

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOQUÍMICA**

**CONVÊNIO UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO E
UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ**

**ESTUDO DAS VARIEDADES DE MANDIOCAS (*Manihot esculenta* Crantz)
CULTIVADAS NOS MUNICÍPIOS CEARENSES DE ACARAÚ
E MERUOCA**

Mestranda: Doraneide Melo da Justa Feijão

**Orientadores: Prof^a. Dra. Maria da Paz Carvalho da Silva
Prof. Dr. Francisco Franco Feitosa Teles**

Recife, 2003

DORANEIDE MELO DA JUSTA FEIJÃO

**ESTUDO DAS VARIEDADES DE MANDIOCAS (*Manihot esculenta* Crantz)
CULTIVADAS NOS MUNICÍPIOS CEARENSES DE ACARAÚ
E MERUOCA**

Dissertação apresentada para
cumprimento parcial das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Bioquímica pela Universidade Federal de
Pernambuco

RECIFE - 2003

DEDICATÓRIA

Ao Dr. Carlos Rolim Martiniano
(*in memoriam*), saudoso amigo, que soube cultivar a essência da vida no seu intenso aspecto, soube amar o próximo, mandamento divino e difícil de se cumprir.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que na sua infinita bondade, foi bálsamo para minhas dores, o conforto para as minhas atribulações e a força que me fez transpor as pedras do meu caminho. Obrigado Senhor.

A Professora Maria da Paz Carvalho da Silva, pela sua dedicação profissional ao Curso de Bioquímica. Como orientadora, sabe valorizar a pesquisa científica.

Ao Professor Francisco Franco Feitosa Teles, pela magnífica orientação e apoio nas análises de Ácido Cianídrico e Taninos.

A Coordenadora do Curso de Bioquímica Professora Vera Lúcia Menezes Lima pela sua contribuição ao Curso.

Ao amigo, Roberto Sá e amiga Elayne Vírginia, pela colaboração durante os experimentos no laboratório de Enzimologia do Departamento de Bioquímica da UFPE.

Ao técnico de laboratório Albérico Real, por disponibilizar todos os equipamentos e espaço físico dentro do Laboratório.

Ao amigo e secretário em exercício do Curso de Mestrado em Bioquímica da UFPE, José Myron de Oliveira, pela seu desempenho profissional no decorrer do curso.

Ao sempre Secretário Djalma Gomes da Silva, pela sua dedicação ao Curso de Bioquímica e prestimosidade aos alunos.

Aos colegas do Curso: Ana, Brígida, Débora, Ana Mary e Valéria, que em alguns momentos foram de um estímulo fundamental e de uma convivência bastante agradável.

Aos meus filhos, Davi, Regina e Daniel pela sua agradável presença na minha vida.

Ao Fernando, companheiro, amigo, ouvinte, que em muitos momentos foi fundamental suas palavras de incentivo e apoio durante o Curso.

Ao Professor Manoel Feijão pelas lições de vida que fizeram transpor obstáculos nessa jornada.

Ao cunhados, Antônio, George, Otávio e Rui Feijão pelo apoio e incentivo nesta pesquisa.

Ao Magnífico Reitor da Universidade Estadual Vale do Acaraú, Professor José Teodoro Soares, um grande homem, a quem dedico admiração, por seu espírito empreendedor e por não limitar suas aspirações.

Ao Diretor do Centro de Ciências da Saúde, Professor Gerardo Cristino Filho pelo incentivo profissional.

Aos professores do Curso de Enfermagem de Sobral que direta ou indiretamente contribuíram para os resultados positivos deste curso.

Ao Secretário de Saúde de Sobral, Dr. Luiz Odorico Monteiro, o meu agradecimento sincero pelo seu apoio.

Ao Diretor financeiro da FUNCAP Professor José Vitorino de Sousa, pelo incentivo financeiro.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura química da linamarina e lotaustralina.	5
FIGURA 2 – Estrutura química de Taninos	7
Trabalho	
FIGURE 1 – Percentage of dry matter in the cassava samples	23
FIGURE 2 – Thin layer chromatography of the cassava samples and Standards.	26

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Physical properties of six varieties of cassava	22
TABELA 2 – Determination of hydrocyanic acid (HCN) in samples	24
TABELA 3 – Total and reducing sugars contents in six varieties of cassava	25
TABELA 4 – Content of glucose in the cassava samples determined by HPLC	27
TABELA 4 – Content of glucose in the cassava samples determined by HPLC	28

RESUMO

Nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento as calorias originárias de carboidratos como arroz e raízes tuberosas, cereais, legumes e verduras são mais acessíveis que carnes, ovos, aves, laticínios, os quais são ricos em proteínas e gorduras. A mandioca representa a principal fonte de carboidratos da alimentação humana na região Norte e Nordeste. Seis variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) originadas de dois municípios cearenses, Meruoca (03) e Acaraú (03) foram estudadas sob diferentes aspectos, quanto a: 1) conteúdo de ácido cianídrico (HCN) foi analisado pelo método de VOLHARD, adaptado por TELES, 2) produtividade foi avaliada pelo método de secagem à peso constante á 65°C; 3) conteúdo de carboidratos totais foi analisada pela metodologia de DUBOIS, e redutores pelo método de BERNFELD, 4) conteúdo de taninos foi quantificado de acordo com a metodologia de BATE-SMITH. Os resultados mostraram que das seis variedades, exceto uma, do município de Meruoca (Milagrosa) apresentou-se não tóxica (HCN = 43mg/kg), as outras cinco tiveram valores de HCN entre 60 e 150mg/kg o que já mostra um certo grau de toxicidade. Os dois municípios tem uma excelente produção de mandioca, pois as variedades Milagrosa (Meruoca) e Guarani (Acaraú) apresentaram mais de 40% de matéria seca. Todas as variedades apresentaram quantidades bastante significativas de carboidratos, sendo que a variedade Geraldo Lopes (Acaraú) mostrou que praticamente todo o carboidrato encontrado é redutor. O teor de taninos encontrado nas amostras de mandioca foi relativamente pequeno em torno de 25 mg/g de matéria seca.

ABSTRACT

In the undeveloping countries or in countries in development, calories from carbohydrates such as: rice, tuber roots, cereals and vegetables are more accessible than meat, eggs, bird and milk derivatives, which are rich in protein and grease.. Cassava is the main source of carbohydrates in the human diet in the North and Northeast region of the Brazil. Six varieties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) from two towns Meruoca (Cruvela, Milagrosa e Camila) and Acaraú (Fragosa, Geraldo Lopes e Guarani) in the State of Ceará were studied under different aspects. They were evaluated as regards: 1) hydrocyanic acid content, were analysed by VOLHARD method modified by TELES. 2) production, were available by drying constant weigh at 65°C. 3) total sugars were analysed by DUBOIS, method, and reducing carbohydrates, were analysed by BERNFELD, method. 4) tannins content were estimated with BATE-SMITH methodology. The results showed that only one cassava variety, from Meruoca town, did not present toxicity (HCN = 43mg/kg). Both towns are excellent cassava producers because Milagrosa variety (from Meruoca) and Guarani variety (from acaraú) presented more than 40% of dry matter. All the varieties presented high content of carbohydrates, however Geraldo Lopes variety (from Acaraú) showed that practically all the carbohydrates found are reducing sugars. Tannins content found in the cassava samples was around 25 mg/g of dry matter which is permitted for human consumption.

ÍNDICE ANALITICO

Agradecimentos	iii
Lista de Figuras	Iv
Lista de Tabelas	Vi
Resumo	Vii
Abstract	Vii
1. Introdução	1
2. Justificativa	11
3. Objetivos	12
3.1 Geral	12
3.2 Especificos	12
4. Referências Bibliográficas	13
Trabalho: Study the varieties of cassava cultivate in cearenses countries	17
Resumo	18
Abstract	18
1. Introdution	19
2. Material and Methods	20
3. Results e Discussion	23
4. Conclusion	30
5. References	30
Conclusões	32
Anexos	33

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais

A maioria dos carboidratos encontrados na natureza ocorre como polissacarídeos e são polímeros de alto peso molecular. Os polissacarídeos diferem entre si na identidade das suas unidades monossacarídicas e nos tipos de ligação que os une, no comprimento de suas cadeias e no grau de ramificação das mesmas. Eles podem ser classificados em homopolissacarídeos que contém apenas um tipo de unidade monomérica e heteropolissacarídeos que contém dois ou mais tipos de unidades monoméricas (LEHNINGER, 2001).

O amido da mandioca e seus derivados, é também conhecido por fécula, polvilho ou goma seca, sendo considerado a substância nobre da raiz de mandioca, com a qual se obtêm vários produtos industriais, sendo também empregado puro em outras tantas indústrias e na alimentação humana (ABAM, 2002).

1.2. Valor Nutritivo

Nutrientes como proteínas, carboidratos, gorduras, minerais, vitaminas e água, são os principais compostos químicos contidos nos alimentos, que associados exercem funções específicas. Os carboidratos contribuem com o fornecimento energético para o homem que varia de 50% a 80% das calorias da alimentação, dependendo da região ou país (BURTON, 1995).

Nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento as calorias originárias de carboidratos como arroz e raízes tuberosas, cereais, legumes e verduras são mais acessíveis que carnes, ovos, aves, laticínios, os quais são ricos em proteínas e gorduras (BURTON,

1995). A mandioca representa a principal fonte de carboidratos da alimentação humana na região Norte e Nordeste do Brasil (TELES, 2000).

FRANCO (1998) afirma que 100 gramas de farinha de mandioca fornecem 342 calorias e 100 gramas da mandioca fresca cozida fornecem 119 calorias. Considera-se que a variação de matéria seca das raízes de mandioca entre 30% a 40% é alta quando comparada com outros tubérculos. Outro componente muito importante contido na mandioca, são as fibras, cerca de 1.0g/100g. As fibras desempenham um papel muito útil na dieta humana, assim sendo, sua utilização deveria ser recomendada para evitar transtornos digestivos que poderiam ser corrigidos com alimentação rica em fibras. O conteúdo desta depende de vários fatores como variedade e idade da planta no período de colheita, o solo e o clima.

O amido e os carboidratos solúveis são os componentes predominantes da matéria seca, atingindo até 90%. O amido das raízes tuberosas da mandioca contém 20% de amilose e 80% de amilopectina BALAGOPALAN, (1995).

É justamente na indústria amilífera que mais se exige as qualidades da matéria prima de mandioca, visto que o produto final deve ser apresentado sob a forma mais pura possível. O amido é acumulado nas células do parênquima de reserva da raiz, fazendo parte do protoplasma juntamente com outros componentes proteínas, outros carboidratos, lipídeos, taninos, etc. Assim, mais que outra utilidade industrial da mandioca, o processamento deve ser feito, preferivelmente em 24 horas após a colheita da raiz para evitar a deteriorização resultante da presença de substâncias tânicas. (ABAM, 2002).

A agricultura de subsistência é a única forma de manter o homem no campo, e dele retirar seu sustento. As adversidades climáticas, a fertilidade dos solos, muitas vezes associadas a práticas seculares de conservação, faz com que

variedades se tornem inadequadas por não corresponderem no final a uma produção satisfatória (WATERMAN, 1994).

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), é de fácil cultivo, por conseguinte de baixo custo. Resistente a regiões semi-áridas e como produto rico em carboidratos solúveis e amido, está presente na alimentação da população de baixa renda com alto consumo (LANDIM, 1993).

Associação brasileira de produtores de mandiocas (2002) afirma existir distinção entre diferentes níveis de produção de mandioca. O Nordeste não pode ser comparado com o potencial tecnológico do Sul. A produção da região Central é de 30%, Região Sul 50% e Regiões Norte e Nordeste 20%.

A qualidade protéica das raízes tuberosas da mandioca é baixa, em função da quantidade de aminoácidos existentes. Os aminoácidos sulfurosos metionina, cistina e cisteína são os aminoácidos limitantes da mandioca. Cerca de 60% do total de nitrogênio derivam dos aminoácidos das proteínas, 1% vem dos nitratos, nitritos e ácido cianídrico (HCN). O restante de 38 a 40% permanecem não identificados (COCK, 1985 ; BALAGOPALAN, 1988).

LANDIM (1993), menciona que somente 50% do nitrogênio total deriva das proteínas das folhas, e o restante existe na forma de aminoácidos livres como o ácido aspártico e glutâmico. Os níveis de lisina e triptofano das proteínas da mandioca são elevados.

Segundo pesquisas conduzidas por TELES *et al* (1985) a fração lipídica da mandioca na raiz é composta de ácidos graxos saturados (mirístico, palmítico e esteárico) e ácidos graxos insaturados (linoleico e linolênico). O teor de ácidos graxos saturados na mandioca, mesmo sendo muito pequeno, ainda é maior que na batata.

De acordo com BALAGOPALAN *et al* (1995), o conteúdo de minerais é maior na película externa que na interna da casca e córtex. A quantidade de cálcio na raiz tuberosa (casca e polpa) varia entre 15 e 129 mg/100 gramas. No entanto, a quantidade de fósforo é uniforme em toda raiz tuberosa. Apesar do baixo teor de vitamina C, a tiamina, riboflavina e niacina são significativos.

1.3. Toxicidade

Os alimentos além dos nutrientes, contêm quantidades de compostos químicos que possuem propriedades deletérias ao organismo humano, portanto, é importante conhecê-los e identificar a quantidade presente destes a fim de poder controlá-los (WOGAN, 1985).

Os aditivos, as contaminações de natureza química e as substâncias tóxicas naturais são os principais problemas de ordem toxicológica encontrados nos alimentos (CHEFTEIL *et al.*, 1989).

A toxicidade de uma substância é considerada em relação à dose, assim sendo não se diferenciam grupos tóxicos e não tóxicos, a diferença está na quantidade do conteúdo; as intoxicações podem ser agudas a curto prazo ou crônicas a longo prazo. A toxicidade da mandioca e derivados pesquisada por vários autores está associada à presença de ácido cianídrico, resultante da hidrólise dos glicosídeos cianogênicos: a linamarina e lotaustralina na proporção de 96% e 4%, respectivamente (CARVALHO, 1994).

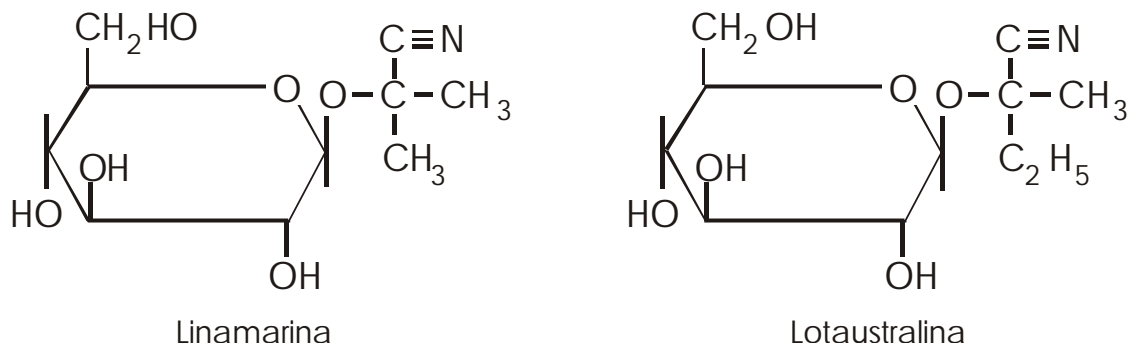
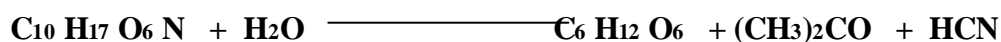


Figura 1- Estrutura química da linamarina e lotaustralina (LANDIM,1993).

A linamarina em contato com ácidos e enzimas dos sulcos digestivos se hidrolisa formando ácido cianídrico (HCN), glicose e acetona. O HCN pode ser liberado através da hidrólise catalisada pela enzima linamarase existente na própria planta.

Linamarase



Segundo CARVALHO (1994) o contato enzima-substrato pode ser de natureza fisiológica ou provocado. O tipo de envenenamento provocado pelo HCN pode ser violento dependendo da quantidade ingerida ou inalada. Em alguns países, como os Estados Unidos, o HCN foi usado nas câmaras de gás para execução de prisioneiros condenados à morte (GONSALVES *et al*,1956).

Com a ingestão ou a inalação de ar contaminado haverá uma inibição de grande número de enzimas, principalmente a oxidase terminal da cadeia respiratória causando sérios riscos à saúde. Entretanto, a grande preocupação dos órgãos de saúde é com a intoxicação crônica do HCN proveniente do consumo de variedades tóxicas, principalmente quando a raiz

é mal processada, ocasionando inclusive o Konzo (*paraparesis espástica não progressiva*), (TELES, 2000).

A classificação da mandioca segundo LANDIM (1993) se deve principalmente ao teor de HCN que sugere a escala abaixo:

Menos de 50 mg de HCN por kg de raiz fresca – Não venenosa

De 50 a 80 mg de HCN por kg de raiz fresca - Pouco venenosa

De 80 a 100 mg de HCN por kg de raiz fresca – Venenosa

Acima de 100 mg de HCN por kg de raiz fresca – Muito venenosa.

1.4. Doenças Associadas ao Consumo:

A exposição a glicosídeos cianogênicos na dieta humana devido ao consumo de mandiocas mal processadas, tem contribuído para problemas endêmicos em áreas rurais da República do Kongo (Zaire) onde as análises antropométricas revelam retardo em crianças de Bandudu (TYLLESKAR *et. al.*, 1994, 2000).

A mais grave forma de intoxicação a longo prazo é classificada como Konzo, ou seja, paralisia dos membros inferiores, que ocorre pelo acúmulo de HCN no organismo humano, relacionada à dieta com mandiocas tóxicas mal processadas (TYLLESKAR *et al.*, 1994). Os glicosídeos cianogênicos, através do metabolismo secundário, surgem como produtos naturais de plantas, estes compostos são alfa hidroxinitritos, tipos de aglicona e açúcar (D-glucose) (LANDIM, 1993).

Síndromes neurológicas associadas ao cianeto têm sido relatadas na África como doenças neuro-motoras, tais como: Konzo e Neuropatia Atáxica Tropical (TAN) na Nigéria, as quais são atribuídas a causas tóxicas nutricionais (OLUWOLE *et. al.*, 2000).

Outros componentes importantes encontrados na mandioca são os taninos, substâncias orgânicas não nitrogenadas com fortes propriedades adstringente, solúveis em água e não solúveis em álcool, que expostas ao ar tornam-se escuras e perdem sua eficácia. Os taninos, pelo seu poder antioxidante, devido a sua natureza aromática (figura 2), concretamente ácidos fenólicos e flavonóides têm uma grande capacidade de proteger as lipoproteínas LDL da oxidação, inibindo o mal colesterol, que uma vez oxidado passaria a formar placas de ateroma nas artérias (VAL, 2002).

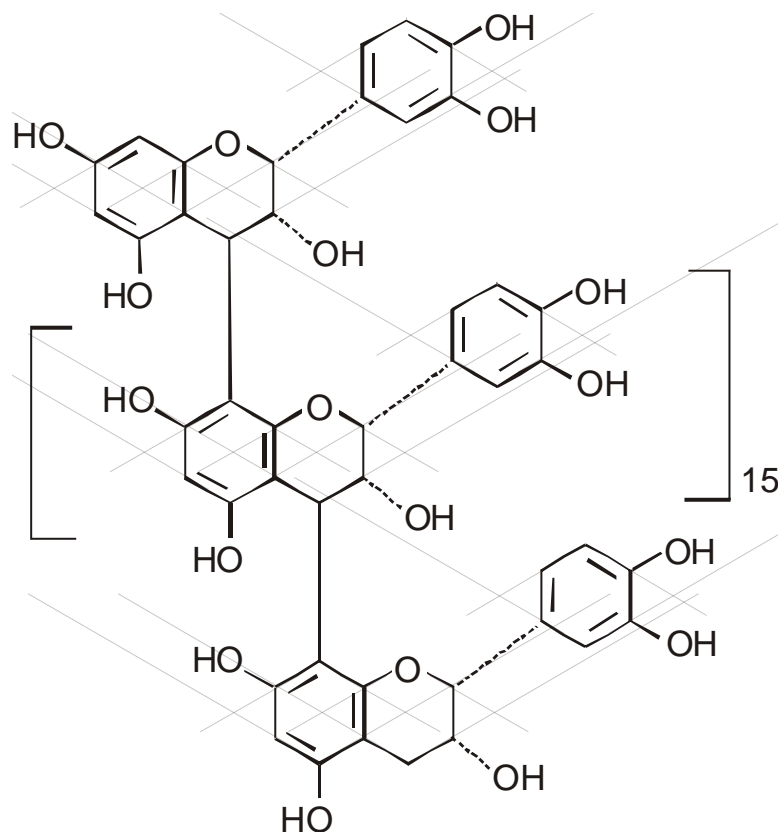


Figura 2 - Estrutura química de taninos (Hagerman, 1998)

Os taninos são geralmente incluídos num grupo de substâncias que têm propriedades físicas e químicas em comum; para sua definição, é necessário considerar os caracteres físico-químicos essenciais, dada as propriedades necessárias aos taninos (BIANCO & SAVOLAINEN,1997).

BATE-SMITH (1977) definiu os taninos como toda substância natural com propriedades físicas e químicas, solúveis em água como os compostos fenólicos, com peso molecular entre 500 Da a 3000 Da. Conferindo-lhes uma reação usual dos fenóis, como a capacidade de precipitar alcalóides, gelatinas e outras proteínas.

A atividade biológica dos taninos tem diversos efeitos nos sistemas, são em potencial íons metálicos, agentes precipitantes de proteínas e antioxidantes biológicos (CONDE *et. al.*, 1995).

Alguns dos efeitos benéficos no consumo moderado de vinho pode ser relacionado as propriedades antioxidantes de compostos fenólicos contidos nos taninos, como flavonóides e ácidos fenólicos. A ação celular desses compostos está relacionada à modelação e transcrição de fatores como AP1 (Ativador da Proteína 1), o qual controla a expressão de vários gens implicados nos processos inflamatórios, diferenciação celular e proliferação, sua atividade previne a oxidação das LDL nas artérias envolvendo alguns processos de arteriosclerose (MAGGI-CAPEYRON *et. al.*, 2001).

A ação antibacteriana de vários taninos na coagulação do plasma por *Streptococcus aureus*, foi comprovada pelo método de MUELLER-HINTON, com ácido tânico (100 mg/L) reduzindo à 10% o crescimento das colônias contendo oxacilina (AKIYAMA *et. al.*, 2001).

A inibição da peroxidação de lipídeos contribui para atenuar o acúmulo de colesterol na formação de células esponjosas e arteriosclerose. A atividade de uma fração de taninos pode suplementar a deficiência da Apolipoproteína E, (KAPLAN *et. al.*, 2001).

O consumo de sucos ricos em taninos tem mostrado ação antioxidante, esta atividade pode ser observada *in vitro*, como redução da pressão arterial atenuando os processos de arteriosclerose e, conseqüentemente, protegendo de doenças cardiovasculares (AVIRAM & DORNFELD, 2001).

A diferenciação de taninos em vegetais reside na sua concentração e aplicação *in vivo e in vitro*. *In vitro*, a inibição de indução revertida da oxidação das lipoproteínas de baixa intensidade (LDL), tem tido resultados positivos. Os efeitos antioxidantes são extremamente benéficos e; *In vivo*, no caso dos taninos em mandiocas pode ser considerado tóxico ao consumo humano, especialmente em relação as folhas e caule da planta onde essa concentração está indicada para consumo animal. Diferentemente da raiz, onde essa concentração é baixa, pois 90% da raiz é considerada amido e os 10% restantes são destinados a outros compostos como: proteínas, lipídeos ácidos graxos, fenóis, incluindo neste grupo os taninos (WATERMAN,1994).

Segundo o Centro de Investigação Biomédicas (2001), os taninos de diferentes espécies vegetais, a prevenção do fotoenvelhecimento e a utilização de algumas substâncias naturais, especificamente estruturas de polifenóis como as catequinas oligoméricas e flavonóides, tem demonstrado ser uma fonte de proteção para o organismo. São reconhecidas suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, fotoprotetoras, assim como inibidores de proteases como a elastase. Essas substâncias são capazes de prevenir transtornos que conduzem a mutações cutâneas provocadas pela radiação ultravioleta; por causa, fundamentalmente, da

poluição ambiental e o desgaste da camada de ozônio. Em estudos recentes com *Escherichia coli*; observou-se que os taninos de algumas espécies de vegetais são capazes de proteger as bactérias contra os danos das radiações ultravioleta, o que coincide com uma boa atividade antioxidante (REED, 1995).

2. JUSTIFICATIVA

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), como produto altamente consumido principalmente em áreas rurais de baixa renda, em alguns países subdesenvolvidos é a única fonte de carboidrato acessível à população, por se tratar de uma planta resistente ao semi-árido e de fácil cultivo.

A mandioca possui além dos carboidratos, componentes tóxicos, que se consumidos por humanos, pode levar a intoxicação; entre estes podemos citar o ácido cianídrico (HCN) e os taninos, dependendo da concentração encontrada.

Em países como a África e Nigéria, o consumo diário de mandioca chega a atingir 1 kg “per capita”. Devido o consumo de mandiocas tóxicas mal processadas, doenças neuromotoras como o Konzo, Neuropatia Atáxica Tropical (TAN), bócio endêmico, pancreatite, miocardite e retardo mental, estão sendo atribuídas ao consumo de mandiocas mal processadas, as quais são provocadas a longo prazo por glicosídeos cianogênicos .

No Brasil, 03 casos de Konzo foram identificados, 01 pelo Hospital Sarah Kubtcheck em Brasília e 02 em agricultores residentes no município de Barbalha-CE. Esse fato nos levou a estudar variedades de mandiocas em dois municípios que produzem boa parte de farinha de mandioca e derivados consumidos na zona norte do Ceará.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

- Estudar os principais componentes toxicológicos (ácido cianídrico e taninos) e nutritivos (carboidratos) nas 06 variedades de mandioca cultivadas nos municípios cearenses de Acaraú e Meruoca.

3.2. Específicos

- Identificar os cultivares de mandioca da região através das seguintes características: cor, formato, comprimento, diâmetro, peso.
- Determinar os teores de HCN encontrados nas raízes dos cultivares estudados.
- Caracterizar química e físico-quimicamente os carboidratos encontrados nas variedades de mandioca estudadas.
- Determinar os teores de taninos encontrados nas amostras.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAM: Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca, Processo de Fabricação, **Boletim Informativo**,2002.

AKIYAMA, H; FUJII, K; YAMASAKI, O. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. **J. Antimicrob Chemother**, 48 (4) 487-91.2001.

AVIRAM, M; DORNFELD, L. Promegenate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. **Atherosclerosis; The Rappaport Family Institute for Medical Sciences** .158(1) 195-8, 2001.

BALAGOPALAN, C. ; PADMAJA G. ; NANDA, S. K. et al. **Cassava in food, feed and industry**. Boca Raton : CRC , 1988. p. 59-70.

BALAGOPALAN, C. Effect of protein supply in cassava root meal based on diets. **Research for Rural Development**. V.7 , N.2, 1995.

BATE-SMITH, E. C. Astringent tannins of Acer species. **Phytochemistry** v. 16, 1421-1426, 1977.

BIANCO, M. A.; SAVOLAINEN, H.*et.al.*; Phenolic acids as indicators of wood tannins. **Science of the Total Environment**. 203: (1) 79-82, 1997.

BURTON, B. T. **Nutrição humana**; São Paulo ; McGrau – Hill do Brasil 1995. 606 p.

CARVALHO, L. E. Níveis de raspa integral de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em rações de suínos. **Dissertação de Mestrado**. 1994. 70 p. Fortaleza-CE. UFC

Centro de Investigação Biomédicas:**Instituto Superior de Ciências y Tecnologias**

Nucleares: Boletim Informativo, Ver Cubana Invest Biomed, 2001;(1):16-20.

CHEFTEL, J. C.;CHEFTEL , H.; BENSANÇON, P. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos.** Espanha: Acribia/Zagoza. 1989.

CONDE, E; CADAHIA, E.; GARCIA-VALLEJO, M. C. A chromatographic method for analysis of oak wood tannins. **Chromatography** 41:657-663.1995.

COCK, J. H.; Cassava: new potential for a neglected crop. Boulder / London: **westview.**1985. 191 p.

FRANCO, G, **Tabela de composição química dos alimentos.** Ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p. 175-223.

GONSALVES, P. E.; GRINBERG, M.; SILVA, O. R. Intoxicação por cianeto (mandioca brava) em pediatria. **Revista Hospital das Clínicas**, São Paulo, v.11, nº 4, p. 261-271, Out.1956.

HAGEMAN, A. E. **Tannin Purification.** Tannin Chemistry Home Page.1998

KAPLAN, M.; HAYEK, T.; RAZ, A.; COLEMAN, R. Pomegrate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis. **J. Nutri.** 131(8) 2082-9, 2001.

LANDIM, M. C. Propriedades bioquímicas e tecnológicas de macaxeiras (*Manihot esculenta* Crantz) visando o consumo após congelamento. **Dissertação de Mestrado.** 79 p. 1993. UFC/ Fortaleza-CE.

LEHNINGER, A L. **Princípios de Bioquímica** 4ª Edição. Editora São Paulo:SARVIER.(2001)

MAGGI-CAPEYRON, M F; CEBALOS, P. ; CRISTOL, J. P. Wine phenolic antioxidants inhibit AP 1 transcriptional activity. **J. Agric. Food Chem**; 49: (11) 5646-52, 2001.

OLUWOLE, O. S.; ONABULU, A. O.; LINK, H.; ROSLIN, H. Persistence of tropical ataxic neuropathy in a Nigerian community. **J. Neurol Neurosurg Psychiatry**; 69 (1): 96-101, 2000.

REED, J. D. (1995) – Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **J. Anim. Sci.** 73:1516-1528.

TELES, F. F. F., BORGES S.V. E L., MAIA, G. A. , GASPAR JR,*et al.*; Hydrocyanic acid and digestible carbohydrates in tem new cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Introduced in the state of Ceará, Brazil. **Revista Ceres**, 40 (228):196- 202, 1993.

TELES, F. F. F. Konzo :Doença da escassez. **Essentia**, Vol. 2.Nov. 2000.

TYLLESKAR, T.; LEGUE, F D.; PETERSON, S.; KPIZINGUI, E Konzo in the Central África República. **Neurology**;44 (5)959-61, 1994.

TYLLESKAR, T.; MKUMBURA, J. ; GEBRE_MEDIN, M. Low dietary cyanogen exposure from frequent consumption of potentially toxic cassava in Malawi. **Int. J. Food Sci. Nutri**; 51 (1):33-43, 2000.

VAL, M. Vino tinto, taninos y buena salud. **Revista Gastronômica**, 2002.

WATERMAN, P. G. **Analysis of phenolic plant metabolites**, Blackwell Scientific Publications. London. 1994, 238 p.

WOGAN, G. N. Componentes indeseables, reales o potenciales de los alimentos. In : FENNEMA, O. R. **Introducción a la ciencias de los alimentos**. Barcelona : Reverté,1985. v. 2, 918 p. p. 601-627.

**TRABALHO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA
REVISTA CERES /UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA/ MG**

The Study of the Six Varieties of Cassava from Two Cities in the Northeast of Brazil.

D. M. J. Feijão¹, E.V.M. Souza², R. A Sá³; F.F.F. Teles^{1,4} & M. P. C. Silva⁵.

¹Departamento de Bioquímica/ ²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFE), Cidade Universitária, CEP 50.670-901, Recife, PE, Brazil/

³Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), Sobral-CE, Brasil.

Key words: cassava, toxicity, hydrocyanic acid, tannins, carbohydrates.

Resumo

Seis variedades de mandioca originadas de dois municípios cearenses, Meruoca e Acaraú, foram estudadas. Cinco delas mostraram-se tóxicas, com teor de ácido cianídrico (HCN) entre 60 e 150 mg/kg, exceto uma, na qual foi encontrado 43 mg/kg de HCN. Em todas as variedades foi observado que o açúcar predominante é a glicose. Os dois municípios mostraram excelente produtividade, apresentando variedades de mandioca com mais de 40% de matéria seca. O conteúdo de taninos encontrados nas amostras (cerca de 25 mg/kg) não afeta o consumo humano.

Abstract

Six cassava varieties from two towns in the Ceará State were studied. Five of them presented toxicity with HCN content between 60mg/kg and 150 mg/kg, except one which presented content of HCN below the toxic value (43 mg/kg). All varieties presented glucose as predominant carbohydrate. The production of cassava was similar for the two towns where cassava varieties came from. Tannins content found was around 25 mg/kg which did not provoke toxicity.

Autor for correspondence (Fax:558132718485); E-mail: mariapaz@hotlink.com.br

1. Introduction

In underdeveloped or in development countries the calories from carbohydrates such as: rice, tuber roots, cereals and vegetables are more accessible than meat, eggs, bird, milk and derivatives which are rich in protein and fat (4). Cassava (*manihot esculenta* Crantz) is easy to cultivate, of low cost, resistant to dry region and like a product rich in soluble carbohydrates and starch in present in food of poor people with high consumption (12). Cassava represents the main source carbohydrates in the human food in the North and Northeast region of the Brazil (14). Starch and soluble carbohydrates are the predominant components in the dry matter, reaching up to 90% (1). The additives, chemical contamination and the natural toxic substances are the main problem of toxicological order found in the food (8). The toxicity of cassava and derivatives studied by several authors is associated to the presence of hydrocyanic acid (HCN) resulting from hydrolysis of the cyanogenic glycosides: linamarin and lotaustralin in the ration of 98% and 4%; respectively (5). The most serious form of intoxication is called Konzo, that leads to a neurological damage as well as Tropical Ataxic Neuropathy (TAN), which are associated to cyanide intoxication and they have been related in many countries of Africa as motor neuron disease (15). In Brazil three cases of Konzo were confirmed by consumption of wild cassava (6). Tannins are other components found in cassava. They are basically phenolic acids and flavonoids with antioxidant action which make them able to protect the lipoproteins LDL from oxidation, inhibiting the bad cholesterol that since oxidized form atheroma plates in the arteries (16). The biological activity of tannins have a several effects in the organic systems such as: potent metal ions, precipitant agents of proteins and biological antioxidant (9).

2. Material and Methods

2.1 Material

Six varieties of cassava were obtained from two towns in the Ceará State. Three of them from Meruoca (Cruvela, Camila and Milagrosa) and the other three from Acaraú (Fragosa, Geraldo Lopes and Guarani).

2.2 Methods

2.2.1 Preparation of cassava samples

Raw-Extract

The raw-extract was obtained from the cassava roots of each variety. For 20 g of cassava to grated, 100 mL of water was added, agitated in water bath at 65°C for 2 hours. After the material was centrifuged at 1.460 g for 30 minutes and supernatant used for assay.

Dry matter samples

Dry matter of cassava samples were obtained by triturate, them and drying at 65°C for 30 hours (at constant weight).

Samples preparation for tannins

To 10 g of dry matter of cassava 100 mL of water was added. The material was placed to reflux for 2 hours, cooled and, filtered through glass wool .

2.2.2 Determination of hydrocyanic acid

The toxicological aspect was evaluated by the WOLHARD method modified by (14).

2.2.3 Determination of dry matter

By the drying process up to constant weight all the samples were exposed to drying in the stove for 30 hours.

2.2.4-Determination of total carbohydrates

Total carbohydrates were determined according method described (10) using glucose as standard.

2.2.5-Determination of the reducing sugar

Reducing sugars were estimated according (3) using dinitrosalicylic acid as reagent and glucose as standard.

2.2.6 Hydrolysis of the samples

Cassava samples were hydrolysed using concentrated hydrochloric acid (100 μ L) for 1 hour at 100°C.

2.2.7 Thin layer chromatography (TLC)

Thin layer chromatography was carried out according (7), in a view to detect the sugars constituent of the cassava samples (raw-extract and hydrolysed). Glucose, fructose and sucrose were used as standards.

2.2.8 High performance liquid chromatography (HPLC)

Samples (six varieties of cassava) and standards were analysed by HPLC under the following conditions

Column: Polaris NH2 5 (and 250 x 4.6 cm)

Mobile phase: Distilled water

Injection volume: 20 (1)

Flow rate: 1 mL/min

Detector: refractive index

The contents of glucose in each cassava sample estimated based on a glucose standard curve carried out by using HPLC.

2.2.9 Determination of tannins

Tannins content were determined according to (2) method, using tannic acid as standard. Samples were prepared by grinding 10g of cassava with 100 mL of water and an aliquot (4 mL) of each cassava variety was taken for the assay.

2.2.4 Results and discussion

The physical properties analysed in the six cassava varieties showed the form, length, weight, diameter and color. It was observed, in the Table 1, that the varieties cultivated in Acaraú town presented high weight, between 1.667 at 2.096 kg in the root, however only one variety cultivated in the Meruoca town (Cruvela) weighted 2.530 g. This fact can be attributed to the dry climate region which probably is the best for roots developing.

Table 1. Physical properties of six varieties of cassava

Cassava Samples	Form	Weight (Kg)	Length (mm)	Diameter (mm)	Color	(FI) (mm)
Cruvela	Piriform	2.530	340	149	brown	0,438
Camila	Piriform	1.062	340	80	brown	0,235
Milagrosa	Cylindrical	1.060	247	104	gray	0,421
Fragosa	Cylindrical	2.096	497	99	brown	0,199
Geraldo Lopes	Piriform	1.984	400	12	brown	0,030
Guarani	Cylindrical	1.667	420	110	gray	0,261

*Diameter/length = FI

By the drying process up to constant weight all the samples were exposed to drying in the stove for 30 hours. Figure 1 shows the percent of the dry matter in the cassava samples. It can be seen that only one sample from Meruoca Town and another one from Acaraú Town presented their weights higher than 40% which is considered the best final product for farmers. According to (11) 100g of cassava flour give 342 calories and 100g of cooked fresh cassava give 119 calories. It is considered that the dry matter variation of the cassava roots between 30% to 40% is high when compared to the other roots. The dry matter content depend on the several agents such as: variety, plant age in the crop period, soil and weather.

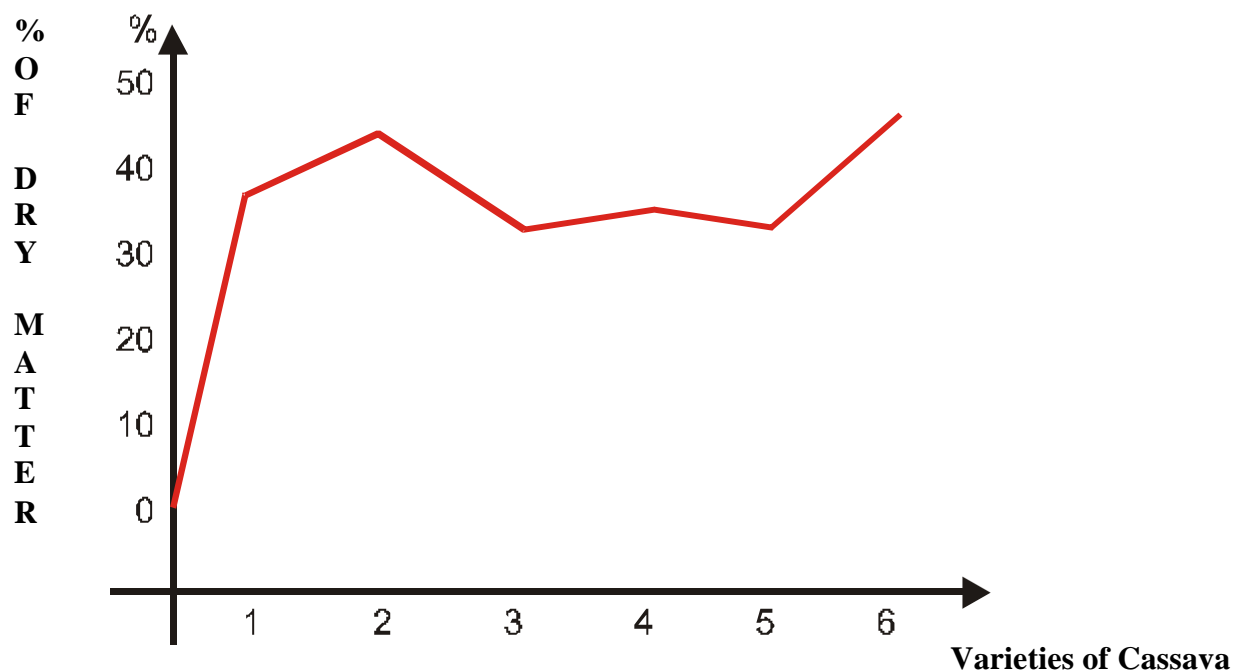


Figure 1. Percentage of the Dry Matter (DM) in the cassava samples.

1) Cruvela 38%; 2) Milagrosa 44%; 3) Camila 32%; 4) Fragosa 37%; 5) Geraldo Lopes 34%; 6) Guarani 45%.

The toxicological aspect was evaluated by the VOLHARD method modified (14). From the six varieties of cassava samples analysed, only Milagrosa sample presented a value considered no toxic (12). However the HCN values found for the others are related to a few toxic and very toxic (Table 2). Hydrocyanic acid is considered to be dangerous, but this can be lost by hydrolysis at temperature above 21°C. Therefore the HCN can be removed by the adequate preparation of cassava (14).

Table 2. Determination of hydrocyanic acid (HCN) in the samples

Cassava Samples	HCN (mg/kg)
CRUVELA	147
MILAGROSA	43
CAMILA	97
FRAGOSA	62
G. LOPES	163
GUARANI	113

Carbohydrates contribute with the energy supply for human at a range from 50% to 80% of food calories and depend on the region or country (4). Starch and soluble carbohydrates are the predominant components of the dry matter reaching up to 90%. All the cassava varieties studied presented total sugars. In the Geraldo Lopes variety practically all carbohydrate was reducing sugar. Moreover, after 1 h of hydrolysis at 100°C the some sample presented a lowest concentration of reducing sugar in comparison to the other samples. Also, samples with high weight are the ones that present the highest content of total sugar (Table 3)

Table 3. Total and Reducing Sugars contents in six varieties of cassava

Cassava Samples	Total sugars (mg/mL)	Reducing Sugars Before hydrolysis (mg/mL)	Sugar After 60 min of hydrolysis (mg/mL)
Cruvela	5,2	2,2	29
Camila	3,4	2,0	21
Milagrosa	4,4	1,7	26
Fragosa	6,1	1,9	34
Geraldo Lopes	2,5	2,8	14
Guarani	2,8	1,0	25

Thin layer chromatography of the cassava samples revealed that glucose was the predominant sugar found in all of them (Figure 2)



Figure 2. Thin Layer Chromatography of Cassava Samples and Standards.

**A) Cruvela; B) Milagrosa; C) Camila; D) Fragosa; E) Geraldo
Lopes; F) Guarani.**

Glucose content in the cassava samples estimated by High Performance Liquid Chromatography is presented in Table 4. It is observed the high amount of glucose in almost all cassava varieties except the one from Acaraú Town (Guaraní). Nevertheless, the highest content of glucose was found in the sample (Fragosa) which also presented the highest content of total sugars.

Table 4. Content of glucose in cassava samples determined by HPLC.

Cassava Samples	Concentration of Glucose (mg/mL)
Cruvela	23.80
Milagrosa	37.55
Camila	32.81
Fragosa	43.69
Geraldo Lopes	27.02
Guarani	5.81

The tannins found in the cassava samples presented values between 8.51 mg/ml and 10.71 mg/ml, which correspond to 21.3mg/g and 26.8mg/g of dry matter. Found a tannins concentration of in matte and oregano herbs of 117 mg/g and 84mg/g, respectively It is known that the content of tannins in leaves and steam are higher than in roots of plants(13).

Table 5. Content of tannins in the cassava samples.

Cassava Samples	Concentration of Tannins (mg/mL)	Concentration of Tannins (mg/g)*
CRUVELA	8.51	21.3
MILAGROSA	9.84	24.6
CAMILA	9.88	24.7
FRAGOSA	9.05	22.6
GERALDO LOPES	10.63	26.6
GUARANI	10.71	26.8

* mg of tanic acid / g of cassava (dry matter)

4. Conclusion

From these results it is possible conclude that cassava varieties obtained from Meruoca and Acaraú towns could be a good food for human consumption since being very well processed, in the way to make floor, to avoid high toxicity by HCN.

5. References

1. BALAGOPALAN, C. Effect of protein supply in cassava root meal based on diets. Research for Rural Development. V.7 , N.2, 1995.
2. BATE-SMITH, E. C. Astringent tannins of Acer especies, Phytochemistry v. 16, 1421-1426, 1977.
3. BERNFELD, P. In: Methods in Enzimology (Colowick, S.P and Kaplan, Livestock . N.O. eds) v. 1, Academic Press Inc.1995. p.149-158.
4. BURTON, B. T. Nutrição humana; São Paulo ; McGrau – Hill do Brasil 1995. 606 p.
5. CARVALHO, L. E. Níveis de raspa integral de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em rações de suínos. Tese de Mestrado. 1994. 70 p.
6. CAROD-ARTAL, F. J. VARGAS, A P. & DEL NEGRO, C. Spastic paraparesis due to long term consumption of wild cassava(*manihot esculenta*): a neurotoxin model of neuron disease. Rev. Neurol; 29 (7): 610-3, 1999.
7. CHAPLIN, M.F. In Carboydrate Analysis – A practical Approach (Chaplin, M. F. and Kennedy J. F., IRL Press, 1994 11-16.
8. CHEFTEL, J. C.;CHEFTEL , H.; BENSANÇON, P. Introducción a la bioquímica y tecnologia de los alimentos. Espanha: Acribia/Zagoza. 1989.
9. CONDE, E; CADAHIA, E.; GARCIA-VALLEJO, M. C. A chromatographic method for analisys of oak wood tannins. Chromatography 41:657-663.1995.

10. DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*. 28:350-356, 1956.
11. FRANCO, G., Tabela de composição química dos alimentos. Ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p.175-223.
12. LANDIM, M. C. Propriedades bioquímicas e tecnológicas de macaxeiras (*Manihot esculenta* Crantz) visando o consumo após congelamento. Dissertação de Mestrado. 79 p. 199 UFC/ Fortaleza-CE.
13. PIZARRO, F.; OLIVARES, M.; HERTRAMPF, E.& WALTER, T. Factores que modificam estado de nutrición de hierro: contenido de taninos de infusiones de herbas/ Factores that may influence nutritional iron status: Tannins in herbal infusions. *Arch. Latinoan. Nutr*; 44(4): 227-80.1994.
14. TELES, F. F. F., BORGES S.V. E L., MAIA, G. A. , GASPAR JR,*et al.*; Hydrocyanic acid and digestible carbohydrates in tem new cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Introduced in the state of Ceará, Brazil. *Revista Ceres*, 40 (228):196- 202, 1993.
15. TYLLESKAR, T.; MKUMBURA, J. ; GEBRE_MEDIN, M. Low dietary cyanogen exposure from frequent consumption of potentially toxic cassava in Malawi. *Int. J. Food Sci. Nutri*; 51 (1):33-43, 2000.
16. VAL, M. Vino tinto, taninos y buena salud. *Revista Gastronômica*, 2002
17. VOLHARD, J. J. *Prakt. Chem.* 117-217, 1874. *Química Analítica, Titulometria de Precipitação*, p. 111-151. 1975.

CONCLUSÕES

- ✓ Das seis variedades de mandioca estudadas, cinco revelaram tratar-se de mandiocas tóxicas, porém, o beneficiamento da extração artesanal elimina o HCN, apenas a variedade Milagrosa da cidade de Meruoca apresentou-se não tóxica.
- ✓ Duas variedades de mandioca uma da cidade de Meruoca (Milagrosa) e outra da Cidade de Acaraú (Guarani) apresentaram mais de 40% de matéria seca, o que significa uma excelente produtividade.
- ✓ Todas as variedades continham substancial quantidade de carboidratos, predominantemente glicose.
- ✓ Dos dois municípios produtores de mandioca, ambos praticamente mostraram a mesma produção, entretanto em relação à toxicidade por HCN, apenas duas variedades do município de Meruoca apresentaram-se tóxicas.
- ✓ O conteúdo de taninos encontrado nas amostras de mandioca foi relativamente baixo quando comparado aos achados em outros vegetais, o que indica não ser nocivo ao consumo humano.

ANEXOS

Guia para autores: Revista CERES

1. São aceitos para publicação trabalhos originais de pesquisa no campo das ciências agrárias e correlatas, não publicados nem encaminhados para publicação.
2. Os trabalhos devem ser apresentados em duas cópias impressas, em espaço duplo, e em disquete, no programa WORD, fonte Times New Roman, parágrafo de 1 cm. O texto deverá ter 11,7 cm de largura por 19,0 cm de comprimento. Os quadros e figuras deverão ser colocados em seus devidos lugares, obedecendo a ordem de citação do texto. O tamanho das letras deverá ser 14 (negrito), no título; no texto; 11 (negrito maiúsculo), nos títulos dos capítulos; 11 (itálico), nos títulos dos subcapítulos e nomes científicos; e 9, nas notas de rodapé de página, quadros, resumo, abstract e referências bibliográficas.
3. Depois do título, autores, resumo e abstract, os artigos, sempre que possível, devem ser organizado em introdução, material e métodos, resultados e discussão (juntos ou separados), conclusão, agradecimentos e referências. O abstract deve ser encimado pelo título do artigo. Tanto o resumo como o abstract devem apresentar, como complemento, palavras chaves.
4. No pé da primeira página, colocar o endereço completo dos autores, inclusive CEP e endereço eletrônico.
5. Os quadros e figuras (desenhos, gráficos, fotografias) devem ser numerados com algarismos arábicos, ficando o título acima, nos quadros e abaixo das figuras.
6. As referências bibliográficas devem ser alistadas por ordem alfabética e numeradas. No texto, menciona-las pelos números.
7. As referências devem obedecer os seguintes modelos:

Artigos de periódicos:

FRANCIS, C.A.; PRAGER, M.; D. R. & FLOR, C. A. Genotype x environment in bush bean cultivars in monoculture and associated with maize. *Crop Science*, 18:237-41, 1978.
(Colocar o número entre parênteses, depois do volume, se a paginação for por número e não por volume).

Livros:

WALKER, J. C. *Plant pathology*. 2nd ed. N. York, McGraw-Hill Book Co., 1957. 707p.

Capítulos em livros de autoria coletiva:

COSTA, E.F. da; BRITO, R.A.L. & SILVA, E.M. da. Cálculos e manejo de quimigação nos sistemas pressurizados. In: Costa, E.F. da; Vieira, R.F. & Viana, P.A. (eds).

Quimigação. Aplicação de produtos químicos e biológicos via irrigação. Brasília, EMBRAPA, 1994.p. 183-200

Trabalhos em anais de congresso:

JUNQUEIRA NETTO, A.; SEDIYAMA, C.S. & REZENDE, P.M. de.
Análise de adaptabilidade e estabilidade de dezesseis cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em seis municípios do sul de Minas Gerais. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, 1ª, Goiânia, 1982. anais, EMBRAPA/CNPAF, 1982, p.47-8

Boletins e Teses:

WUTKE, E.B. Desempenho do feijoeiro em rotação com milho e adubos verdes. Piracicaba, Escola Sup. de Agric. "Luiz de Queiroz", 1998. 146 p. (Tese de doutorado).
NEME, N.A. Leguminosas para adubos verdes e forragens. Campinas, Instituto Agrônomo, 1959. 28p. (Boletim nº 109)

Artigos de Jornais:

Alonso, M.O. O que fez o Concílio pela Igreja em quatro anos. Jornal do Brasil, Rio de Janeiro, 2/3/1966. Caderno B, p.2.

8. A carta de encaminhamento do trabalho deve receber a assinatura de todos os autores.
9. Os autores receberão, sem ônus, 30 separatas do artigo publicado.