietas.

Aproveitar materiais residuários descartados na colheita significa aproveitamento mais racional do custo de produção.

As pesquisas sempre focaram a presença de proteínas nas folhas de mandioca, bem como a importância dessa fonte alternativa de nutrientes, disponível para o consumo humano, onde normalmente são consumidos na forma desidratada e crua, adicionado aos alimentos em diferentes proporções. No entanto, não foi encontrado nenhum trabalho onde a utilização desse alimento não se apresentasse na forma crua, e que fosse submetido ao processo de cocção em temperatura suficiente para diminuir a presença de compostos fenólicos, haja visto que estes compostos são sensíveis à exposição de temperatura elevada, onde supõe-se a possibilidade do processo de degradação parcial dos mesmos compostos,

considerando, as condições de tempo de cocção, umidade do material, concentração de fibras presentes na variedade, concentração de ácidos orgânicos, entre outros, onde essa farinha fosse preparada, adicionando proporções dessa folha, antes do processo de cocção e na seqüência submetidos a fornos abertos em temperatura em torno de 150 a 200°C.

O processo de fabricação da farinha pode afetar positivamente ao provocar a redução dos compostos considerados antinutricionais, que são substancias com capacidade de interferir na utilização de nutrientes, tornando-os indisponível ao organismo, reduzindo a biodisponibilidade dos nutrientes. A biodisponibilidade é bem definida quando a proporção ou fração do nutriente no alimento é absorvida e utilizada para manutenção das funções fisiológicas.

O objetivo da pesquisa foi avaliar a composição e valor nutricional, e o efeito da incorporação da farinha enriquecida com folhas da mandioca à dieta alimentar, analisando sua viabilidade, além de efeitos dos compostos antinutricionais, utilizando ratos da linhagem Wistar (machos e fêmeas) como modelo experimental.

A composição centesimal das folhas desidratadas utilizadas nas dietas evidenciou um teor de 25 % de proteínas, demonstrando potencialidades para o enriquecimento da farinha de mandioca com a parte aérea da raiz da mandioca.

Também foi observada uma fração de 9 g/kg em peso seco de taninos presentes nas folhas, considerado na margem de aceitabilidade por ingestão do mesmo, quando comparado a valores recomendados.

Os resultados do monitoramento de peso dos ratos indicaram que os machos tiveram um ganho maior de peso em relação às fêmeas, em média 100 g para ganho de peso final. No entanto os grupos que consumiram a dieta com 10 e 20% de folhas, apresentaram maior ganho de peso, em aproximadamente 30 - 80 g, para machos e fêmeas, comparados inclusive às dietas de composição comum.

A retenção de cálcio nos ossos para os grupos que receberam dietas enriquecidas foi maior comparada ao grupo controle, não demonstrando alterações para o ácido oxálico encontrado normalmente nas folhas de mandioca. Os valores de ALT no sangue e análises histológicas não indicaram toxicidade hepática nos animais. O peso relativo do fígado

observado foi em média 3%, e esta dentro dos limites estipulados (2 - 5%), correspondendo ao peso corporal, não demonstrando hipertrofia.

De acordo com o Coeficiente de Eficácia Protéica (CEP), os animais tiveram adequada retenção e utilização da proteína, comparado ao grupo controle, demonstrando crescimento e desenvolvimento adequado, de acordo com ganho de peso corporal e consumo médio de ração em período crítico de 30 dias. Dessa forma sugere-se a utilização de 20% de adição de farinha de folhas para enriquecer a farinha de mandioca comum, considerando a biodisponibilidade dos nutrientes presentes e toxicidade por parte dos compostos fenólicos.

Baseado nos resultados dos indicadores biológicos e análise centesimal realizado neste experimento foram concluídos que, as dietas enriquecidas foram suficientes para promover o crescimento, desenvolvimento e manutenção de forma satisfatória comparado à dieta comum, sendo considerado adequado seu uso no consumo alimentar. Foi observado irritabilidade e agitação pelos ratos do grupo E, que foram tratados com dieta composta de 30% de folhas, demonstrando possíveis alterações neurológicas, estudos cabem nesse sentido. Observou-se também, possibilidade de aumento na motilidade intestinal, desencadeando distúrbios intestinais decorrentes de fezes diarréicas, possivelmente ocasionadas pela toxicidade e maior presença de compostos fenólicos, além de maior concentração de fibras contidas nessa dieta com folhas de mandioca.

SUMMARY

The cassava flour is largest consumed in Brazil and is an important carbohydrate source. Due the social and economic situation of some Brazilian regions, this product shows it the main nutrient source. The cassava has low protein and lipids when compared with other important foods as bean and corn. Because of nutrient deficiency, cassava is not recommended as principal food in diets.

The use of harvest residues means a rational production with low cost for industries. In the same way, the addition of plant parts without additives with low alterations in process is other argument for cost reduction with low nutrition risk.

The research always aiming the protein presence in cassava leaves, as well as the importance of leaves as alternative source of nutrients, available for the human consumption. The cassava leaves are normally consumed in the dehydrated and raw form and are added in different percentage in food preparations. However, is difficult to observe researches that objective to use temperature aiming to reduce the phenolic components in cassava leaves. The phenolic composites are high temperature sensible and in this conditions occur the partial degradation of these components. It is important to consider the time of exposition, humidity of material, fiber percentage, organic acids concentration, process of flour preparation, percentage of leaves and dryer temperature in opened oven (150°C to

200°C) in this process. The cassava flour processing can affect positively due the decrease of anti-nutritional components, increase of digestibility and protein absorption, and the use of the enriched flour can be an alternative to recoup the nutritional state of individuals group with alimentary deficiency.

The objective of this work was to evaluate the composition and nutritional value of cassava flour added of leaves aiming to analyze the viability as alimentary source, as well as the anti-nutritional components effect, using rats as experimental model.

The centesimal composition of dried leaves in diets showed 25g of protein. This composition indicated that cassava leaves could be added in flour. It was observed 9g/Kg of tannins in leaves, acceptable level when compared with recommended values.

The analysis of rat's weight during the experiment indicated that the increase of males weight was bigger than females (media of 100g of increase in final weight). However, the groups that consumed diets with 10 and 20% of leaves showed a weight increase, 30 to 80g, for both sex, when compared with common diet group.

The calcium retention in the bones for the groups that had received enriched diets was bigger than control group. It was not observed alterations due oxalic acid normally found in cassava leaves. The values of ALT in the blood and histological analyses not indicated toxic effects.

The relative weight of liver was 3%. This percentage is in accord of stipulated limits (2-5%), corresponding to the constant corporal weight, and not demonstrating the occurrence of pathology and/or hepatitis associated with the toxic composite consumption. However, it is possible that de phenolic components, with anti-nutritional effect, present in cassava flour had haven action in diet metabolism and rat's physiology, mainly in the group that was used 30% of leaves. This hypothesis is due the observed changes in behavior of males and females rats when compared with other groups (<30% of leaves in flour). All animals survived until the ending of experiment.

In accordance with the Protein Efficiency Coefficient (PEC), the animals had good retention and use of protein, when compared with the control group, demonstrating growing

and development adjusted, because the increase of corporal weight and average consumption of feed in critical period of 30 days.

These results indicated that cassava flour could be enriched with 20% of leaves during the processing, considering the nutrient bio-available and toxic fraction of phenolic components.

Based in the results of the biological index and centesimal analysis it was possible to conclude that the enriched diets was enough to promote the growing and satisfactory development, when compared with the common diet, being considered adjusted the introduction of these diets in daily consumption and their posterior use. However, it was observed irritability and agitation in the rats of group E (30% of leaves), demonstrating possible neurological alterations. It was also observed intestinal disturbers, probably caused by phenolic components and high fiber level in this diet. Other researches are necessary to confirm these observations.

1 INTRODUÇÃO

A farinha de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) constitui um dos principais produtos da mandioca, e seu uso é muito difundido em todo o país, fazendo parte da alimentação diária de muitos brasileiros. É um alimento rico em carboidratos e fibras e, quando integral, contém quantidades significativas de proteína, cálcio, fósforo, sódio e potássio, que é intensamente consumida na culinária brasileira, participando como importante fonte de carboidratos na dieta. Em algumas regiões onde condições sócio econômicas impõe restrições a uma dieta correta e balanceada, esta fonte de carboidrato se apresenta talvez como a única fonte de nutrientes no consumo cotidiano.

A mandioca possui baixas concentrações de proteínas e matérias graxas quando comparada a outras fontes de alimentos concorrentes nestes nichos, tais como o feijão e o milho e, portanto esta deficiência não a recomenda como constituinte principal nas dietas.

Um dos grandes problemas enfrentados pelas populações de baixa renda em todo o mundo e, principalmente, nos países em desenvolvimento é a inadequação da alimentação, o qual ocasiona quase sempre a desnutrição (CORRÊA, 2000).

A farinha de mandioca é produzida a partir de raízes trituradas e torradas em fornos de chapa abertos, onde o processo térmico promove uma gelatinização dos amidos presentes na massa ralada que aglomerando os tecidos fragmentados das raízes, dão a

característica de um pó de granulometria variada e odor característico, agradável ao paladar e de boa sensação tátil na boca.

A utilização das plantas desta maneira (só raízes) provoca o desperdício de componentes nutricionais no momento da colheita, pois as partes aéreas são descartadas como resíduos agrícolas e incorporados ao solo. Estes materiais com características nutricionais de interesse podem representar uma fonte adicional de recursos alimentares (DANTAS-BARROS, 1984).

A parte aérea da planta da mandioca é composta por caules lenhosos de determinada rigidez que vai diminuindo conforme se caminha para a região apical que apresenta coloração verde e de onde saem às folhas. Este conjunto de folhas e caules de tonalidade verde é que apresentam potencialidades de aproveitamento.

Carvalho (1987) estudando a concentração de proteína encontradas nas folhas, no terço superior e dois terços inferiores de três cultivares de mandioca em oito épocas de colheita da planta, apresentaram valores médios, em peso seco, de: i) 25,14% para folhas; ii) 21,88% para terço superior, e iii) 6,37% para dois terços inferiores para cultivares com 12 meses.

Fisiologicamente o desenvolvimento da planta apresenta concentrações variadas de compostos de fenólicos que, por apresentar propriedades antinutricionais, são indesejáveis. O planejamento da colheita da parte aérea pode ser realizado visando minimizar este aspecto indesejado. Carvalho (1987) verificaram que na parte aérea (terço superior da planta) ocorreu; i) a concentração de fenólicos variou em média entre 6,2 a 7,5 mg/kg para culturas com 11 a 12 meses; ii) pico de concentração em média de 11,0 mg/kg para culturas com 15 meses; iii) coincidência entre a menor concentração de fenólicos e maior concentração de proteínas para colheita de plantas de mandioca com 11 a 12 meses após plantio, o que favorece o objetivo de utilização da parte aérea como alimento.

As proteínas da parte aérea da mandioca apresentam deficiências em alguns aminoácidos sulfurados, principalmente metionina (DANTAS-BARROS, 1984) o que caracteriza proteína com baixo valor nutricional. A fenilalanina seria o segundo aminoácido limitante na folha de mandioca.

Os compostos fenólicos afetam a cor, a aparência e a qualidade nutricional. Podem ser classificados em três grupos básicos: ácidos fenólicos, flavonóides e taninos.

Efeitos supostos ocorreriam no caso de suplementar à massa ralada de raízes ainda umedecida, com quantidade de folha de mandioca pulverizada e homogeneizando a mistura antes de sua cocção no forno.

Conclui-se que o processo de cocção em operação normal deste tipo de forno produz modificações favoráveis e desejáveis que fossem em relação às modificações por adição de folhas trituradas à massa.

A farinha de mandioca possui um teor de fibras celulósicas que as tornam interessante como alimento funcional. Correa (2000) verificou que as fibras alimentares influenciam o volume e o peso da excreção fecal, o tempo de trânsito intestinal, a taxa de esvaziamento do estômago e a frequência de defecção. Ao lado destes efeitos considerados desejáveis, as fibras reduzem a digestibilidade das proteínas e afetam a absorção de minerais.

As pesquisas sempre evidenciaram a presença de proteínas nas folhas da mandioca, mas não observou nenhum trabalho sobre o produto quando aquele material é adicionado antes do processo de cocção. Os compostos fenólicos são sensíveis à temperatura e supõe-se que irão degradar-se parcialmente nas condições (umidade, tempo de cocção, concentração de fibras, ácido orgânicos, e outros) a que a farinha de mandioca é submetida nos fornos abertos que fica em torno de 200°C. O processo de fabricação da farinha poderá afetar positivamente ao provocar a redução dos compostos antinutricionais e desnaturando proteínas aumentando sua digestibilidade.

Folhas de mandioca desidratadas são utilizadas na composição de “multimistura” que é um conhecido complemento alimentar utilizado pela ONG Pastoral da Criança - CNBB onde participa com 3% em peso seco (BAHR, 1998). As folhas são selecionadas, postas a secar por 5 dias à temperatura ambiente, trituradas até vazamento em peneira com abertura de 0,8 mm e nessa forma são acrescentadas aos outros ingredientes e utilizado por adição aos outros alimentos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar produção e utilização de farinha de mandioca comum enriquecida com adição das próprias folhas desidratadas para consumo alimentar, utilizando cobaios como modelo experimental.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da Mandioca

Originária da América do Sul, a mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) constitui um dos principais alimentos energéticos para cerca de 500 milhões de pessoas, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde é cultivada em pequenas áreas com baixo nível tecnológico (BOKANGA, 1994).

A produção brasileira de mandioca está estagnada em um nível que varia de 22 a 25 milhões de toneladas desde 1985. A área plantada é um pouco inferior a 2 milhões de hectares. As estatísticas disponíveis indicam ser o Brasil o segundo maior produtor mundial, cabendo o primeiro posto à Nigéria, com cerca de 30,9 milhões de toneladas (DEL BIANCHI, 1998).

Mais de 80 países produzem mandioca, sendo que o Brasil participa com mais de 15% da produção mundial. De fácil adaptação, a mandioca é cultivada em todos os estados brasileiros, situando-se entre os nove primeiros produtos agrícolas do País, em termos de área cultivada, e o sexto em valor de produção (CEREDA, 2001).

Segundo Cereda (2001), a mandioca é cultura amplamente difundida por todo território nacional. Sua utilização, entretanto, é feita em duas opções sendo, uma direta, o consumo culinário ou de “mesa”; outra, o industrial pelo qual se processa a farinha de mandioca.

2.1.1 Composição da mandioca

Dentre as variadas composições de raízes, os valores encontrados para carboidratos nelas presentes e quantidades desse tipo de nutriente que a compõem são similares, apresentando valores bem próximos especificamente.

Deste modo, Oke (1968) citado por Cereda (2001) especifica a composição das raízes de mandioca (Tabela 1),

Tabela 1 Composição da raiz da mandioca.

Componentes da raiz	(%)	Componentes da raiz	(%)
Umidade	71,50	(matéria seca)	mg/Kg
Matéria Seca		Manganês	12,00
Proteína Bruta	0,43	Ferro	18,00
Carboidrato	94,10	Cobre	8,40
Cinzas	2,40	Boro	3,30
Minerais das cinzas g/Kg	7,20	Zinco	24,00
Nitrogênio	0,84	Molibdênio	0,90
Fósforo	0,15	Alumínio	19,00
Potássio	1,38	Outros	-
Cálcio	0,13	Oxalato	0,32
Magnésio	0,04	HCN (mg/100g)	38,00
Sódio	56,00	Ácido fitico	76,00

Fonte: Oke (1968), citado por Cereda (2001).

A mandioca é uma das mais importantes fontes de carboidratos para os consumidores de renda mais baixa em países tropicais da América Latina (CEREDA, 2001).

Bokanga (1994) afirma que a mandioca é uma fonte energética importante para milhões de pessoas e animais nos trópicos, podendo ser utilizadas as raízes e folhas, estas, como fonte de vitaminas, proteínas e minerais.

Cock (1998) acresce ainda que, o teor de amido nas variedades encontradas pode ser maior ou menor à medida que fatores como época de plantio, época da colheita, idade da planta, temperatura, altitude e metodologia empregada nas análises químicas efetuadas podem interferir em sua composição.

2.1.2 Processamento de farinha de mandioca

A produção da parte aérea depende do cultivar, da região e estima-se uma quantidade de 1,0 kg deste material por planta para cultivar IAC 576-70 com 12 meses de idade cultivado na região sudeste de SP com umidade em torno de 65% o que permite estimar algo em torno de 5,6 t de matéria seca por hectare e utilizando o valor observado por Carvalho et al. (1993a) de 21,88% de proteína, obtém-se 1.225 kg de proteína/há (LORENZI, 2003).

Ortega Flores (1998) verificou em aminogramas realizados que a folha da mandioca não apresenta deficiência em nenhum dos aminoácidos essenciais estipulados pela FAO/WHO/UNU (1985) para pré-escolares de 2 a 5 anos.

A tecnologia de fabricação da farinha é simples, mas exige alguns cuidados no seu desenvolvimento. A seleção da matéria-prima adequada, a higiene e os cuidados durante todo o processo de fabricação, são fatores fundamentais para garantir um produto de qualidade. O rendimento médio é de 25 a 30%, dependendo da variedade de mandioca e da eficiência dos equipamentos utilizados (CARVALHO, 1991).

Para a fabricação da farinha de qualidade, o produtor precisa observar os procedimentos recomendados para o processamento de alimentos: localização adequada da

unidade de processamento, utilização de medidas rigorosas de higiene dos trabalhadores na atividade; limpeza diária das instalações e equipamentos; matéria prima de boa qualidade; tecnologia de processamento, embalagem e armazenagem adequada (CEREDA, 2001).

Segundo Vieira (2002) as raízes são lavadas com água potável e descascadas em um único aparelho, denominado descascador ou lavador. Trata-se de um cilindro aberto nas duas extremidades, cujas paredes laterais são feitas de ripa de madeira, deixando frestas de uns dois centímetros ou chapas perfuradas, e no seu interior existe um eixo provido de pás helicoidais capazes de movimentar as raízes. O conjunto possui normalmente quatro a cinco metros de comprimento e cerca de um metro de diâmetro, sendo montado em posição inclinada. O lavador é provido de esguichos de água que, juntamente com o atrito entre as pás e as paredes, limpam e descascam parcialmente as raízes. A complementação da limpeza é feita manualmente.

Assim preparada, a mandioca passa à trituração onde a massa obtida é levada à prensa (que pode ser hidráulica, mecânica ou manual). O objetivo desta operação é a máxima redução de umidade na massa. A massa da prensa é passada por uma peneira para desintegração das partes e uniformização do tamanho dos grânulos de farinha, à medida que for definido (CEREDA, 2001).

2.2 Folhas de mandioca como fonte de micro e macronutrientes

As deficiências energéticas e protéicas constituem grave problema para alimentação humana em muitas partes do mundo. No Brasil, algumas regiões consomem a farinha de mandioca como base alimentar e como consequência as dietas caracterizam-se por um desequilíbrio do nitrogênio decorrente da alimentação deficiente em proteínas e excessiva em carboidratos, o que justifica a utilização da planta integral incluindo as folhas para complementar os produtos obtidos a partir das raízes (CARVALHO, 1991).

O emprego das alternativas alimentares no Brasil iniciou-se como aproveitamento integral dos alimentos, visando combater a fome e minimizar as deficiências nutricionais a

partir de subprodutos alimentares. Com o decorrer do tempo, este trabalho difundiu-se em todo o Brasil, mobilizando um grande número de profissionais, organizações governamentais e não governamentais (BRANDÃO, 1988, BRANDÃO, 1989, BRANDÃO, et al, 1997).

No Brasil as folhas de mandioca são consideradas como resíduos, pois apenas na região norte é consumido como hortaliças, como a maniçoba onde as folhas são fervidas em água por alguns dias e em seguida temperadas a gosto. Na região sul-sudeste as folhas caem durante a estação seca e fria, com grande desperdício. A proposta de sua utilização na forma desidratada não é uma tradição no consumo humano (CEREDA, 2001). As folhas de mandioca também são utilizadas na alimentação humana em alguns países na África (GIDAMIS, et al. 1993).

Segundo Almeida et al. (1991) a utilização da parte aérea da mandioca na alimentação animal se justifica como aproveitamento do resíduo devido ao seu valor protéico. O alto teor de fibra na parte aérea pode ser responsável pela baixa digestibilidade da proteína da folha e pela redução do consumo da mesma pelos animais. Carvalho et al. (1985) observaram que no período em que a planta de mandioca apresenta maiores concentrações de proteína, o teor de fibra se apresenta na faixa de 21,86 a 26,66% nas folhas.

A farinha de folhas de mandioca (FFM) permite concentrar a fração protéica, mas conduz a outros problemas, como perda de vitaminas, a retenção do cianeto e a manutenção dos fenólicos (ORTEGA, F., 1995). A proteína das folhas, assim como da planta toda é deficiente em aminoácidos sulfurados, mas apresentam nessa composição teores consideráveis de carotenos e vitamina C, que enquanto parte da vitamina A se conserva, a vitamina C é perdida durante o processamento. Sabe-se também que as folhas contêm elevados teores de minerais (cálcio, potássio e ferro). Atualmente, o pó de folhas de mandioca vem sendo utilizado como ingrediente de “multimisturas” (MM) ou adicionado à refeição (“uma pitada de três dedos”) no combate a desnutrição de crianças, sendo acrescentadas à merenda escolar ou incluídas as cestas básicas para famílias carentes em várias regiões (BRANDÃO & BRANDÃO, 1989; ALTERNATIVAS, 1994).

Dentre os ingredientes que constituem a MM, destacando-se o pó de folha de mandioca produzido a partir das folhas extraídas que em um segundo momento, são desperdiçadas, sem nenhum aproveitamento que possa dispor benefícios para populações carentes (CORRÊA, 2000).

Bicudo et al. (1996) analisaram a recuperação ponderal e o coeficiente alimentar em ratos desnutridos quando alimentados com dietas contendo MM, fubá, farinha de trigo, farelo de trigo, casca de ovo e folha seca de mandioca. No entanto, sabe-se que são antigos os estudos e recomendações para o aproveitamento da parte aérea da planta da mandioca (hastes, ramos e folhas), na alimentação animal, porém pouco estudada como alimento humano (PECHNIK et al., 1962; VITTI et al., 1971), embora ela já seja usada, em diversos países da África com este propósito.

Brandão (1996) consideravam a composição química da folha de mandioca e da multimistura bastante favorável para o uso na alimentação humana. Todavia, até esta data não se apresentam pesquisas em relação aos benefícios e malefícios da FFM (farinha de folhas de mandioca) comprovando-se através de experimentos biológicos em roedores.

2.2.1 A Proteína da folha da mandioca

A planta da mandioca pode produzir grande quantidade de folhas que representam uma rica fonte de proteínas, vitaminas e minerais. A literatura confirma que o conteúdo de proteína bruta varia de 15 a 70% da massa seca. Segundo Carvalho (1987) a variabilidade dos teores de proteína das folhas é provavelmente devido ao estágio de maturidade da planta, uso diferente de cultivares, processos de amostragem, fertilidade do solo e variações climáticas, sendo que a proteína de folha de mandioca é deficiente em metionina e cisteína, porém ricos em lisina. A composição química da parte aérea da mandioca sofre variações acentuadas com a idade das plantas e depende também do grau de enfolhamento. O terço superior da folhagem da mandioca deve ser colhido no décimo sexto mês para apresentar menor conteúdo de fenólicos e teores mais elevados de proteínas. Na literatura, tem sido

questionada nos últimos anos a biodisponibilidade e/ou bioversão dos carotenóides em vitamina A ativa.

Estudos têm demonstrado que em folhas verdes, o B-caroteno se encontra menos disponível que em óleos, frutas ou suplementos alimentícios. Vegetais de folhas verdes são fontes pobres de vitamina A, comparados aos outros alimentos, principalmente para pessoas desnutridas que apresentam dificuldades em transformar carotenóides em vitamina A.

Os relatos de literatura não estabelecem índices de boa digestibilidade para folhas de mandioca. Para Ravindran et al. (1983) os valores de digestibilidade de proteína de folha de mandioca variaram de 60% a 63% em alimentação de aves de porcos. Essa baixa digestibilidade deve-se principalmente a presença de fibras (OKE, 1978).

Além destas, os compostos fenólicos podem afetar o aproveitamento da proteína e diminuir a disponibilidade de aminoácidos. Os compostos fenólicos podem interagir com o grupo epon-amino da lisina, reduzindo a disponibilidade desse aminoácido essencial. A metionina é também conhecida por ser influenciada negativamente pelos compostos fenólicos, o que agrava a deficiência de aminoácidos sulfurados (GOLDSTEIN, 1967).

2.2.2 Processos e Aplicações das Proteínas Vegetais

Do ponto de vista funcional, as proteínas das folhas, a exemplo de outras proteínas globulares, não apresentam características muito marcantes na configuração nativa. As modificações químicas, com introdução ou eliminação de grupos carregados, hidrólise ácida ou polimerização por reativos bifuncionais, modificações físicas com tratamento térmico por aquecimento, por extrusão ou ainda enzimáticas, com hidrólise ou polimerização por ligação covalente, permitem obter produtos diversos, com propriedades específicas e de maior valor agregado (DANTAS-BARROS, 1984).

2.2.3 Processos de extração de proteínas de folhas de mandioca

Uma tecnologia simples e artesanal não deve ser aplicada sem que haja certeza da obtenção de produto são e seguro do ponto de vista nutricional. Entre as folhas de vegetais, a da mandioca é uma daquelas com tecnologia viável a todos para produção de farinha.

A desidratação elimina parte dos fatores antinutricionais, possibilitando a extração das proteínas. O processo básico de fracionamento é comum a todos os tipos de produção e envolve a moagem das folhas no moinho de facas (CORRÊA, 2000).

2.3 Utilização da folha da mandioca em alimentação humana

Além da extração de proteínas existe a possibilidade de preparar as folhas para alimentação humana, apesar dos fatores antinutricionais identificados pela pesquisa. No Brasil, não há uma tradição de consumo de folhas de mandioca como hortaliça, o que é comum na África. Uma exceção é a maniçoba, prato típico da região amazônica do Brasil à base de folha de mandioca. Além da maniçoba, existe no Brasil a tentativa de introduzir farinha de folhas de mandioca como suplemento alimentar, neste caso, a secagem das folhas deve ser realizada na sombra para diminuir ao máximo o teor de cianeto.

A idéia proposta no final da década de 1970 foi desenvolver tecnologias simplificadas estimulando a maximização dos recursos regionais e neste contexto, a multimistura (MM), surgiu como resultado destas pesquisas, sendo considerada um complemento alimentar e caracterizada como uma farinha elaborada a partir de folhas verdes escuras (mandioca, taioba, batata doce, cenoura e espinafre), bem como de sementes de abóbora, melancia, melão, gergelim, pó de casca de ovo, farelos de trigo e arroz, a depender da disponibilidade de matéria prima local (BRANDÃO, 1988).

A utilização da multimistura vem sendo sistematicamente debatida em foros científicos, institucionais e informais, no que se refere a sua relevância e propriedades nutricionais, fatores tóxicos e antinutricionais (CFN, 1996, CFN, 2002). Neste sentido, as Universidades brasileiras preocupadas com o assunto, desenvolveram estudos, sobre a

composição centesimal, mineral, qualidade microbiológica e fatores antinutricionais, verificando-se que as multimisturas analisadas apresentam composição centesimal diferenciada, devido provavelmente à diversidade de subprodutos alimentares utilizados na sua formulação (MORGANO, ET AL, 1995, CÂMARA, 1996 BION, ET AL, 1997, CARVALHO, ET AL, 1998, AZEREDO, ET AL, 2000, FURTUNATO, ET AL, 2002).

Por outro lado, os fatores que influenciam na biodisponibilidade de nutrientes são denominados fatores antinutricionais, aqueles constituídos por substâncias que, de alguma forma, provocam a indisponibilidade de nutrientes essenciais, ou que atuam no organismo, alterando a digestão, absorção e o metabolismo. Dentre estes, encontra-se os fitatos e oxalatos (SGARBIERI, 1987, ANGELIS, 1999).

Diante a toda polêmica sobre o assunto, o Conselho Federal de Nutricionistas, face à precariedade de informações científicas disponíveis, bem como pela ausência de uma Legislação específica de padrões de qualidade de seus componentes, se posiciona contrária ao uso da multimistura, alertando para os riscos que poderão advir de sua utilização (CFN, 1996, CFN, 2002).

Da mesma forma, a Sociedade Brasileira de Pediatria considera prematura a utilização da multimistura em programas de alimentação infantil e especialmente em programas emergenciais de combate à fome (TORIN, et al, 1995).

No Brasil, poucos temas têm gerado tantas controvérsias nos últimos anos como a hipótese da associação entre a alimentação alternativa e a recuperação da desnutrição energético-protéica, anemia nutricional e hipovitaminoses entre crianças (FARFAN, ET AL, 1994, BRANDÃO, 1997, FARFAN, 1998, CFN. 2002). O emprego das alternativas alimentares no Brasil iniciou-se como aproveitamento integral dos alimentos, visando combater a fome e minimizar as deficiências nutricionais a partir de subprodutos alimentares.

Com o decorrer do tempo, este trabalho difundiu-se em todo o Brasil, mobilizando um grande número de profissionais, organizações governamentais e não governamentais (BRANDÃO, 1988, BRANDÃO, 1989, BRANDÃO, ET AL, 1997). De acordo com Brandão (1997), a proposta da alimentação alternativa se caracteriza pela introdução na

dieta do povo brasileiro de alimentos ricos em proteínas, vitaminas e sais minerais, que fossem acessível a toda população. Entre estes alimentos encontram-se folhas verdes em geral, inclusive folhas de mandioca.

O fundamento da utilização dos alimentos alternativos se baseia no aproveitamento das partes não comestíveis dos alimentos, evitando desperdícios; resgate de hábitos alimentares tradicionais que estão sendo perdidos pelos processos de migração e urbanização e no enriquecimento da dieta habitual com fibras, proteínas, minerais e vitaminas provenientes de alimentos de baixo custo, tais como folhas verdes escuras desidratadas, entre outros. O uso da multimistura e de seus componentes isoladamente não são recomendados por alguns pesquisadores, dentre eles, (FARFAN ET AL, 1994, RIBEIRO, ET AL, 1995, ASSIS, ET AL, 1996, COSTA, ET AL, 1996, BION, ET AL, 1997, AZEREDO, 1999), nem pelo Conselho Federal de Nutricionistas que alerta quanto à inexistência de estudos que comprovem todos os benefícios aludidos, além de afirmarem que o valor nutritivo de qualquer alimento não pode ser estabelecido unicamente com base na quantidade de nutrientes, uma vez que sua qualidade nutricional é determinada por uma série de fatores, tais como o equilíbrio entre seus constituintes, as interações entre os diversos compostos da dieta, o estado fisiológico do indivíduo e a ocorrência de fatores antinutricionais (CFN, 1996, CFN, 2002).

No início da década de noventa, houve a mobilização da comunidade científica na tentativa de avaliar a verdadeira eficácia da multimistura, ocasião em que várias entidades governamentais da área da saúde, instituições de pesquisa e ensino superior, divulgaram resultados de pesquisas básicas e experimentais que demonstravam a fragilidade dos argumentos utilizados em favor de supostos benefícios à saúde humana. Estes estudos podem ser resumidos nos seguintes pontos, conforme relatos do Conselho Federal de Nutricionistas (CFN, 1996, CFN, 2002). “A multimistura é apenas uma farinha elaborada a partir de subprodutos alimentares que contém características químicas muito próximas, senão similares, a outros farelos e cereais. A quantidade de multimistura utilizada na alimentação é muito pequena e pouco contribui para a melhoria da qualidade nutricional da dieta, apesar do conteúdo nutricional de cada um de seus componentes”.

Além disso, a presença de fatores antinutricionais como o ácido fítico, encontrado nos farelos, prejudica a biodisponibilidade de minerais como o zinco, o cálcio, o ferro e o magnésio, presentes na dieta habitual. A concentração de ácido cianídrico é mais elevada nas folhas da mandioca do que na raiz da mandioca e há formas de reduzir de maneira significativa o teor dessas substâncias, envolvendo algumas técnicas. É importante ressaltar ainda, que as características dos componentes da multimistura variam de acordo com a região em que são produzidos, sofrendo influência do clima, das estações do ano e do tipo de solo, bem como, com o processamento a que são submetidos, além de ser possível a contaminação por microrganismos e substâncias tóxicas, haja visto que este tipo de alimento não é submetido a alta temperatura, sendo servido na forma crua, que podem alterar a composição dos seus nutrientes e causar danos à saúde. No entanto, as farinhas de folhas são formuladas com ingredientes disponíveis regionalmente, de baixo custo, na medida em que se discute o aproveitamento de alimentos que são costumeiramente desperdiçados ou jogados fora (CARVALHO, 1987).

2.3.1 Legislação vigente

Ao longo desses anos, o assunto continuou gerando polêmicas, tanto do ponto de vista nutricional, sanitário e microbiológico, quanto do ponto de vista da segurança alimentar, provocando a mobilização de diversas instituições governamentais, entidades científicas e instituições de ensino superior através dos seus departamentos e centros de pesquisas, com o objetivo de alertar as entidades governamentais sobre a necessidade de se posicionar em relação ao tema, cujos subsídios foram encaminhados ao Ministério da Saúde.

Dentre as repercussões desse trabalho, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) publicou a Resolução nº. 53, de 15 de junho de 2000, no Diário Oficial da União de 19/06/2000, que fixa a identidade e as características mínimas de qualidade para a “mistura a base de cereais”, abrangendo sua composição obrigatória e opcional (Brasil, 2000).

Dessa forma a utilização da farinha de folha de mandioca (pó da folha), está na relação de ingredientes obrigatórios, numa proporção de 30% (g/100g), especificamente para o consumo humano, de acordo com a legislação específica. A avaliação da identidade e qualidade da multimistura deverá ser realizada de acordo com os planos de amostragem e métodos de análise adotados e recomendados pela Association of Analytical Chemists (AOAC), pela Organização Internacional de Normatização (ISO), pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL), pelo Food Chemicals Codex (FCC) e pela American Public Health Association (APHA).

2.4 Biodisponibilidade de nutrientes e fatores antinutricionais

2.4.1 Biodisponibilidade

O conceito de biodisponibilidade surgiu da observação de que muitos nutrientes ingeridos, não são totalmente aproveitados pelo organismo, sendo definida como a proporção ou fração do nutriente no alimento que é absorvida e utilizada para manutenção das funções fisiológicas (CHERYAN, 1980, FAIRWEATHER-TAIT, 1992, AIRWEATHER-TAIT, 1996, ANGELIS, 1999).

A importância da determinação da biodisponibilidade de minerais em dietas está centrada no estabelecimento das recomendações de ingestão destes elementos em função das necessidades dos indivíduos (COZZOLINO, 1997). Os fatores que influenciam na biodisponibilidade dos nutrientes, são denominados, fatores antinutricionais e são constituídos por substâncias que provocam a indisponibilidade de nutrientes essenciais ou que atuam no organismo, alterando a digestão, absorção e o metabolismo. Dentre estas, encontram-se os fitatos, oxalatos, fibras, dentre outros (SGARBIERI, 1987, ODUMODU, 1992, WHO, 1998).

2.4.2 Fatores Antinutricionais

A mandioca se constitui em um alimento fundamental para aproximadamente 800 milhões de pessoas de zonas tropicais em várias partes do mundo, sendo uma das principais fontes de energia na alimentação humana. As suas raízes têm um reduzido teor de proteínas e vitaminas, constituindo-se quase que exclusivamente de carboidratos (MOLINA, 1989, CÂMARA, 1996).

Dessa forma, a proposta da alimentação alternativa inclui o aumento do consumo da vitamina A e ferro, além da proteína, a partir do consumo de folhas verde-escuras, tal como as folhas de mandioca. No entanto, o valor nutricional dos alimentos depende basicamente de seu conteúdo em nutrientes e da sua disponibilidade biológica. Depende ainda da presença e dos níveis de substâncias tóxicas e/ou antinutricionais, as quais podem alterar essa composição ou tornar indisponíveis esses nutrientes (PEZZATO, 1995).

O termo antinutricional implica em substância com capacidade de alterar as possibilidades de aproveitamento dos nutrientes contidos nos alimentos, os tornando indisponíveis ao organismo. Os fatores antinutricionais classificam-se endógenos ou exógenos, sendo que os primeiros estão relacionados com substâncias tóxicas ou antinutricionais de ocorrência natural nos ingredientes, enquanto os exógenos referem-se aos contaminantes químicos ou biológicos ocasionados num determinado produto (agrotóxicos, toxinas, fungos, entre outros) (CORRÊA, 2000).

Segundo Liener (1980) e INPA (1996) os mais freqüentes citados na literatura destacam-se os glicosídeos (goitrogenos, cianogenos, saponinas), os fenóis (gossipol e taninos), inibidores das proteases, antiminerais, antivitaminicos, alergênicos, carcinógenos entre outros.

Chubb (1982) com base nos nutrientes que afetam e no tipo de ação e resposta produzida nos animais classificou esses fatores antinutricionais endógenos em três grandes grupos:

- a) Substâncias que prejudicam a digestibilidade ou a utilização metabólica das proteínas (inibidores de enzimas digestivas, lectinas ou hemaglutininas, saponinas e compostos fenólicos);
- b) Substâncias que reduzem a solubilidade ou interferem na utilização de minerais (ácido fítico, ácido oxálico, glicosinatos e gossipol);
- c) Substâncias que inativam ou aumentam as necessidades de algumas vitaminas (antivitamínicos A, D, E e K, tiamina, ácido nicotínico, piridoxina, cianocobalamina).

Nas condições brasileiras, a procura por alimentos não convencionais tem encontrado na mandioca uma alternativa para substituir cereais tradicionais, sendo a parte aérea uma opção para a oferta de proteínas foliares a baixo custo, podendo chegar à produção anual de 19 toneladas de folhas por ha/ano (MONTALDO, 1977).

A farinha de folhas de mandioca (FFM) é constituída por talos primários, secundários e folhas em proporções variáveis segundo a idade da planta, fertilidade do solo e meio ambiente (GOMEZ et al., 1984), apresentando um bom teor de vitaminas (A, B1, B2, ácido ascórbico), minerais (cálcio, ferro, manganês, fósforo, potássio, zinco) e proteínas (MONTALDO, 1994). Ademais, outros autores quantificam vários nutrientes, como teor de proteína bruta da FFM que varia de 22 a 32%; fibra bruta de 15 a 20%; cinzas, 2 a 12% (BUIRAGO, 1978). Além de 70.000 UI de vitamina A, 0,46 mg de vitamina B1, 0,91 mg de vitamina B2, 5,70 mg de niacina e 980,00 mg de ácido ascórbico (TERRA, 1964).

Na Europa, nos últimos anos, tem aumentado bastante o interesse por pesquisas com novas fontes de alimentação visando ao aproveitamento de nutrientes fibrosos das rações com utilização de potencializadores da digestão para superar os fatores antinutricionais. As enzimas aumentam a digestibilidade e eficiência dos alimentos, reduzindo a ação de inibidores de crescimento presentes na dieta e diminuindo os custos de produção (PENZ JR., 1996).

A qualidade nutricional da proteína varia conforme sua origem. As proteínas de origem vegetal são de baixo valor biológico, principalmente porque são deficientes em alguns aminoácidos essenciais ou sua relação entre eles é desequilibrada. Na luta contra a falta de proteínas, vários autores exaltam a importância do aproveitamento das folhas na

alimentação humana, frisando as possibilidades que essa matéria-prima, praticamente desperdiçada, pode oferecer como fonte protéica (CORRÊA, 2000).

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. A fibra alimentar é um dos constituintes que sobressaem no valor nutritivo da multimistura, no entanto, sabe-se que a fibra interfere na utilização de minerais, pois no complexo molecular da mesma, algumas substâncias podem agir como agentes quelantes de minerais. Apesar das fibras serem resistentes à hidrólise das enzimas digestivas, a microbiota do intestino grosso é capaz de fermentar parcialmente seus constituintes, resultando em produtos que podem alterar o metabolismo da flora intestinal, alguns metabólitos do intestino grosso e principalmente a absorção de ácidos graxos de cadeia curta, contribuindo assim para elevar o metabolismo energético (SGARBIERI, 1996).

Durigan (1995) destaca que é difícil o estudo específico dos fatores antinutricionais que se apresentam nos alimentos. Segundo esse autor, muitas pesquisas são necessárias, cujo grau de dificuldade é exacerbado por encontrarem-se diferentes substâncias num mesmo ingrediente.

2.4.3 Glicosídeos Cianogênicos

As folhas de mandioca frescas contêm glicosídeos cianogênicos, linamarina e lotaustralina que, ao sofrerem hidrólise, liberam ácido cianídrico, tóxico aos seres humanos. Essa liberação é acarretada 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 beta glicosidase no trato digestivo de animais. Uma característica química muito importante dos glicosídeos é a facilidade com que se hidrolisam. Através desse tipo de reação libera-se o açúcar e a cianidrina. Essa por sua vez, degrada-se originando o ácido cianídrico que é o responsável pela toxicidade do composto (WHO, 1993, ESSERS, 1994).

O conteúdo do ácido cianídrico na planta de mandioca varia de uma espécie para outra, devido principalmente a fatores genéticos, ecológicos e fisiológicos (VITTI, ET AL, 1972, MOLINA, 1989, ESSERS, 1994). A dose letal de ácido cianídrico para o homem oscila entre 0,5–3,5 mg/kg (O'BRIEN, ET AL, 1991, FENNEMA, 1993, WHO, 1993). Uma característica química muito importante dos glicosídeos é a facilidade com que se hidrolisam. Duas enzimas estão envolvidas no processo de liberação do ácido cianídricas, e ambas estão presentes no tecido vegetal contendo o cianogênico. A β -glicosidase: que hidrolisa a molécula do cianogênico para cianidrina e açúcar, e a Hidroxinitrilase, que promove a dissociação em acetona e ácido cianídrico. Esta reação ocorre quando o tecido vegetal é triturado, como no processamento ou na ingestão, permitindo o contato entre o substrato e a enzima (MIDIO, et al, 2000).

Entretanto, as folhas da mandioca apresentam um bom aporte protéico, mas haja visto que seu consumo está limitado pela presença desses fatores tóxicos como identifica-se glicosídeos cianogênicos. Dessa forma é possível fazer uso dessas proteínas, se o material foliar for submetido a processos tecnológicos apropriados que permitam eliminar consideravelmente os agentes tóxicos (CARVALHO, 1981, MOLINA, 1989).

Animais podem detoxificar 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 (EKPECHI ET AL., 1966).

Gómez & 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 e concluíram que secagem ao sol reduziu mais o teor de cianeto quando comparado com a que ficou exposta a 60°C. Observaram inclusive que a maior parte do cianeto presente na folhagem seca ao sol era constituída por cianeto livre (62 a 77%), ao passo que na folhagem seca a 60°C havia apenas 24 a 36%.

Além da mandioca, diversos vegetais são cianogênicos em seu metabolismo, como aveia, *feijão e vagem*. Outras plantas, cujo potencial cianogênico é comprovado, porém não identificados, são cana-de-açúcar, arroz, amendoim e manga (JONES, 1997).

A Organização Mundial da Saúde limitou em 5 mg/kg de peso vivo o teor de cianeto em raízes de mandioca fresca e seus produtos, baseando-se em compêndios médicos. Segundo o codex Alimentarius Commission, da FAO (1988), a margem de segurança estabelecida para equivalentes de HCN em produtos de mandioca é de 10mg HCN/kg de matéria fresca ou 300mg/Kg de matéria seca, o que equivaleria a uma ingestão de 5 mg ou 0,2 mmol por 24 horas. Esses dados conferem a uma dieta básica de 1500 kcal (ROSLING, 1994). Se assumirmos que 100 mg de cianeto, é a dose letal para o homem, então mais de 10 kg de mandioca *in natura* deveriam ser consumidos de uma só vez para produzir intoxicação.

De acordo com Hill (1977), somente 25% do glicosídeo ingerido é hidrolisado (e provavelmente cerca de 20% excretado sem alterações); então a quantidade para constituir a dose letal deve ser muito alta.

Oke (1980) acredita que, estritamente falando, o cianeto não constituiria um perigo para a população consumidora e seus subprodutos, pois sabendo dos princípios tóxicos, essas populações desenvolveram diferentes métodos de eliminação tais como fervura em água, secagem, fermentação, etc.

2.4.4 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias de ocorrência natural em plantas e compreendem um grupo diversificado onde as mais importantes estão no grupo dos ácidos caféico, firúlico, gálico e p-coumárico; flavonóides (antocianidinas, catequinas, flavonas e leucoantocianidinas), a lignina e os taninos e seus derivados (CORRÊA, 2000).

A presença de compostos fenólicos em plantas tem sido muito estudada por apresentarem atividades bioquímicas, farmacológicas, antinutricionais e, mais especificamente ação estrogênica e capacidade de inibir a oxidação e a proliferação de fungos (NAGEM et al. 1992) e também por participarem dos processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em diversos alimentos.

2.4.5 Ácido Fítico

Com o recente aumento do consumo de alimentos de origem vegetais ricos em fibras e proteínas, como folhas, a alimentação humana tem sido acrescida de componentes de ação antinutricional, naturalmente associados a estes alimentos, tal como o ácido fítico, que aparece em concentrações nos alimentos de origem vegetal, dependendo de uma série de fatores tais como: tipo de planta, parte ou órgão da planta utilizada, tipo de adubação e grau de maturação, variada de acordo com cada alimento, constituindo uma reserva de fosfato.

Cerca de 70% do fosfato está contido no ácido fítico integrado a proteínas e/ou minerais na forma de complexos e 75% do ácido fítico está associado a componentes da fibra solúvel presente, podendo interferir na utilização de diversos componentes nutritivos da alimentação, diminuindo a biodisponibilidade de certos nutrientes, como reservas bivalentes, amidos e proteínas, ou provocando efeitos fisiológicos adversos (CORRÊA, 2000).

O ácido fítico ou hexafosfato de mio-inositol ou IP6 é um ácido orgânico que contém fósforo ($C_6H_{18}O_{24}P_6$), componente natural constituindo de 1 a 5% do peso dos alimentos de origem vegetal e respondendo por 60 a 90% do fósforo total (CHERYAN, 1980, MAGA, 1982, GRAF, 1983, WHO, 1998). Esse ácido apresenta várias funções fisiológicas importantes para planta durante o seu ciclo vital, incluindo o armazenamento de fósforo e cátions que fornecem a matéria prima para a formação das paredes celulares.

A importância do ácido fítico do ponto de vista antinutricional, deve-se principalmente a sua capacidade de formar complexos com cálcio, ferro, zinco, cobre e magnésio no alimento “in natura” e no trato gastrintestinal, diminuindo assim a sua biodisponibilidade (CHERYAN, 1980, FORDES, 1984, SGARBIERI, 1987).

Neste sentido, o ácido fítico desenvolve duas ações antinutricionais: inibidor de protease e a outra por combinação com minerais, formando sais inabsorvíveis no trato intestinal (KANT, 1991).

A capacidade do ácido fítico, em condições naturais nos alimentos de associar-se a cátions ou proteínas deve-se a carga negativa da molécula. Em pH levemente ácido ou

neutro, os seis grupamentos fosfato da molécula de ácido fítico expõem suas doze cargas negativas, favorecendo a complexação direta ou indireta desta molécula com cátions bivalentes (Ca, Fé, Zn, Mg, Cu), e também com amido, proteínas e enzimas, podendo alterar a digestibilidade e absorção destes nutrientes (CORRÊA, 2000).

As proteínas em pH abaixo do ponto isoelétrico apresentam carga positiva, podendo associar-se diretamente ao ácido fítico através de ligações eletrostáticas, ou, quando carregadas negativamente, podem ligar-se indiretamente, mediadas por cátions multivalentes. Isto reduz a digestibilidade da proteína por tornar o complexo resistente à digestão proteolítica. Mesmo podendo apresentar efeitos nutricionais negativos ao homem, visto que os seres humanos têm capacidade limitada para hidrolisar essa molécula, estudo tem demonstrado efeito benéfico deste antinutriente como agente antioxidante, coadjuvante no tratamento de diabetes e portadores de uma possível ação anticarcinogênica (DANTAS-BARROS, 1984).

O conteúdo do ácido fítico pode ser significativamente reduzido por processos como maceração, germinação e fermentação. A eficiência da degradação é maior nos processos que favorecem a ativação da fitase, como a fermentação e o cozimento. Esta enzima hidrolisa o ácido fítico, produzindo inositóis com menor número de fosforilações penta-, tetra-, tri-, e di - e monofosfatos, os quais, com exceção do pentafofato, não atuam como quelante de nutrientes (SRIPAD et. al., 1987).

Quantidades excessivas de ácido fítico na dieta apresentam um efeito negativo no balanço mineral porque formam complexos insolúveis com minerais essenciais (Cu^{2+} , Zn^{2+} e Ca^{2+}) e conseqüentemente reduz a biodisponibilidade desses minerais (FORBES et al, 1984, SADBORG, 1986). Estudos mostram a relação adversa existente entre o ácido fítico e a absorção de zinco, cálcio, magnésio e ferro (CHERYAN, 1980, FROLICH, 1985, ZHOU, 1995). Além disso, atuam inibindo a pepsina, amilase e tripsina, interagindo com a proteína, e, ou, cátion, essenciais para sua atividade.

Embora o ácido fítico seja amplamente discutido pela sua capacidade de quelar minerais, tais como o cálcio, ferro e zinco, diminuindo a sua absorção, esse composto também vem sendo estudado por apresentar qualidades benéficas na prevenção de doenças

cardiovasculares, devido ao seu efeito hipocolesterolêmico e antioxidante (GRAF ET AL, 1990, AMBROSIO, 1995, LEE ET AL, 1995, HASLER, 1998).

Segundo Messina (1994), os fitatos também são importantes na prevenção do câncer de intestino grosso, devido a seu efeito quelante sobre o ferro, que parece inibir o processo carcinogênico. O ferro gera radicais livres, os quais estão associados ao desenvolvimento do câncer, porém, ao serem quelados pelos fitatos, inibem a produção destes radicais livres. O fitato atua dessa forma, como um antioxidante similar à vitamina C. Esse efeito antinutriente dos fitatos pode ser considerado como protetor (EMPSON, 1991).

De acordo com Brasil (2000), os valores máximos permitidos pelo Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à base de cereais, cujo limite máximo permitido para ácido fítico é de 0,1% .

2.4.5.1 Redução do conteúdo de Ácido Fítico nos Alimentos

A fitase foi uma das primeiras enzimas a serem descritas, tendo capacidade de liberar o fósforo inorgânico a partir de compostos contendo fósforo orgânico (MAGA, 1982). Níveis de fitatos são reduzidos durante certas operações de processamento de alimentos, inclusive em processos de cozimento. Durante o processamento de cereais e leguminosas, o conteúdo do ácido fítico é significativamente reduzido. Durante a fermentação ou imersão em água e durante a digestão gastrintestinal, os fitatos alimentares de origem vegetal ou microbiológica, em parte podem ser degradados pela diminuição do número de ligação fosfato, reduzindo, portanto, a capacidade de inibir a absorção intestinal (ANGELIS, 1999, JAYARAJAH, et al, 1997). A hidrólise do ácido fítico no trato gastrintestinal é efetuada pela ação das fitases (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase), a partir das fitases das plantas, fitases da flora bacteriana do intestino e fitases da mucosa intestinal. No entanto, segundo Zhou (1995), as fitases da mucosa intestinal, não parecem ter um papel significativo na digestão do ácido fítico em humanos, enquanto as fitases das plantas parecem ser um importante fator para a hidrólise do ácido fítico. Também tem sido demonstrado por vários estudos realizados em humanos que durante a passagem do fitato

pelo trato gastrointestinal ocorre sua hidrólise, transformando-se em inositol fosfato, perdendo assim o seu potencial em diminuir a absorção de minerais (CHERYAN, 1980, GRAF et al, 1990, ZHOU et al, 1995).

2.4.6 Ácido Oxálico

O ácido oxálico ou ácido etano dióico encontra-se presente em inúmeros alimentos de origem vegetal constituintes da dieta humana, sendo as maiores concentrações encontradas no espinafre, beterraba, taioba, cenoura, feijão, alface, amendoim, cacau e chá. Nestes alimentos, o ácido oxálico pode ser encontrado combinado com cátions, originando oxalatos solúveis, como os de potássio e de sódio, ou oxalatos insolúveis, principalmente os de cálcio (OKE, 1980, MASSEY, et al, 1993, PINTO, et al, 2001). A importância do ácido oxálico do ponto de vista nutricional é complexar-se com o cálcio, tornando-o indisponível para suas funções, tendo como principais conseqüências a hipocalcemia e o raquitismo (OKE, 1980, MASSEY, et al, 1993).

O oxalato de cálcio é o principal constituinte dos cálculos renais nos seres humanos. A restrição dietética da ingestão de oxalato tem sido usada como um tratamento para reduzir a incidência de cálculos nos pacientes. Em muitos alimentos não foram analisados e determinados os valores de oxalatos (MASSEY, et al, 1993). O fato dos oxalatos poderem se ligar ao cálcio, formando oxalato de cálcio insolúvel e também que esta ligação seja favorecida pelo pH intestinal, conduz à hipótese de que a ingestão de plantas contendo altas concentrações de oxalatos levaria a uma redução na absorção de cálcio, interferindo em seu metabolismo. Com isso, hipocalcemia e raquitismo poderiam ocorrer em caso de uma exposição crônica. Assim, os oxalatos seriam classificados como antinutrientes (BENDER, 1987, *apud*, MIDIO, et al, 2000).

O cozimento dos alimentos em água reduz em grande parte a quantidade de oxalatos solúveis, porém, os insolúveis praticamente permanecem no vegetal (MIDIO, et al, 2000). Aproximadamente 2 - 6% dos oxalatos presentes na dieta são absorvidos pelo trato

gastrintestinal, o restante é eliminado pelas fezes ou degradado pela microflora intestinal. Uma vez absorvidos, não são metabolizados pelos seres humanos e sim excretados através da urina num período de até 24 horas após a ingestão (FASSET, 1973, OKE, 1980).

Segundo o mesmo autor a ingestão de 5 gramas ou mais de ácido oxálico puro como produto químico, produz úlcera no estômago e intestino, hemorragia gástrica, cólica renal e algumas vezes convulsões. Do ponto de vista toxicológico, quando ingerido em excesso causa intoxicações (MIDIO, et al, 2000). Sant`ana et al (2000) determinaram o teor de ácido oxálico em farelo de arroz, farelo de trigo e folhas de mandioca desidratadas e sementes de gergelim, encontrando os seguintes resultados em g/100g: farelo de arroz, $0,099 \pm 0,015$ %, farelo de trigo, $0,155 \pm 0,016$ %, folha de mandioca, $0,579 \pm 0,010$ % e semente de gergelim $0,667 \pm 0,072$ %. Foram observados pelo mesmo autor, que a folha de mandioca e a semente de gergelim foram os alimentos que apresentaram maiores teores de ácido oxálico. Por outro lado, Pinto, et al, 2001, fizeram uma avaliação do teor de ácido oxálico em folhas de taioba, utilizado para consumo humano. Os valores encontrados para o ácido oxálico na matéria seca foram de 62,44 mg/100g, inferiores aos atribuídos ao espinafre, 822 mg/100g, chá preto, 690 mg/100g (FRANCO, 1992).

De acordo com Carvalho (2001) em avaliação realizada com folhas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* SCHOOT) em relação aos fatores antinutricionais, os teores de ácido oxálico encontrado são inferiores ao do espinafre, hortaliça rica em ácido oxálico e muito utilizado em alimentos infantil, apresentando assim fatores antinutricionais e/ou tóxicos em níveis aceitáveis ao consumo. Não foram encontrados trabalhos na literatura visando à determinação de ácido oxálico na multimistura. O trabalho encontrado refere-se a um estudo da avaliação de fatores antinutricionais das folhas de taioba e dentre estes fatores, o ácido oxálico.

2.4.7 Taninos

Os taninos são compostos fenólicos originados nas plantas e seus níveis totais podem se apresentar variáveis numa mesma espécie. Contém grupos alifáticos e hidroxifenólicos e ocasionalmente grupos carboxílicos (ANGELIS, 2006).

Conforme Mueller Harvey e McCallan (1992) e Warreham et al (1994), o termo tanino implica em qualquer substância fenólica de peso molecular entre 500,00 e 4000,00 g/mol. Os taninos hidrolisáveis e os condensados têm a capacidade de se combinar com proteínas e outros polímeros (celulose, hemicelulose e pectinas) para formar complexos estáveis. Afirmam inclusive que os taninos hidrolisáveis são poliésteres de ácido gálico e seus derivados, os quais são facilmente hidrolisáveis por ácidos. Entre esses, pode-se citar o ácido tânico que tem como resultado de sua hidrólise, glicose (1,00 mol) e ácido gálico (8,00-10,00 mol), enquanto que outros taninos podem ter ácido digálico substituindo o gálico e o ácido quínico substituindo a glicose. Os hidrolisáveis são importantes para algumas espécies de plantas, mas não parecem estar presentes nos cereais ou leguminosas.

Os taninos condensados são os flavonóides, polímeros de catequinas com peso molecular maior que 1000,00 g/mol. A ligação entre os monômeros é tipicamente feita entre carbono-carbono, relativamente estável quando comparadas com as ligações dos ésteres dos taninos hidrolisáveis e produzem a esses a responsabilidade pela inibição de algumas enzimas do sistema digestório, diminuindo a absorção de nutrientes através da parede celular (FIALHO E PINTO, 1992).

Os taninos formam complexos com as proteínas, enzimas digestivas e outros substratos afetando a digestão dos nutrientes dos alimentos (MUELLER_HARVEY E MCALLAN, 1992). Em termos gerais as ligações entre taninos e proteínas são feitas por ponte de hidrogênio entre grupos hidroxifenóis dos taninos e grupos carbonila das ligações peptídicas.

Segundo Angelis (2006) uma vez complexada a proteína com o tanino, ocorre diminuição da sua utilização e da digestibilidade do amido, celulose e hemicelulose, além de interferir na absorção e retenção de minerais e vitaminas. O tanino, se presente em elevada

concentração numa dieta, determina a suplementação com aminoácidos livres (metionina e colina), que por apresentarem como doadores do grupo metilo, atenuam seus efeitos.

No sentido de minimizar a presença dos taninos em alguns ingredientes de grande importância para a nutrição animal, algumas práticas têm sido adotadas. Segundo Warreham et al. (1994), para diminuir a concentração de taninos presentes nos ingredientes, podem ser empregados os seguintes tratamentos:

- a) Mecânico: retirando-se a casca que representa cerca de 15,00 a 20,00% da matéria-prima. A técnica de descortiçar apresenta-se como a mais prática na redução dos taninos, além de melhorar o valor nutritivo, uma vez que diminui o teor de fibras e aumenta a concentração de proteínas.
- b) Térmico: sua eficácia não tem sido padronizada nos taninos presentes num ingrediente. Tal prática foi confirmada quando reportaram que 57,00% dos taninos foram destruídos em 121,00°C/60 minutos, embora tenham constatada perda do valor nutricional. Warreham et al. (1994) afirmam que a extrusão pode reduzir entre 30,00 e 40,00% de sua concentração. Ao investigarem o destino de polifenóis durante o processo de cozimento de feijões, Bressani et al. (1982) relataram que com a elevação da temperatura, os polifenóis podem se ligar com algumas proteínas e serem eliminados na água de cozimento, permanecerem livres ou sofrer polimerização.
- c) Tratamento com raio infravermelho: essa prática tem sido utilizada, embora sua eficiência pareça apresentar-se em torno de apenas 25,00%. Existem dúvidas se a diminuição das atividades dos taninos seria atribuída a sua destruição ou simplesmente se estes teriam sido polimerizados.
- d) Químico: o tratamento químico com hidróxido de sódio, associado ao tratamento térmico (autoclavagem) tem possibilitado redução nos conteúdos de taninos presentes em alguns ingredientes. O tratamento com polietilenoglicol ou amônia (100,00 g/Kg de proteína) por sete dias sem a aplicação da ação térmica da autoclave, mostrou-se mais efetivo.

- e) Cozimento: essa técnica mostrou-se eficaz no sentido de eliminar ou simplesmente reduzir a ação dos taninos. O mesmo aplica-se ao uso de microondas e secagem em estufa, e;
- f) Maceração: consiste na manutenção das sementes submersas na água. Segundo Mukhopadhyay e Ray (1996), sua permanência em água por 16 horas, reduziu em 60% o conteúdo de taninos das sementes de “sal” (*Shorea robusta*). Isso possibilitou a inclusão de 30,00% dessa semente, em rações para alevinos de *Labeo rohita*.

2.4.7.1 Efeito dos Taninos no Trato Digestório dos animais Domésticos

Conforme Mueeller-Harvey e McAllan (1992), em termos gerais, os taninos ingeridos podem atuar em diferentes vias: a) afetando as espécies e a composição da microflora bacteriana inibindo, portanto, a produção de enzimas digestivas da microflora; b) os produtos metabólicos podem ser absorvidos provocando toxicidade nos tecidos; c) tornam, em geral, indisponíveis os nutrientes da dieta e; d) complexando as enzimas digestivas e impedindo desta forma a sua ação sobre os substratos alimentícios.

Os efeitos dos taninos se iniciam na boca reagindo com a saliva, podendo ser reduzidos no estômago ao serem dissociados por ação do pH e das pepsinas. Interagem com as mucoproteínas ao passar pelo trato gastrointestinal e, finalmente, possa se combinar com as proteínas da camada externa das células do intestino, reduzindo a absorção dos nutrientes.

O grau de toxicidade depende do tipo do tanino (hidrolisáveis ou condensados) e das suas proporções na dieta, dos produtos finais da hidrólise no intestino e da espécie animal.

Mueeller-Harvey e McAllan (1992) afirmaram que alimentos contendo altos níveis de taninos causam diminuição da ingestão voluntária nos animais, possivelmente pelo seu efeito adstringente, o qual reduz a lubrificação por coagulação das proteínas da saliva no epitélio da mucosa bucal. A saliva de alguns animais, cervos, por exemplo, contém proteínas ricas em prolina (Prp). Esse aminoácido liga-se ao tanino formando complexos Ptn - tanino,

resistentes ao ataque enzimático dos microrganismos endógenos do trato digestório, evitando desta forma a absorção desses antinutricionais. Esse mecanismo pode ser considerado como a primeira estratégia de defesa contra os taninos ingeridos.

Segundo Waghorn et al. (1990), níveis de 2,00 a 3,00% de tanino condensado na matéria seca dos suplementos podem ser adequados para manter alto consumo alimentar nos animais e, sugerem que o nível de tanino condensado não deve exceder o 4,00% da matéria seca ministrada, pois a ingestão de grande quantidade de taninos ocasiona irritações intestinais. Esses mesmos autores destacam que os efeitos da ingestão contínua de baixos níveis são desconhecidos e que o consumo prolongado de alimentos com altos teores de taninos, se os mecanismos de detoxificação forem insuficientes, podem ocasionar hemorragias, gastrenterites, necrose hepática e nefrites, entre outros (KUMAR, 1984).

As propriedades antinutricionais dos taninos condensados são numerosas, mas todas envolvem complexação com outras moléculas. Embora não se conheça como os taninos condensados atuam nos animais, assume-se que estes não são absorvidos e que seus efeitos são restritos ao trato digestório (DANTAS-BARROS, 1984).

Conforme Warreham et al. (1994), os taninos condensados afetam o valor nutricional dos alimentos, como consequência da formação de complexos com as proteínas dietárias; pela formação de complexos com os carboidratos e outras macromoléculas alimentares; pela inibição da atividade de várias enzimas digestivas; pela formação de complexos com íons bivalentes de metais e; pela erosão de células epiteliais do intestino. Afirmam esses autores que proteínas de cadeias curtas e globulares não são complexadas e, que os taninos condensados têm grande afinidade por proteínas de alto peso molecular, alta percentagem de aminoácidos hidrófobos e elevado conteúdo de prolina.

As proteínas da mucosa bucal de algumas espécies animais são compostas de prolina, as quais ao complexarem-se com os taninos condensados previnem irritações no trato digestivo (Austin et al., 1989).

De acordo com Martin - Tanguy et al. (1977) os taninos podem afetar o crescimento de animais devido ao seu sabor adstringente influenciando o consumo, e a sua habilidade em se ligar a proteínas afetando a digestibilidade e inibindo a atividade

enzimática. Entretanto, Bressani et al. (1982) relataram que o efeito de polifenóis de leguminosas na digestibilidade das proteínas é relativamente pequeno, pois somente influenciam 7,00 % da digestibilidade real da proteína.

Faz-se necessário um maior conhecimento na íntegra sobre a consequência da presença dos taninos, para as diferentes espécies de animais, bem como de seu mecanismo de ação nas diferentes condições fisiológicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta da matéria-prima

O cultivar de mandioca e folhas processado durante o experimento foi da variedade Fécula Branca com idade de 14 meses, coletadas no mês de novembro. A mandioca foi coletada diretamente no Campo Experimental do CERAT/UNESP no campus de Botucatu Lageado e transportados a laboratório de Processamento. O material foi separado para processamento, onde as raízes da mandioca foram trituradas em cevadeira piloto presente no laboratório e as partes aéreas, teve removido o caule e os pecíolos, restando as folhas que foram acondicionadas em lonas na sombra para promover a secagem. Após três dias as folhas secas foram trituradas manualmente e moídas em moinho de faca com tela vazamento de 1 mm.

3.1.2 Caracterização da matéria-prima

As análises de caracterização da farinha de mandioca e das folhas secas foram: pH, cianeto total, lipídeos, açúcares solúveis totais, umidade, amido, fibras, cinzas, acidez titulável, carboidratos e proteína. Os minerais avaliados nas folhas foram cálcio, ferro, zinco, manganês, cobre, potássio, fósforo, magnésio.

3.2 Metodologia analítica utilizada

3.2.1 Teor de umidade pelo método de secagem em estufa

Foi determinada com a perda de peso da amostra, quando aquecida a 105°C, segundo o método descrito por AOAC (1975).

3.2.2 Determinação de pH

Foram pesadas 10 g da amostra em um Becker de 250 ml, adicionando-se 100 ml de água destilada. Então foi agitado em agitador magnético durante 30 minutos, sendo em seguida deixado em repouso por 10 minutos. Decantou-se o líquido sobrenadante para um frasco seco e imediatamente o pH foi determinado ao inserir o eletrodo do pH-metro na amostra, e, girando-se o botão “STB” na posição “pH” esperou-se a estabilização do display segundo o método descrito por AOAC (1975).

3.2.3 Determinação do teor de taninos

A quantidade de tanino nas amostras de hidrolisado foram analisadas pelo método descrito por Folin-Cicateau. Para determinação da curva padrão foi medido 100 mg de ácido tânico. Adicionado em um balão de 1000 ml, completando com água destilada.

3.2.5 Determinação do teor de fibra bruta

O teor de fibras foi determinado através de digestão em bloco digestor para fibras, conforme metodologia descrita por AACC (1975).

3.2.6 Determinação do teor de cinzas

Foram determinadas após calcinação das amostras, a $550 (\pm 30)^\circ\text{C}$ durante 2 horas, segundo o método descrito por AOAC (1975).

3.2.7 Determinação do teor de proteínas

Foi determinado usando fator 6,25 para o cálculo de proteína total, pelo método Micro-Kjeldhal descrito por AOAC (1975).

3.2.8 Determinação do teor de lipídeos

Foi feita uma extração contínua com éter de petróleo em aparelho de Soxhlet segundo o método descrito por AOAC (1975).

3.2.9 Determinação do teor de cianeto total

Foram determinadas através da metodologia descrita por Essers (1993), onde determina o teor de cianeto total, e o teor de cianeto livre (teor de cianeto já separado da molécula de linamarina).

3.2.10 Determinação de açúcares solúveis totais

Foram determinadas através do método de Somogy (1945) e Nelson (1944), onde representa o conteúdo total de açúcares redutores, sacarose e açúcares solúveis presentes.

3.2.11 Determinação de carboidratos totais

Foi determinado através do método Somogy (1945) e Nelson (1944), onde representa o teor de carboidratos ou glicídeos presentes na amostra.

3.2.12 Determinação de acidez titulável

Realizada por titulação com solução padronizada de NaOH a 0,1N até atingir pH 8,2 a 8,3, conforme descrito por AOAC (1975).

3.2.13 Amido

A determinação de amido foi realizada pelo método enzimático conforme metodologia descrita por Somogy (1947).

3.3 Produção de farinha de mandioca

Para esse experimento utilizou-se a variedade Fécula Branca (Figura 1), coletada no campo Experimental do CERAT no Campus de Botucatu. A produção de farinha de mandioca foi realizada no Laboratório de Processamento de Matérias Primas em modelo piloto. Foi produzida na seqüência de sua coleta, para evitar o aparecimento de características não desejáveis e garantir a qualidade adequada ao produto final.

Após a coleta foi feita a lavagem, retirada da casca e lavagem em lavador cilíndrico com grades e giratório. Logo após a matéria prima foi submetida à trituração para desintegração das partes, prensagem em prensa manual e pesagem da massa prensada. A mesma foi passada em peneiras para dispersar os grânulos formados e uniformização dos mesmos. Foi colocada aos poucos no forno giratório com chapas, em temperatura controlada variando em média 120 á 180 °C.



Figura 1. Foto das folhas de mandioca da variedade Fécula Branca

3.4 Produção de Farinha de Folhas de Mandioca

3.4.1 Desidratação das Folhas

As folhas da mandioca coletadas manualmente foram transportadas ao Laboratório de Processamento de Matérias Primas do CERAT, onde o tratamento empregado foi a secagem natural á sombra. As plantas foram cortadas retirando apenas as folhas da parte aérea, cortando até os talos menores; foram espalhadas sobre uma lona em camadas espessa, em um viveiro de plantas pertencente ao laboratório, onde a temperatura das folhas no local foi inicialmente de 60°C, observada através de termômetro digital. As folhas foram diariamente revolvidas para que a secagem ocorresse uniformemente, sem posterior aparecimento de fatores indesejáveis, tal como a fermentação, por exemplo. A desidratação completa das folhas ocorreu em três dias de exposição contínua no local.

3.4.2 Desintegração das folhas

As folhas secas foram colocadas em moinho de facas marca Marconi com tela de vazamento de 1 mm e o pó delas adquirido foram colocados em saco plástico.

3.4.3 Produção de farinha de mandioca enriquecida com a adição das folhas de mandioca

Para produção da farinha com folhas, foram proporcionalmente adicionadas às massas da mandioca prensadas, proporções de 10, 20 e 30% de pó de folhas a essa massa e, misturado com espátula para homogeneização completa. Na seqüência foram colocadas aos poucos em forno giratório com chapas, com temperatura variando em média de 120 á 180 °C.

3.5 Formulação de dietas a partir da farinha de mandioca e folhas em diferentes proporções

Para formulação das cinco dietas, foram processadas anteriormente no Laboratório de Processamento de Matéria Prima do CERAT, componentes de uso convencional que acresceriam nutrientes a dieta tais como, o amido de mandioca e as folhas pulverizadas, em diferentes concentrações, seguindo as recomendações diárias estabelecidas. Desse modo, foram elaborados cinco tipos de dietas especificado na Tabela 2 com concentrações variadas de nutrientes e suas respectivas fontes. Foi utilizada como referência uma dieta semi-sintética com ingredientes purificados, contendo a composição de proteína (21% caseína), mais óleo de soja 8%, mistura mineral 5% (Tabela 5) AOAC (1975), mistura vitamínica 2% (Tabela 6) (Nutritional Biochemicals Corporation, 1977), fibra 1%, mistura carboidrato (25% sacarose/75% amido), para completar 100%.

Tabela 2. Componentes utilizados para o preparo das dietas suficiente para o tratamento dos ratos durante 60 dias.

<i>Componente</i>	Dietas¹				
	DS	DM	DM10%	DM20%	DM30%
Albumina (kg)	2,100	2,100	1,970	1,800	1,600
Óleo de soja	0,800	0,800	0,800	0,800	0,800
Minerais (Kg)	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Vitaminas (Kg)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Fibras (Kg)	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Sacarose (Kg)	1,575	1,600	1,600	1,600	1,600
Amido (Kg)	4,725*	6,300**	7,400**	7,900**	8,400**

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.

*Valor referente à fécula adicionada.

**Valores referente à farinha de mandioca adicionada.

Para o preparo da farinha com adição de folhas de mandioca moída (Tabela 3), foram calculados inicialmente os valores de carboidratos adicionados, considerando a mandioca como base energética e ajustando a albumina com a proteína presente na folha adicionada em proporções de 10, 20 e 30%. Para obtenção das proporções estipuladas para as farinhas enriquecidas, a farinha de folhas foi pesada e adicionada à massa da mandioca úmida prensada com o objetivo de submetê-las junto ao processo de cocção em fornos de chapas abertos.

Tabela 3. Composição das farinhas de mandioca com adição das folhas de mandioca moída na proporção de 10, 20 e 30%. Proporções de farinha de mandioca e farinha de folhas para os grupos de dietas tratadas.

Componentes	Farinha a 10%¹ (Kg)	Farinha a 20%¹ (Kg)	Farinha a 30%¹ (Kg)
Raiz desintegrada prensada (umidade 35%)	16,7	14,7	13,7
Folha de mandioca pulverizada (umidade 10%)	1,0	2,0	3,0

Para preparo de cada dieta foram adicionados os ingredientes necessários no misturador industrial (CAF - modelo M60) disponível no Biotério da Faculdade de Medicina - Unesp de Botucatu, campus Rubião Jr. e misturado até a completa homogeneização e umidificação. Após esse processo, a massa obtida foi peletizada (Figura 2) em máquina peletizadora de ração (Chavantes - PR), seca por ventilação e acondicionada em sacos plásticos previamente identificados e mantida sobre refrigeração (-5°C) até o momento do uso. Para o tratamento total dos animais, foram preparados 10 Kg de cada dieta para consumo ao longo do experimento.



Figura 2. Foto das dietas peletizadas

Tabela 4. Composição do Complexo Mineral – Mistura salina, utilizado como fonte de micronutrientes das dietas preparadas.

Minerais	**Quantidade (g)
Carbonato de cálcio	174,138
Fosfato tricálcio	473,0
Cobre	0,022
Citrato férrico	3,33
Sulfato de magnésio	50,0
Manganês quelado	0,76
Iodeto de potássio	0,17
Cloreto de potássio	116,0
Cloreto de sódio	66,0
Fosfato de sódio bifásico	116,0
Zinco glicina	0,57

** Valores estipulados para o preparo de 1000g de complexo mineral/salino

Tabela 5. Composição do Complexo Vitamínico utilizado como fonte de micronutrientes das dietas preparadas.

Vitaminas	**Quantidade (g)
Tiamina (Vit B1)	0,50
Peridoxina (Vit B6)	0,50
Riboflavina (Vit B2)	0,50
Cianocobalamina (Vit B12)	0,006
Pantotenato de cálcio	2,0
Colina ou citrato de colina (Vit B7)	200,0
Retinol (Vit A)	0,15
Ergocalciferol (Vit D)	0,125
Tocoferol acetato (vit E)	5,0
Menadiona (Vit K)	2,0
Acido Paraminobenzóico (PABA)	10,0
Niacina	5,0
Acido ascórbico (Vit C)	100,0
Inositol	100,0
Biotina	0,03
Sacarose	573,992

** Valores estipulados para o preparo de 1000g de complexo vitamínico

O complexo vitamínico e mistura salina utilizada nesse estudo foram preparados na farmácia de manipulação de Botucatu Cruz Vermelha.

3.6 Experimentação Animal

3.6.1 Protocolo Experimental

Neste experimento foram utilizados 40 ratos (Figura 3) da linhagem Wistar (20 fêmeas e 20 machos) com 3 semanas de idade e peso corpóreo médio inicial de 50- 80g. Todos os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da UNESP Campus de Botucatu (Botucatu – SP) e mantidos em sala de experimentação do Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT/UNESP) Campus Lageado.

Os animais foram distribuídos em cinco grupos, onde cada grupo foi composto por quatro machos e quatro fêmeas separadamente, onde foram mantidos em gaiola de polipropileno de 41x34x16 cm, com tampa de aço inox na forma de grade, e forradas com

maravalha branca de pinho, sendo as trocas das gaiolas e da maravalha realizadas três vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras).

Receberam água filtrada em bebedouros de vidro com tampa de borracha e bico metálico com capacidade de 500 mL, “ad libitum” durante todo o experimento. Ao longo desse período os animais passaram por avaliação de viabilidade e clínica, sendo o peso corpóreo registrados semanalmente.



Figura 3. Foto dos animais utilizados nesse experimento.

3.6.2 Delineamento Experimental

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos experimentais, com 8 animais para cada grupo experimental, sendo quatro machos e quatro fêmeas para cada tratamento. Os machos e fêmeas dos grupos A receberam dieta sintética durante todo o período experimental com reposição diária. Os machos e fêmeas dos grupos B receberam ração manufaturada durante todo o período experimental; os animais dos grupos C, D e E receberam dietas enriquecidas com a adição das folhas da mandioca em proporções de 10 (grupo C), 20 (grupo D) e 30% (grupo E).

Foram monitorados o peso dos animais durante todo o experimento através de balança analítica a cada 2 dias e também registrados mudanças do crescimento, alterações comportamentais e gastrintestinais. Todos os animais foram sacrificados 60 dias após o início do experimento.

3.6.3 Identificação dos animais

Durante o experimento, os animais receberam marcação na cauda, com uma caneta de ponta porosa de acordo com as seguintes cores: animal macho (azul), animal fêmea (vermelho), com numeração individual dos animais indicando o número referente ao grupo, com numeração de 1 – 4 (riscos) especificamente. Esta marcação foi mantida durante toda a fase de experimentação, onde a marcação foi reforçada com auxílio da caneta a cada 5 dias.

As gaiolas foram previamente identificadas com a ficha descrita de cada grupo, e foram separados oito animais para cada um, sendo quatro machos e quatro fêmeas para cada tratamento.

3.6.4 Sacrifício de animais e coleta de sangue e fígado

O sacrifício dos animais foi realizado pela abertura da parede abdominal e do diafragma, seguido, da secção da veia cava inferior, após anestesia por inalação com éter sulfúrico. Antes do sacrifício, o sangue de cada animal (2 a 3 ml) foi coletado por punção cardíaca e mantidos em frascos plásticos tipo “ependorffs” devidamente identificados e sem coagulante, por aproximadamente 15 min em temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 min (MSE Micro Centaur – Sanyo, Reino Unido) para se obter o soro de cada animal. Após centrifugação, foram coletadas duas amostras de cerca de 400 µl de soro de cada animal.

Todas as amostras foram mantidas à -20°C até o momento de serem analisadas para a determinação dos níveis de enzimas alanina aminotransferase (ALT).

Após o sacrifício dos animais, o fígado de cada animal foi retirado, lavado em solução fisiológica e pesado. Fragmentos hepáticos foram fixados em formalina tamponada a 10% por 48 horas e seguidos para processamento histológico. O fêmur de cada animal foi também removido para análise de mineralização óssea.

3.6.5 Determinação da enzima sérica ALT

A análise da enzima sérica ALT foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, utilizando-se Kit comercial e leitura fotométrica. A avaliação dos níveis séricos de ALT foi feita com as amostras de soro dos animais a temperatura ambiente, e utilizando-se três controles:

- a) Control Lab (SBPC – PELM – Básico CQI – Bioquímica RJ - Brasil),
- b) Qualitrol (lote 441 - Normal lote 442 - Patológico; Alemanha) e,
- c) Merck (soro liofilizado de origem humana com valores normais e patológicos, Alemanha).

Foi utilizado kit da Boehringer Mannheim (MPR2 – 1.442.520, Alemanha) para a determinação de ALT, sendo a leitura das amostras feita em aparelho RA-XT, da Technicon (EUA).

A solução reagente de ALT foi preparada diluindo-se cinco ampolas de 7,5 ml do reagente (enzima/coenzima/ α -oxoglutarato) em 50 ml de tampão Tris pH 7,5. Essa solução reagente foi, então, transferida para o aparelho RA-XT onde ocorreram as leituras fotométricas de alíquotas preparadas a partir de 1 ml da solução reagente mais 100 μ l de cada uma das amostras. Todas essas análises foram realizadas à 25°C.

3.6.6 Coloração de hematoxilina - eosina (HE)

Ao sair da formalina, os fragmentos hepáticos foram desidratados em banhos sucessivos em álcool 85%, álcool 95% e álcool absoluto (3 vezes) por uma hora cada. Os tecidos foram diafanizados em xilol I, II e III e banhados em parafina I, II e III por uma hora cada reagente. Nessa etapa utilizou-se um processador automático de tecidos (LEICA TP 1020, Alemanha). Após o processamento inicial, o material foi emblocado em parafina à 60°C no autoinfusor (LEICA EG 1160, Alemanha).

Cortes histológicos de espessura de 4 a 6 μ m foram obtidos em micrótomo (LEICA RM 2145, Alemanha). Os cortes histológicos foram colocados sobre as lâminas codificadas e essas levadas para estufa (FAMEN 002 CB, Brasil) à 60°C por 24 horas, a fim de se obter maior adesão dos cortes histológicos às lâminas. Em seguida, as lâminas foram colocadas em suporte e levadas para coloração automática (LEICA XL, Alemanha).

Neste processo, as lâminas passaram pelas seguintes etapas: bateria de hidratação (xilol I, II e III por 5 minutos em cada; álcool absoluto I, II e III por 8 segundos cada passagem; água corrente), lavagem em água corrente, hematoxilina de Harris por 5 minutos, diferenciador por 8 segundos, água amoniacal 8 segundos, álcool absoluto por 8 segundos e eosina por 2 minutos e bateria de desidratação (álcool I, II, III, IV e V por 8 segundos cada passagem).

Terminada a coloração, as lâminas foram transferidas para outro suporte e levadas para a montagem automática (LEICA CV 5000, Alemanha) de lamínulas (24x32mm) em meio Permout (FISHER, EUA). Após montagem, as lâminas histológicas foram rotuladas e identificadas. Todos os reagentes utilizados na coloração foram obtidos da Merck (Alemanha).

A Figura 4 demonstra alterações histológicas indicativas de toxicidade hepática como, esteatose, necrose, hipertrofia centrolobular, inflamação ou fibrose (HARDISTY, J, BRIX, 2005).

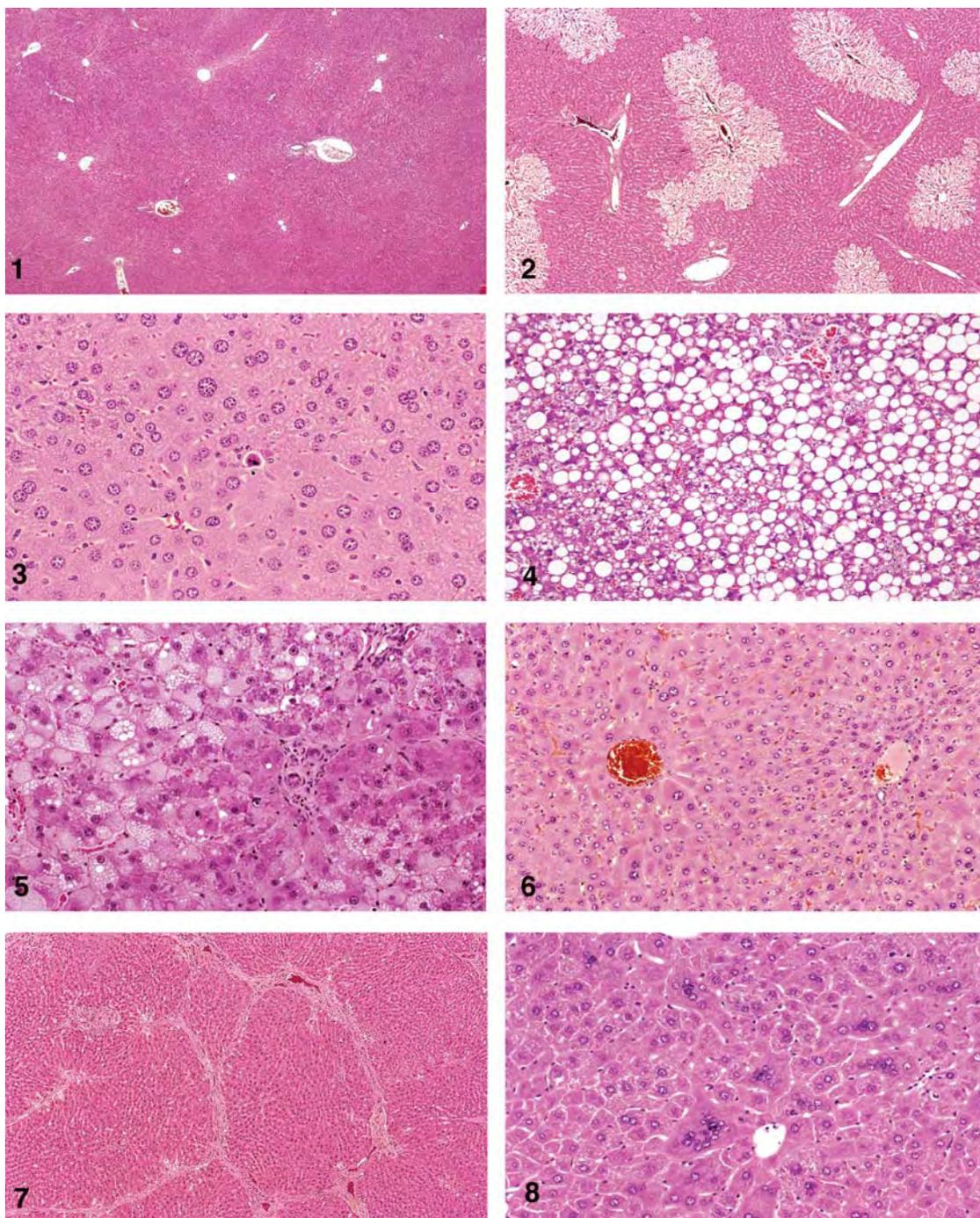


Figura 4. Lesões hepáticas decorrentes de toxicidade em cortes histológicos de fígado. (1) Fígado normal; (2) Necrose oncótica centrilobular (3) Necrose isolada apoptose; (4) Esteatose macrogoticular; (5) Esteatose microgoticular; (6) Hipertrofia Centrolobular; (7) Fibrose periportal (8) Hepatócitos multinucleados. Fonte: JERRY (2005)

Na Figura 4 foi comparado cortes histológicos do fígado eutrófico (1) com cortes apresentando alterações histológicas indicativas de toxicidade hepática como, necrose, necrose oncótica, esteatose, hipertrofia centrolobular, fibrose e hepatócitos multinucleados (2 – 8).

3.6.7 Mineralização óssea

O fêmur de cada animal foi removido, pesado em balança analítica, identificados separadamente e em seguida colocados em ácido nítrico e peróxido de hidrogênio em tubos, e na seqüência tampados. Permaneceu em bloco digestor à 70° C por aproximadamente 24 h. As amostras foram centrifugadas e filtradas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica disponível no Ceatox do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu/SP no Campus de Rubião Jr.

Os resultados foram fornecidos indicando a concentração de cálcio nos ossos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados da composição centesimal

A composição físico-química e química da farinha de mandioca demonstrou que a raiz é um alimento predominantemente amiláceo, composto basicamente por carboidratos, com aproximadamente 85% de amido presente nessa variedade. Há ainda um considerável teor de fibras presente e uma baixa concentração de lipídeos e proteínas (Tabela 6).

Tabela 6. Análise centesimal de amostra de farinha de mandioca Fécula Branca.

Componentes	Teores (%)*
Umidade	3,10
Amido	85,8
Açúcares solúveis totais	1,61
Proteínas	0,98
Lipídeos	0,83
Cinzas	2,41
Fibras	1,25
pH	6,8
Acidez	8,4
Cianeto Total (ppm)	32,0

*Teores médios das amostras analisadas.

O valor encontrado para proteína nas folhas descrita na Tabela 7 foi de 25,8 %, demonstrando potencialidade do teor protéico nessa fonte alternativa de alimentos. Todos os teores encontrados nos respectivos componentes encontram-se na média esperada, comparadas às outras variedades estudadas.

Tabela 7. Análise centesimal de amostras das folhas pulverizadas de mandioca Fécula Branca.

Componentes	Teores (%)*
Umidade	12,50
Amido	-
Açúcares solúveis totais	-
Proteínas	25,80
Lipídeos	7,70
Cinzas	7,40
Fibra bruta	19,24
pH	5,50
Acidez	-
Cianeto Total (ppm)	3,50

*Teores médios das amostras analisadas

A composição centesimal dos alimentos utilizados nas dietas evidenciou um teor relativamente maior de proteínas na farinha de folhas, quando comparada à farinha comum, demonstrando ser possível enriquecer a farinha de mandioca com a parte aérea da raiz.

Dessa forma Bokanga (1994) afirma que a mandioca é uma importante fonte energética para milhões de pessoas e animais nos trópicos, podendo ser utilizadas as raízes e folhas, esta como fonte de vitaminas, proteínas e minerais.

Tabela 8. Valor médio da concentração de taninos em amostras de folhas de mandioca.

Componente	Teores (g/kg)
Taninos	9,20

Os valores de taninos observados nas folhas de mandioca pulverizadas indicaram quantidades aceitáveis quanto a sua toxicidade se ingerido como ingrediente em formulações como aditivo em farinhas de mandioca a exemplo da utilização no produto multimistura distribuído pelo programa Pastoral da Criança-CNBB em quantidades de 3% referente à parte encontrada nas folhas, adicionada para o consumo.

De acordo com Brasil (2000), os valores máximos permitidos pelo Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à base de cereais, para taninos são de 4 % .

Valores médios em torno de 6 g de tanino por quilo de folhas de mandioca foram observados por Ortega-Flores (1998) em outra variedade de mandioca.

As Tabelas 9 e 10 indicam a concentração presente de cálcio e ferro encontrado nas dietas e farinha e de folhas.

Tabela 9 - Valores médios de micronutrientes presentes nas cinco dietas preparadas para o tratamento.

Minerais	Dietas¹				
	DS	DM	DM10%	DM20%	DM30%
Cálcio (mg/kg)	100,00	100,00	100,00	100,00	160,00
Ferro (mg/kg)	33,00	82,00	144,00	195,00	291,00
Potássio (g/Kg)	6,00	8,00	8,00	9,00	10,00
Fósforo (g/Kg)	5,70	5,50	5,00	5,10	5,30
Magnésio (mg/Kg)	0,60	0,60	0,70	0,80	1,00
Manganês (mg/Kg)	81,00	74,00	86,00	118,00	143,00
Cobre (mg/Kg)	4,00	3,00	4,00	4,00	5,00
Zinco (mg/Kg)	97,00	86,00	87,00	93,00	98,00

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.

Todos os nutrientes encontram-se na média quando comparado às dietas manufaturadas com adição de 10, 20 e 30% de folhas e de composição comum sem adição de folhas, no entanto, os valores encontrados para cálcio e ferro foram maiores para as dietas enriquecidas com a adição de 20 e 30 % de folhas.

As dietas enriquecidas apresentaram alto teor mineral, atingindo a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de referencia para crianças de três anos (CFN, 2006).

Tabela 10 - Valores de micronutrientes presentes nas folhas de mandioca

Minerais	Componente
	Folhas de mandioca*
Cálcio (mg/kg)	210,00
Ferro (mg/kg)	345,00
Potássio (g/Kg)	10,00
Fósforo (g/Kg)	7,60
Magnésio (mg/Kg)	5,90
Manganês (mg/Kg)	126,00
Cobre (mg/Kg)	10,00
Zinco (mg/Kg)	46,00

*Folhas de mandioca desidratadas.

Aparentemente não ocorreu o desenvolvimento de doenças nem sintomas desencadeados por deficiências de micronutrientes, baseando-se nas observações e avaliação clínica dos animais, durante o experimento.

4.2 Resultados dos ensaios das dietas

Nas Tabelas 11 e 12, estão indicando os valores médios do peso corpóreo inicial, 15, 30, 45 e 60 dias de cada um dos grupos de machos e fêmeas, submetidos ao tratamento das dietas especificadas na Tabela 1 (composição das dietas da sessão de material e métodos).

Verifica-se também o ganho de peso dos animais ao longo do tratamento. Os dados indicaram que houve evolução satisfatória dos ensaios, não ocorrendo nenhum óbito, e ganho de peso dentro da média esperada para esta espécie de rato. Além de crescimento adequado como demonstra a Tabela 17 em relação ao Coeficiente de Eficácia Protéica (CEP).

Tabela 11 - Valores médios do peso e ganho de peso corpóreo dos diferentes grupos experimentais (machos).

Grupo/ Tratamento ¹	Peso corpóreo médio (g)					Ganho de peso (g)
	0	15	30	45	60 dias	
A/♂ (DS)	65,82 ^a	142,75	228,54	305,23	376,01	310,17
B/♂ (DM)	69,50 ^a	130,40	209,05	320,00	370,17	300,67
C/♂ (DM-10%)	67,02 ^a	133,74	219,63	310,11	394,79	327,75
D/♂ (DM-20%)	74,52 ^a	135,25	218,97	330,25	415,57 ^b	341,05 ^c
E/♂ (DM-30%)	73,72 ^a	136,72	191,28	284,56	333,25	259,53

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente. ^a Não houve diferença estatística significativa (p= 0,687). ^b Diferença estatística em relação a grupo E/♂ (p =0,017). ^c Diferença estatística em relação aos grupos C/♂ e E/♂ (p= 0,014).

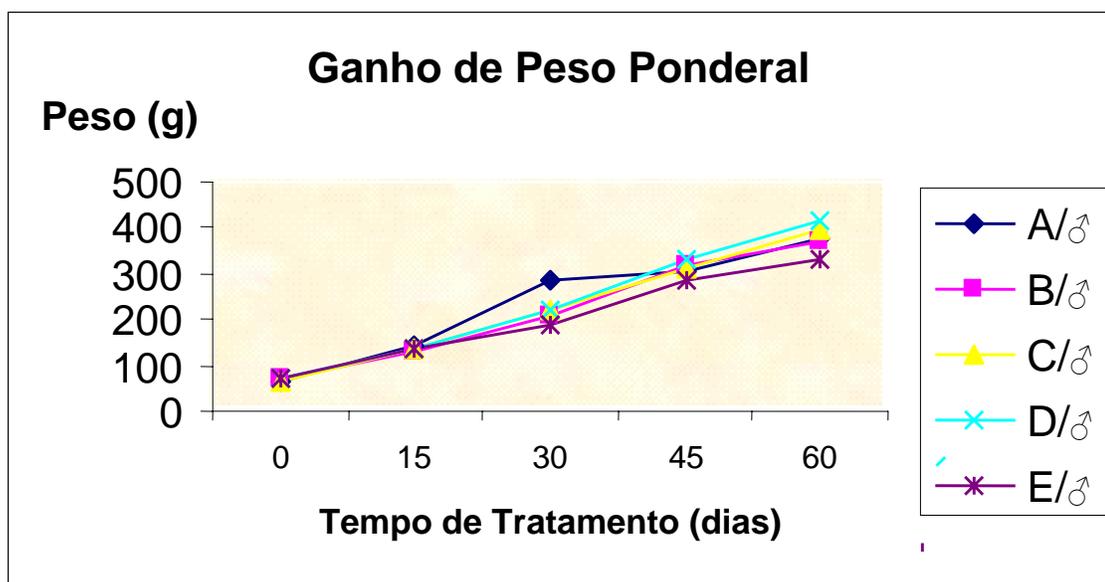


Figura 5 - Evolução do ganho de peso corporal dos animais dos grupos de machos.

◆ A/♂ DS= Dieta sintética, ◆ B/♂ DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, ◆ C/♂ DM 10% = Dieta manufaturada com adição de 10% de folhas, ◆ D/♂ DM 20%= Dieta manufaturada com adição de 20% de folhas e ◆ E/♂ DM 30%= Dieta manufaturada com adição de 30% de folhas, respectivamente.

O grupo que demonstrou maior incremento em relação ao ganho de peso foram os animais do grupo D, onde foram tratados com dieta a 20 % de folhas presentes.

No gráfico da Figura 6 podemos observar a evolução de ganho de peso ao longo do experimento, onde o grupo A demonstrou maior ganho de peso no período de 30 dias do experimento.

Todos os animais demonstraram ganho de peso, comparado inclusive ao grupo controle, onde os mesmos tiveram crescimento e desenvolvimento adequado.

Tabela 12 - Valores médios do peso e ganho de peso corpóreo dos grupos fêmeas.

Grupo/ Tratamento ¹	Peso corpóreo médio (g)					Ganho de peso
	0	15	30	45	60 dias	
A/♀ (DS)	73,95 ^a	123,51	161,37	198,42	237,00 ^b	163,07
B/♀ (DM)	63,32 ^a	129,75	160,65	186,31	221,90 ^b	158,55
C/♀ (DM-10%)	59,63 ^a	125,71	161,97	198,12	241,50 ^b	181,52 ^c
D/♀ (DM-20%)	70,63 ^a	125,45	162,62	186,25	241,52 ^b	170,90
E/♀ (DM-30%)	74,80 ^a	116,66	161,76	205,31	244,80 ^b	158,55

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30% = Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente. ^a Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p= 0,242$). ^b Não houve diferença estatística entre os grupos ($p= 0,223$). ^c Diferença estatística em relação ao grupo E/♀ e B/♀ ($p= 0,014$).

Todos os grupos de fêmeas apresentaram ganho de peso semelhante entre si, independente da dieta utilizada e relativamente adequada ao biotipo individual, considerando o peso inicial médio de cada grupo.

Os grupos que tiveram maior significância em relação ao ganho de peso foram os animais que foram tratados com dietas a 10% de folhas adicionadas (Figura 6).

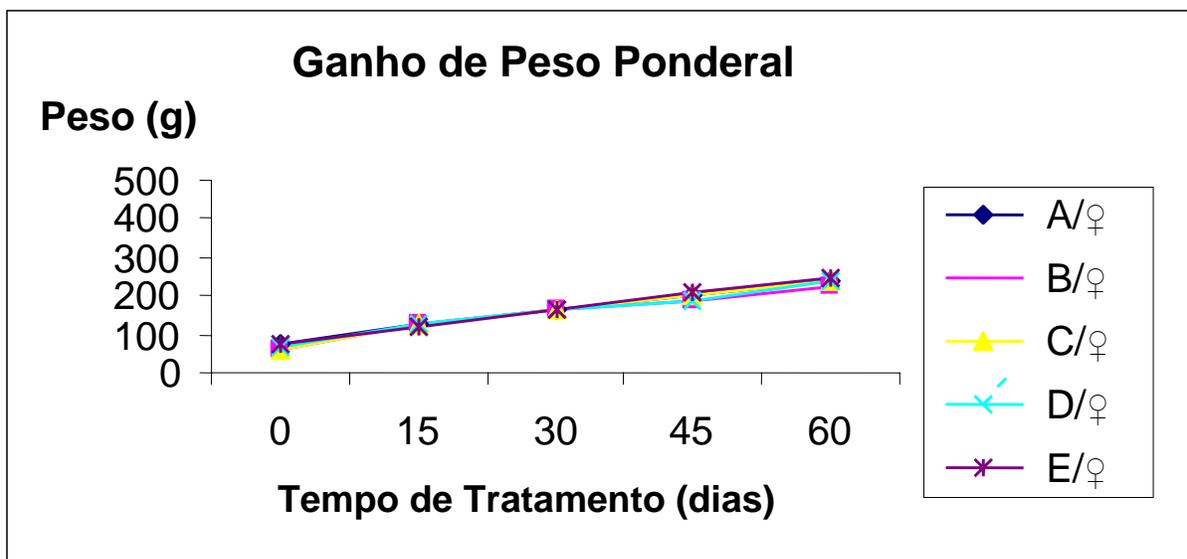


Figura 6. Evolução do ganho de peso corporal dos grupos de fêmeas.

◆ A/♀ DS= Dieta sintética, ◆ B/♀ DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, ◆ C/♀ DM 10% = Dieta manufaturada com adição de 10% de folhas, ◆ D/♀ DM 20%= Dieta manufaturada com adição de 20% de folhas e ◆ E/♀ DM 30%= Dieta manufaturada com adição de 30% de folhas, respectivamente.

Todos os grupos de fêmeas tiveram evolução do ganho de peso de forma similar, embora tenha tido um ganho de peso inferior aos animais machos em aproximadamente 100g. O crescimento e desenvolvimento ocorreu de forma adequada, haja visto que não houve perda de peso durante o experimento. No entanto os animais do grupo D tiveram menor ganho de peso no período de 30 e 45 dias do experimento. Os animais apresentaram ganho de peso de modo distinto independente dos grupos, sendo que os machos tiveram maior ganho de peso final.

Foi observado que, a suplementação de folhas para 10, 20 e 30% não resultou em diferenças estatisticamente significativas para ganho de peso para ambos os sexos e comparado inclusive às dietas manufaturada e sintética de composição comum. No entanto, proporcionalmente, os grupos de machos, obtiveram um ganho maior de peso em relação as fêmeas, especialmente os grupos que receberam dieta enriquecida com 10 e 20% de folhas.

4.3 Resultados do peso absoluto e relativo dos animais e marcadores bioquímicos

Tabela 13 – Valores médios de peso corpóreo final (g), peso relativo do fígado (%), peso do fêmur (g) e valores da enzima alanina aminotrasferase (ALT) dos diferentes grupos experimentais (machos).

Grupo/ Tratamento ¹	Peso corpóreo (g) 60 dias	Peso relativo do fígado (%)	Peso do fêmur (g)	ALT ² (U/L)
A/♂ (DS)	376,01	3,70 ^a	1,27	45,00 ^c
B/♂ (DM)	370,20	3,50 ^a	0,93	45,25 ^c
C/♂ (DM-10%)	394,80	3,50 ^a	1,01	47,75 ^c
D/♂ (DM-20%)	415,60	3,60 ^a	1,35 ^b	48,75 ^c
E/♂ (DM-30%)	333,25	3,30 ^a	1,18	46,25 ^c

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente; ²Valores de referência (11 a 66 U/L para ratos).

^a Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p = 0,085$). ^b Diferença estatística em relação ao grupo C/♂ ($p = 0,006$). ^c Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p = 0,984$).

Os valores da enzima alanina amino transferase (ALT) demonstrados na Tabela 13 indicam ausência de toxicidade hepática dos grupos de machos tratados com as diferentes dietas, de acordo com os valores de referencia estipulados para ratos.

O peso relativo do fígado dos animais encontra-se dentro do padrão quando comparados ao peso absoluto corpóreo, estando na média estipulada entre 2 a 5% em relação ao peso final.

Tabela 14 – Valores médios de peso corpóreo final (g), peso relativo do fígado (%), peso do fêmur (g) e valores da enzima alanina aminotrasferase (ALT) dos diferentes grupos experimentais (fêmeas).

Grupo/ Tratamento ¹	Peso corpóreo (g) 60 dias	Peso relativo do fígado (%)	Peso do fêmur (g)	ALT ² (U/L)
A/♀ (DS)	237,00	3,40 ^a	0,85	46,50 ^c
B/♀ (DM)	221,90	3,30 ^a	0,77	47,25 ^c
C/♀ (DM-10%)	241,50	3,30 ^a	1,00	50,00 ^c
D/♀ (DM-20%)	241,52	3,30 ^a	1,02	46,00 ^c
E/♀ (DM-30%)	244,80	3,70 ^a	1,05 ^b	48,75 ^c

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente; ²Valores de referência (11 a 66 U/L)

^a Não houve diferença estatística significativa entre os grupos (p =0,193). ^b Diferença estatística em relação ao grupo B/♀ (p= 0,014). ^c Não houve diferença estatística significativa entre os grupos (p= 0,984).

Os valores demonstrados na Tabela 14, referente aos grupos de fêmeas indicam ausência de toxicidade hepática, inclusive o peso relativo do fígado, encontra-se dentro dos valores de normalidade, indicando ausência de hipertrofia.

O peso do fêmur dos animais demonstrados nas Tabelas 13 e 14 sugerem crescimento adequado em relação à retenção de cálcio nos ossos como demonstra a Tabela 14.

4.4 Mineralização óssea

Foi calculada a média de retenção óssea descrita na Tabela 15 referente aos animais dos diferentes grupos experimentais se baseando como referencia nos resultados obtidos através do grupo controle A/♂ (DS), utilizado como padrão de comparação. Foi observada menor retenção nesse grupo utilizado como padrão nesse estudo.

Tabela 15 – Retenção média de Cálcio nos ossos referentes aos animais dos diferentes grupos experimentais (machos).

Grupo/ Tratamento ¹	Retenção óssea (g)
A/♂ (DS)	0,33
B/♂ (DM)	1,07
C/♂ (DM-10%)	1,19 ^a
D/♂ (DM-20%)	0,65
E/♂ (DM-30%)	0,77

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.

^a Diferença estatística em relação a grupo D/♂ (p =0,015).

Foi calculada a retenção óssea média nos animais com os diferentes grupos experimentais se baseando como referencia nos resultados obtidos através do grupo controle A/♂ (DS), utilizado como padrão de comparação. Foi observada menor retenção nesse grupo utilizado como padrão nesse experimento.

Nos grupos apresentados na Tabela 16, o que indica maior retenção de cálcio nos ossos foi o pertencente ao grupo tratado com as dietas enriquecidas com a adição de 10% de folhas e dieta manufaturada, comparado ao grupo controle (A/♂/DS).

No entanto as fêmeas tiveram maior retenção de cálcio como segue na Tabela 16, em relação aos machos.

Tabela 16 - Retenção média de Cálcio nos ossos referentes aos animais dos diferentes grupos experimentais (fêmeas).

Grupo/ Tratamento ¹	Retenção óssea (g)
A/♀ (DS)	1,65
B/♀ (DM)	2,23
C/♀ (DM-10%)	0,80
D/♀ (DM-20%)	0,98 ^a
E/♀ (DM-30%)	0,80

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30% = Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.

^a Diferença estatística em relação a grupo C/♀ e D/♀ (p =0,012).

Os grupos referentes aos diferentes tratamentos que indicaram maior retenção de cálcio nos ossos foram os tratados com as dietas enriquecidas com a adição de 20% de folhas e dieta manufaturada, comparado ao grupo controle (A/♂/DS), embora tenha apresentado valores inferiores ao padrão estipulado nesse grupo.

4.5 Utilização de macronutriente (proteínas) e sua biodisponibilidade pelos ratos machos e fêmeas.

A Coeficiência de Eficácia Protéica (CEP) foi avaliada (Tabela 17) segundo ganho de peso médio e consumo de proteína proveniente do consumo de ração (Tabela em anexo no apêndice) ao longo de 30 dias pelos animais dos diferentes grupos e ambos os sexos, para avaliar a evolução de crescimento decorrente da ingestão protéica. O padrão utilizado como referencia para comparação foi a dieta sintética (DS) e dieta manufaturada (DM).

Tabela 17 - Coeficiente de Eficácia Protéica (CEP) referentes aos animais dos diferentes grupos experimentais.

Grupo/ Tratamento ¹	Retenção (g)
A	9,75
B	9,72
C	10,71 ^a
D	10,61
E	9,70

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.

^a Diferença estatística em relação ao grupo E (p= 0,018).

De acordo com os grupos de referencia, os animais que tiveram maior retenção de proteína foram os grupos C e D quando comparado com as dietas manufaturadas e de composição comum, demonstrando maior utilização da proteína em termos de crescimento e desenvolvimento. O grupo E encontra-se na média, embora tenha apresentado menor retenção em relação aos grupos C e D.

4.6 Histologia do fígado

Não foram observadas alterações histológicas indicativas de toxicidade hepática como demonstra a Figura 7, tais como, esteatose, necrose, hipertrofia centrolobular, inflamação ou fibrose nos animais tratados.

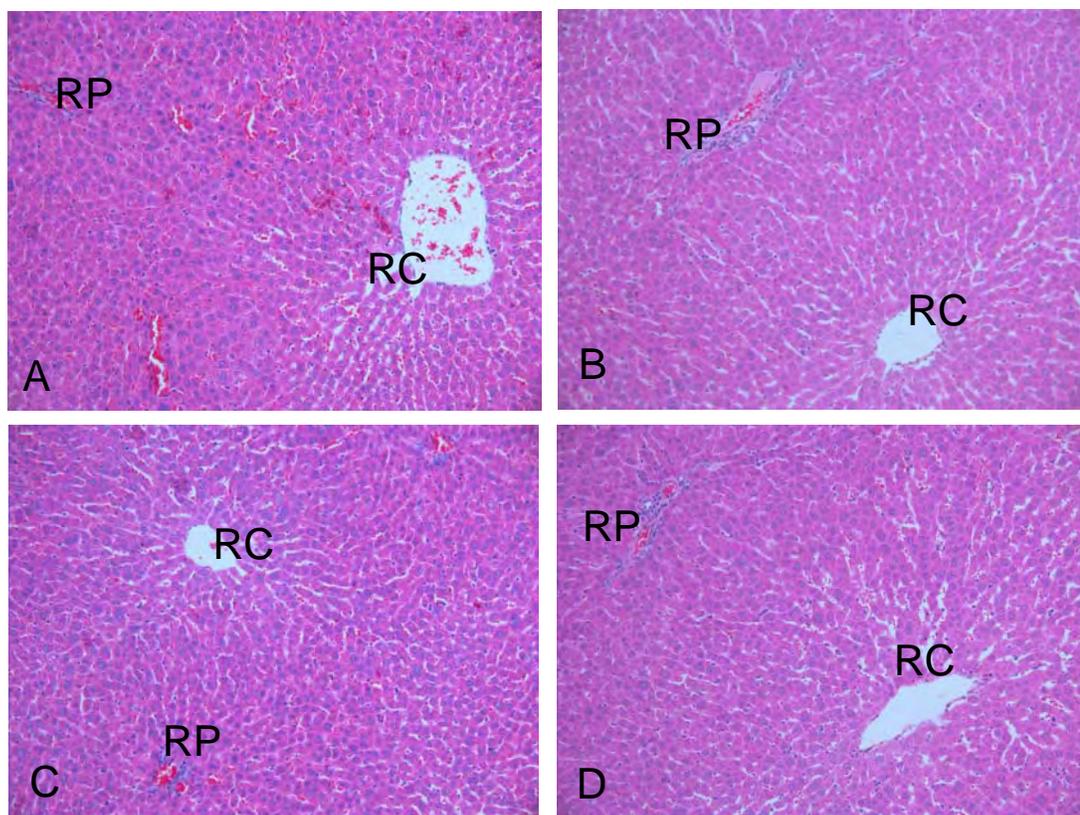


Figura 7. Cortes histológicos de fígado (aumento de 200x) de animais do grupo B (DM) [macho (A) e fêmea (B)] e do grupo E (DM+30%) [macho (C) e fêmea (D)]. RC= Região centrolobular e RP= Região periportal.

De acordo com os resultados observados nos cortes histológicos podemos sugerir a ausência de toxicidade hepática nos diferentes grupos comparados, demonstrando eutrofia hepática para os animais dos cinco tratamentos e ambos os sexos.

5 CONCLUSÕES

1. Baseado nos resultados dos indicadores biológicos e análise centesimal realizado neste experimento conclui-se que, as dietas enriquecidas, preparadas para alimentação de ratos foram suficientes para promover o crescimento, desenvolvimento e manutenção de forma adequada, comparada à dieta comum, sendo considerado adequado para introdução da mesma no consumo cotidiano e sua posterior utilização.

2. É possível que a fração de compostos fenólicos com, efeito antinutricionais presente na variedade de raiz utilizada nesse experimento, possa ter suposta ação sobre o metabolismo da dieta e, ainda sobre a fisiologia dos ratos, especialmente onde se utilizou maior concentração de folhas, compondo 30% da dieta em tratamento, haja visto alteração no comportamento dos grupos machos e fêmeas, comparado as outras dietas em questão.

3. O enriquecimento da farinha de mandioca com a farinha de folhas acresce nutrientes suficientes para promover o crescimento e desenvolvimento de forma adequada, sendo considerado um alimento nutritivo do ponto de vista nutricional.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists., St. Paul, 1975.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 16 ed. Arlinton: AOAC International, 1995. Method 967.22.

AGRIANUAL 2006: Anuário da Agricultura Brasileira, São Paulo, p. 357-361, 2005.

AKESON, W.R.; STAHMANN, M.A. A pepsin pancreatic digest index of protein quality evaluation. Journal of Nutrition, 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, v. 11, p. 83-94, 1990.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis. 12ed. Washington, s/n., 1975. 1094p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists. 16. ed. Washington, 1995.

BAHR, K. H., WEISSER, H. SCHEGER, K., Investigations on proteins excreted by the yeast *Hansenula polymorph* and their influence on broth foaminess and cell recovery by flotation. *Enzyme Microbiological Technology*. V. 13, n.9, p. 54-747, 1998.

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.

BLIGH, E. G., DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v.37, n.8, p. 911-917, 1959.

BOBBIO, F. O., BOBBIO, P. A. Química do processamento de alimentos. 2ª ed. São Paulo. Editora Varela, 151p. 1992.

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.

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.

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.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos. 1ª edição, editora da UNICAMP, 212p. 1999.

CEREDA, M., P. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. Manejo, Uso e Tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. cap. 1, p.13-37.(Série Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americanas; v.4)

CHA VAN, J.K.; KADAM, S.S.; GHOMSIKAR, C.P.; SALUNKHE, D.K. Removal of tannins and improvement of in vitro protein digestibility oforghum seeds by soaking in alkali. Journal of Food Science, v. 44, n. 5, p. 1319-1321, 1979.

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).

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).

DEL BIANCHI, V. L. Balanço de massa e de energia do processamento de farinha de mandioca em uma empresa de médio porte. 1998. 118f. Dissertação (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

FABRICAÇÃO de farinha de mandioca. Disponível em: <http://www.engetecno.com.br/tecnologia_farinha_de_mandioca.htm / > Acesso em: 12/abril/2006.

FULLER, H.L.; CHANG, S.I.; POTTER, D.K. Detoxification of dietary tannic acid by chicks. *Journal of Nutrition*, v. 91, p. 477-481, 1967.

GOLDSTEIN, J.L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. *Photochemistry*, v. 2, p. 371-383, 1963.

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.

JERRY F. HARDISTY AND AMY E. BRIX. *Experimental Pathology Laboratories, Inc.*, Research Triangle Park, North Carolina, USA, 2005.

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.

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.

KUMAR, R.; SINGH, M. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 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*, 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*, 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*, v. 54, p. 1620-1623, 1975.

OKE, O.L. Problems in the use of cassava as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 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*, v. 37, p. 712-716, 1989.

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.

SGARBIERI, V.C. *Proteínas em Alimentos Protéicos: propriedades, degradações, modificações*. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SILVA, J. R., VEGRO, C. L. R., ASSUMPCÃO, R., PONTARELLI, C. T. G. A agroindústria de farinha de mandioca nos estados de São Paulo e do Paraná. *Informações Econômicas*, v. 26, n.3, p.69-83, 1996.

SILVA, D.J. *Análise de Alimentos - métodos químicos e biológicos*. Viçosa: UFV, 1990. 165p.

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.

STROHECKER, R.; HENNING, H.M. *Análises de Vitaminas: métodos comprovados*. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

TELES, F.F. Técnicas de liberação do HCN e toxidez cianogênica das mandiocas. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, p. 18-22, jan. 1987.

VASCONCELOS, F.A.G. Indicadores de Consumo Alimentar. In: Avaliação Nutricional de Coletividades. Cap VIII p.115-126 ou 137 p, 2000 ed da UFSC.

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

VIÉGAS, A. P. Estudos sobre a mandioca. Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo, p. 214, 1976.

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).

VILPOUX, O. P. As indústrias de mandioca nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Botucatu: Centro de Raízes Tropicais/UNESP, 1998. 83p.

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.

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

7 APÊNDICE

Tabela 1 - Peso corporal e peso relativo de ratos machos e fêmeas dietas

Grupo	TRATAMENTO				
	Peso fígado (g)	PCI ¹ (g)	PCF ² *(g)	PRF ³ (%)	Ganho de Peso*(g)
A/♂-1	1,34	70,2	380,84	3,3	310,64
A/♂-2	1	75,6	396,65	3,9	321,05
A/♂-3	1,38	64,2	389,71	3,1	325,51
A/♂-4	1,39	53,3	336,84	4,6	283,54
A/♀-1	0,93	50,5	243,37	3,8	192,87
A/♀-2	0,75	88,6	251,19	3,3	162,59
A/♀-3	1,08	82,1	215,96	2,9	133,86
A/♀-4	0,66	74,6	237,48	3,8	162,88
B/♂-1	0,84	69,1	374,92	2,9	305,82
B/♂-2	0,69	61,3	302,9	3	241,6
B/♂-3	0,95	55,2	397,25	3,2	342,05
B/♂-4	1,22	92,4	405,63	3	313,23
B/♀-1	0,84	67,7	221,86	3,6	154,16
B/♀-2	0,77	64,2	220,84	3,5	156,64
B/♀-3	0,87	61,8	219,93	3	158,13
B/♀-4	0,59	59,6	224,85	3,1	165,25
C/♂-1	1,22	69,9	382,42	3,4	312,52
C/♂-2	1,06	70,5	392,82	3,5	322,32
C/♂-3	0,83	62,3	379,03	3,5	316,73
C/♂-4	0,95	65,4	424,92	3,5	359,52
C/♀-1	1,02	59,6	236,2	3,4	176,6
C/♀-2	0,94	58,4	232,78	3,2	174,38
C/♀-3	0,92	56,3	229,41	3,3	173,11
C/♀-4	1,12	64,2	266,2	3,1	202,0

Continuação tabela 1: Peso corporal e peso relativo de ratos machos e fêmeas, submetidos a diferentes dietas durante o período.

Grupo	TRATAMENTO				
	Peso fígado* (g)	PCI ¹ (g)	PCF ² (g)	PRF ³ (%)	Ganho de Peso*(g)
D/♂-1	1,25	76,3	432,32	3,8	356,02
D/♂-2	1,67	71,2	422,03	3,5	350,83
D/♂-3	1,36	77,7	397,67	3,5	319,97
D/♂-4	1,1	72,9	410,27	3,6	337,37
D/♀-1	1,13	68,5	247,98	3,5	179,48
D/♀-2	1,02	60,2	231,1	3,3	170,9
D/♀-3	1,05	66,9	259,91	3,5	193,01
D/♀-4	0,88	86,9	227,12	3,1	140,22
E/♂-1	1,16	61,1	341,37	3,3	280,27
E/♂-2	1,19	75,3	309,76	3,3	234,46
E/♂-3	1,24	68,6	370,64	3,3	302,04
E/♂-4	1,16	89,9	311,24	3,3	221,34
E/♀-1	1,06	91,5	225,81	3,5	134,31
E/♀-2	1,1	75,6	259,12	3,4	183,52
E/♀-3	0,91	62,3	236,84	4	174,54
E/♀-4	1,16	69,8	257,41	4,1	187,61

PCI¹. Peso corpóreo Inicial. PCF². Peso corpóreo Final. PRF³. Peso relativo do fígado.

**Ganho de peso: PCI – PCF

Tabela 2. Valores médios de consumo total de ração dos diferentes grupos experimentais.

Grupo/ Tratamento ¹	Consumo médio de ingestão (g)*
A (DS)	28,75
B (DM)	28,12
C (DM-10%)	28,95
D (DM-20%)	28,70
E (DM-30%)	28,05

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.

*Média de consumo diário por rato.

Tabela 3. Mineralização óssea referente aos animais do sexo masculino.

Grupo/Tratamento ¹	Peso fêmur (g)	Valor Mineralização óssea (g)	Valor retenção (g)
A/♂ (DS)	1,27	1,6	0,33
B/♂ (DM)	0,93	2,0	1,07
C/♂ (DM-10%)	1,01	2,2	1,19
D/♂ (DM-20%)	1,35	2,0	0,65
E/♂ (DM-30%)	1,18	1,95	0,77

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.

Tabela 4. Mineralização óssea referente aos animais do sexo feminino.

Grupo/Tratamento ¹	Peso fêmur (g)	Mineralizacão óssea (g)	Valor retenção (g)
A/♀ (DS)	0,85	2,5	1,65
B/♀ (DM)	0,77	3,0	2,23
C/♀ (DM-10%)	1,0	1,8	0,8
D/♀ (DM-20%)	1,02	2,0	0,98
E/♀ (DM-30%)	1,05	1,85	0,8

¹DS= Dieta sintética, DM= Dieta manufaturada sem adição de folhas, DM 10, 20, 30%= Dieta manufaturada com adição de 10%, 20 e 30% de folhas, respectivamente.