

DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS, REDUTORES E NÃO REDUTORES, EM CULTIVARES DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)^{1/}

Cremilda Rosa de Battisti^{2/}
Cid Martins Batista^{2/}
Dilson Teixeira Coelho^{3/}
Francisco Franco Feitoza Teles^{2/}
Américo José da Silveira^{4/}

1. INTRODUÇÃO

A falta de alimentos continua sendo o mais sério problema do mundo atual (1, 7, 10).

Os carboidratos de mandioca constituem grande parte do valor calórico total da dieta da população brasileira, principalmente no Nordeste (6), já sendo apontados como possível solução para a carência universal de alimentos, quer em termos de energia (8), quer como fonte de carboidratos para a síntese de proteínas por fungos (3).

Embora os carboidratos solúveis, redutores (CSR) e não redutores (CSNR), sejam conhecidos, qualitativamente, como sendo sacarose, glucose, frutose, maltose e manose (5), nenhuma quantificação desses açúcares foi registrada na literatura especializada. O objetivo deste trabalho foi, pois, quantificar esses importantes componentes calorigênicos da mandioca.

^{1/} Parte da tese apresentada, pelo primeiro autor, à U.F.V., como uma das exigências para a obtenção do grau de M.S. em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Recebido para publicação em 02.01.81.

^{2/} Professores do Departamento de Química da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

^{3/} Professor do Departamento de Tecnologia de Alimentos da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

^{4/} Professor do Departamento de Fitotecnia da U.F.V. 36570 Viçosa, MG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 cultivares de mandioca cultivados pelo Departamento de Fitotecnia da U.F.V. As análises foram feitas no Departamento de Química dessa Universidade.

O teor de carboidratos solúveis, redutores (CSR) e não redutores (CSNR) — monossacarídios e dissacarídios — foi determinado pelo método recomendado por TELES *et alii* (11).

Meio grama de amostra seca (estufa c/ventilação forçada, a 80°C, durante 12 horas) e moída (moinho Tyler 20) em papel impermeável foi transferido para tubos de centrífuga, de plástico, 50 ml, com tampa rosqueável. Adicionaram-se 10 ml de etanol 50% e tampou-se bem o tubo, deixando o material em agitação mecânica durante 60 minutos. Centrifugou-se a 2000 rpm durante 15 minutos. Transferiu-se o sobrenadante para erlenmeyer de 10 ml, tampando-o com rolha de borracha.

Para determinar o teor de açúcares redutores, tomaram-se 3 tubos de Folin de 25 ml, transferindo-se 1 ml da amostra extraída e 1 ml de água destilada para o primeiro tubo. Ao segundo tubo (branco) adicionaram-se 1 ml de água destilada e 1 ml de etanol 50%; ao terceiro (padrão), 1 ml de glicose padrão e 1 ml de água.

Quanto ao teor de açúcares totais (CST), o procedimento foi semelhante: tomaram-se 3 tubos de Folin, 25 ml, adicionando-se 1 ml da amostra e 1 ml de HCl 0,6N ao primeiro tubo. Ao segundo (branco) adicionaram-se 1 ml de etanol 50% e 1 ml de HCl 5% (v/v); ao terceiro (padrão), 1 ml de glicose padrão e 1 ml de HCl 0,6N.

Deixaram-se os tubos destampados durante uma hora, em banho-maria, em ebulição, para hidrólise dos dissacarídios e expulsão do HCN. Após o resfriamento, procedeu-se à medição colorimétrica.

Adicionaram-se, aos tubos, 3 ml do reagente de Teles; os tubos foram tampados com rolhas de borracha secas e colocados em estante de arame com alça. Em seguida, foram levados ao banho-maria, em ebulição, reagindo durante exatamente 6 minutos.

Foram esfriados rapidamente por imersão em água fria e os volumes foram completados com água destilada, invertendo-se os tubos 6 vezes, para homogeneização. Procedeu-se à leitura das absorbâncias a 540 nm, com o uso do espectrofotômetro Micronal B-295, efetuando-se os cálculos finais com o auxílio da fórmula

$$\begin{aligned}
 \text{CST} &= \frac{\text{Abs. da amostra hidrolisada}}{\text{Abs. do padrão}} \times \frac{\text{conc. do padrão}}{(\text{mg/ml})} \times \frac{\text{fator de diluição}}{\text{de matéria seca da amostra}} \times \% \\
 \text{CSR} &= \frac{\text{Abs. da amostra extraída}}{\text{Abs. do padrão}} \times \frac{\text{conc. do padrão}}{(\text{mg/ml})} \times \frac{\text{fator de diluição}}{\text{de matéria seca da amostra}} \times %
 \end{aligned}$$

Como padrão, usou-se uma solução de glicose com 1 mg/ml.

Para verificar o teor de carboidratos não redutores (CSNR), diminuiu-se, do valor do teor de açúcares totais (CST), o teor de açúcares redutores (CSR).

A identificação dos carboidratos solúveis, redutores e não redutores, foi feita por cromatografia em papel e cromatografia gasosa.

Meio grama de amostra seca e moída (Tyler 20) foi submetido à extração de carboidratos solúveis, redutores e não redutores, utilizando-se 10 ml de etanol 50%, em

agitador mecânico, à temperatura ambiente, durante uma hora. Centrifugou-se o material, durante 10 minutos, a 2500 rpm. Separou-se o sobrenadante, adicionando-se-lhe 2 ml de acetado de chumbo 8%, pH 6,5, a fim de precipitar os ácidos orgânicos, deixando-se o material em repouso durante 10 horas.

Decorrido o tempo necessário, separou-se o precipitado por centrifugação, concentrou-se o sobrenadante, usando vácuo, retirou-se uma parte do concentrado, analisando-se os açúcares nele contidos por cromatografia em papel Whatman n.º 1, pelo método ascendente, usando-se o sistema benzeno-n-butanol-piridina-água, na proporção de 1:5:3:3.

Os cromatogramas foram visualizados com nitrato de prata alcalino (12), naftorresorcinol (9) e anilina em ácido fosfórico (4).

O restante do concentrado sofreu hidrólise em tubos de vidro selado com ácido trifluor - acético (TFA) 0,5N, a 100°C, durante 3 horas. O TFA foi eliminado após a hidrólise, por evaporação a vácuo. Para completa remoção desse ácido, novas porções de água foram adicionadas ao material hidrolisado e removidas sucessivamente em evaporador.

Reduziu-se o hidrolisado com boroidreto de litio, durante uma hora, à temperatura ambiente. O excesso desse reagente foi decomposto, usando-se ácido acético 2N, e os íons sódio foram eliminados por deionização em resina DOWEX 50W - X8 (200 - 400 mesh) forma H⁺, desdoblada por sucessivas evaporações com metanol.

Os aldítios resultantes foram acetilados com a mistura de anidrido acético e piridina, na proporção de 1:1 (v/v), à temperatura ambiente, durante 15 horas (13).

Decorrido o tempo determinado, adicionou-se água a 4°C. Os aldítios acetilados foram extraídos com clorofórmio e analisados por cromatografia em fase gasosa, utilizando-se cromatógrafo VARIAN, com detector de ionização de chama. A coluna foi preparada com 3% de ECNSS-M sobre gás Chrom Q de 100 - 120 mesh, em tubo de cobre, 120 x 0,4 cm (d.i.), a 155°C, usando-se nitrogênio como gás de arraste (37,5 ml/minuto), com pressão de 3 kg/cm². As temperaturas usadas no detector e na câmara de injeção foram, respectivamente, 235°C e 210°C.

Os açúcares acetilados foram identificados por meio dos padrões correspondentes.

As análises estatísticas foram feitas usando-se o modelo para blocos casualizados, com seis repetições (2).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teor de Carboidratos Solúveis Redutores (CSR)

Houve diferença significativa entre os teores de carboidratos solúveis redutores nos diversos cultivares, pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade.

Comparando as médias pelo teste de Tukey, também ao nível de 1% de probabilidade, observa-se, no Quadro 1, que os cultivares 'Sabará Entre Rios' e 'Branca de Santa Catarina' foram os que apresentaram maiores teores de carboidratos solúveis redutores; o cultivar 'Guaxupé' apresentou o menor resultado.

3.2. Teor de Carboidratos Solúveis Não Redutores (CSNR)

A análise de variância mostrou diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os teores médios de carboidratos solúveis não redutores na matéria fresca dos 10 cultivares de mandioca.

Utilizando o teste de Tukey para comparação das médias, ao nível de 1% de pro-

babilidade, observa-se, no Quadro 2, diferenças significativas entre os cultivares, destacando-se o 'Pirassununga' e o 'Manteiga', que apresentaram os maiores teores de carboidratos solúveis não redutores, e o 'Engana Ladrão', com o menor teor desses carboidratos.

QUADRO 1 - Médias dos teores de carboidratos solúveis redutores

Cultivares	Médias de 6 repetições*
Sabará Entre Rios	8,52 a
Branca de Santa Catarina	6,36 b
Mico	5,76 bc
Vassourinha	5,66 bc
Manteiga	5,40 c
SFG-2-204	5,16 cd
Preta de Quilombo	4,39 de
Pirassununga	4,34 de
Engana Ladrão	3,63 ef
Guaxupé	3,47 f

* As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

3.3. *Identificação Qualitativa dos Carboidratos Solúveis, Redutores e Não Redutores*

Por meio da cromatografia em papel da amostra extraída em etanol 50% foi identificada a presença de glicose, frutose e sacarose. Usando os reveladores anilina em ácido fosfórico e naftorresorcinol para revelar os carboidratos mencionados, notou-se que, com o uso do segundo revelador, os açúcares apresentaram colorações diferentes, o que facilitou sua comparação com os respectivos padrões.

Com nitrato de prata em solução alcalina como revelador, notou-se que a sacarose não foi visualizada, porque é um açúcar não redutor. Além disso, foram detectadas, mas não identificadas, duas manchas de glicosídeos, de maior peso molecular e de baixa concentração.

Com o naftorresorcinol como revelador, notou-se que a frutose e a sacarose deram manchas vermelhas muito fortes, em razão de ser revelador mais seletivo para cetoses, como mencionam PARTRIDGE e WESTALL (9). Quanto à glicose, a coloração da mancha foi azul, o que também confere com as observações dos referidos autores.

No hidrolisado ácido (HCl 50%) da amostra foram identificadas glicose e frutose; também se visualizou uma mancha com valor *Rf* alto, também não identificada; os valores de *Rf* encontram-se no Quadro 3.

A cromatografia em fase gasosa do hidrolisado, na forma de alditóis acetilados, apresentou alta proporção de glucitol (69,7%), o que significa presença de glicose e frutose, e dois picos de área menor (15%), os quais não foram identificados. Notou-se, porém, que esses picos tiveram tempos de retenção próximos aos do xilitol e do manitol. Entretanto, numa posterior cromatografia em papel, a amostra não revelou

a presença de manose e xilose, talvez por que esses carboidratos se encontrassem na amostra em quantidades insignificantes. Todavia, esses resultados já eram, de certa forma, esperados, por quanto, de acordo com trabalho realizado por KETIKU e OYENUGA (5), os açúcares mais comumente encontrados na fração solúvel dos carboidratos são sacarose, maltose, frutose, glicose e traços de manose.

QUADRO 2 - Médias dos teores de carboidratos solúveis não redutores (mg/g de matéria fresca) em 10 cultivares de mandioca

Cultivares	Médias de 6 repetições*
Pirassununga	25,57 a
Manteiga	24,00 a
Vassourinha	18,19 b
Sabará Entre Rios	17,43 bc
Branca de Santa Catarina	16,92 bc
Guaxupé	15,57 cd
Mico	15,55 cd
Preta de Quilombo	15,34 cd
SFG-2-204	13,15 d
Engana Ladrão	9,30 e

* As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

QUADRO 3 - Valores de Rf verificados na cromatografia em papel

Substância	Rf
Glicose	0,54
Sacarose	0,46
Frutose	0,62
Desconhecida	0,82
Desconhecida	0,28

As substâncias de maior peso molecular encontradas na cromatografia em papel poderiam ser glicosídios cianogênicos, tais como linamarina, lotaustralina, etc.

4. RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar os teores de carboidratos solúveis, redutores e não redutores (monossacarídios e dissacarídios), em 10 cultivares de mandioca, cultivados pelo Departamento de Fitotecnia da U.F.V.

Verificou-se que os cultivares 'Sabará Entre Rios' e 'Branca de Santa Catarina' apresentaram os maiores teores de carboidratos solúveis redutores.

Quanto aos não redutores, os maiores teores foram encontrados nos cultivares 'Pirassununga' e 'Manteiga'.

Qualitativamente, foram identificados, nas amostras analisadas, os carboidratos glicose, frutose e sacarose.

5. SUMMARY

Levels of soluble reducing and non-reducing sugars (mono and disaccharides) were determined in the roots of 10 cultivars of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). The highest levels of soluble reducing sugars were found in the cultivars 'Sabará Entre Rios' and 'Branca de Santa Catarina'; however, the greatest amounts of soluble non-reducing sugars occurred in the cultivars 'Pirassununga' and 'Manteiga'. The sugars were identified as fructose, glucose and sucrose.

6. LITERATURA CITADA

1. DIÁRIO DO CONGRESSO NACIONAL, Brasília, v. 27, n.º 78., Novembro, 1972.
2. GOMES, F.P. *Curso de Estatística Experimental*. 6 ed. Piracicaba, Livraria Nobel, 1976. 430 p.
3. GRAY, W.D. & ABOU-EL-SEOUD, M.O. Fungal protein for food and feeds. 111. Manioc as potential crude raw material for tropical areas. *Economic Botany*, 20 (3):251-255. 1966.
4. HOWARD, B.H. Hydrolysis of the soluble pentosans of wheat flour *Rhodymenia-palmata* by ruminal microorganisms. *Biochemical Journal*, 67(4):643. 1957.
5. KETIKU, A.O. & OYENUGA, V.A. Changes in the carbohydrate constituents of cassava root-tuber. (*Manihot utilissima* Pohl.) during growth. *Journal of Food Science and Agriculture*, 23(12):1451-1456. 1972.
6. MARAVALHAS, N. *O panorama alimentar da Amazônia*. Manaus, INPA, 1964. p. 23-34. (INPA, 6).
7. MAYER, J. The dimensions of human hunger. *Scientific American*, 235(3):40-50. 1976.
8. MUKHERJEE, S. Tapioca as a solution of the food problem. *Science and Culture*, 13(3):118-119. 1947.
9. PARTRIDGE, S.M. & WESTALL, R.G. Filter-paper. Partition chromatography of sugars. *Biochemical Journal*, 42(2):238. 1948.
10. SCRIMSHAW, N.S. & YONG, U.R. The requirements of human nutrition. *Scientific American*, 235(3):51-64. 1976.
11. TELES, F.F.F.; OLIVEIRA, M.L.; FABRIS, J.D.; SILVEIRA, A. J.; BATISTA, C.M. Carboidratos solúveis de mandioca. *Rev. Ceres*, 26(147):513-516. 1979.
12. TREVELYAN, W.E.; PROCTER, D.P.; HARRISON, J.S. Detection of sugars on paper chromatograph by use of dipping reagents. *Nature*, 166(4219): 444-445. 1950.
13. WOLFROM, M.L. & THOMPSON, A. Acetylation. In: WHISTLER, R.L. ed. *Methods in carbohydrate chemistry. II*. New York, Acad. Press. 1963. p. 211-215.