

## **AS PROTEÍNAS DE FOLHAS DE MANDIOCA: ASPECTOS FISIOLÓGICOS, NUTRICIONAIS E IMPORTÂNCIA TECNOLÓGICA**

JEAN-LOUIS LE GUERROUÉ \*

ROGER DOUILLARD \*\*

MARNEY P. CEREDA \*\*\*

MARILEUSA D. CHIARELLO \*\*\*\*

Alguns aspectos ligados à tecnologia de proteínas de folhas, com ênfase para as folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), são revisados. A composição em aminoácidos, as propriedades bioquímicas, a importância nutricional e os princípios dos métodos de extração são apresentados. As folhas de mandioca apresentam elevado teor de proteínas (20-30% base seca), de valor nutricional adequado às recomendações da FAO, além de altos teores de vitaminas A e C e de minerais. Algumas aplicações potenciais em nutrição humana ou animal ou como substrato para a indústria de biotecnologia são discutidas.

### **1 INTRODUÇÃO**

A proteína mais abundante no planeta é de origem vegetal (26). Trata-se da Rubisco, ou Ribulose difosfato carboxilase/oxigenase (E.C. 4.1.1.39), enzima que participa da fixação do CO<sub>2</sub> atmosférico durante a fotossíntese. Esta enzima é uma das principais proteínas foliares e representa 0,2 % das proteínas do globo (23).

\* PhD em Ciência e Tecnologia Vegetais, Professor do Curso de Nutrição da FACIBEM, Curitiba/Brasil.

\*\* PhD em Fisiologia Vegetal, Pesquisador do Laboratório de Bioquímica e Tecnologia de Proteínas, INRA, Nantes/França.

\*\*\* PhD em Engenharia Agronômica, Diretora do Centro de Raízes Tropicais (CERAT), UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.

\*\*\*\* PhD em Bioquímica dos Alimentos, Pesquisador IIC do CNPq associado ao Laboratório de Processos Biotecnológicos, UFPB, Curitiba, Brasil.

As proteínas das folhas foram descobertas em 1773 por Hilaire Marin Rouelle, então responsável pelo Jardim do Rei (o atual Jardim de Plantas de Paris)(17), as quais estão presentes em toda parte onde a temperatura, a irradiação solar, o fornecimento de água e a natureza do solo permitem o desenvolvimento de vegetais (19).

O interesse por essas proteínas decorre de sua abundância natural, que traduz-se, em termos agronômicos, pela produção por hectare quatro a seis vezes superior à obtida pelas proteínas mais produtivas, vinte vezes superior àquelas do leite e praticamente cem vezes superior aquelas da carne bovina (Tabela 1).

**TABELA 1 - PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS DE DIFERENTES ORIGENS**

NOME VULGAR	NOME CIENTÍFICO	PRODUÇÃO (kg/ha/ano)
Folhas		
Luzerna	<i>Medicago sativa</i>	2000 a 4000
Sorgo	<i>Sorghum sudanensis</i>	2300
Mandioca	<i>Manihot esculenta</i>	300-1200
Orgãos de reserva		
Soja	<i>Glycine max</i>	500 a 800
Ervilha	<i>Pisum sativum</i>	500
Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	400
Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	400
Beterraba	<i>Beta vulgaris</i>	200
Produtos animais		
Leite de vaca		115
Ovos		80
Carne bovina (pastagem)		30-60

Fontes: HEATH (33), LANCASTER & BROOKS (40) NAGY *et al.* (46).

A alta produtividade é a razão dos estudos efetuados sobre essas proteínas em contexto de penúria, como durante a segunda guerra mundial (52) ou, mais recentemente, em países onde há malnutrição (24, 60, 62) ou ainda em países industrializados, para alimentação animal (17).

No Brasil, as folhas de mandioca representam uma excelente fonte de proteínas vegetais. De fato, além da mandioca

(*Manihot esculenta* Crantz) produzir quantidade elevada de folhas (superior à 2 ton/ha, em base seca) (51), estas apresentam alto teor de proteínas em base seca (entre 20 e 30 %) (40). Entretanto, o potencial proteico das folhas é desperdiçado pois, normalmente, permanecem no campo após a colheita das raízes. Embora a riqueza proteica das folhas de mandioca seja conhecida há décadas (47), sua utilização tecnológica é ainda precária ou mesmo inexistente. Este artigo pretende divulgar alguns aspectos relativos à fisiologia das proteínas foliares, seu valor nutricional, princípios de extração e sugerir aplicações tecnológicas potenciais.

## 2 AS PROTEÍNAS NA FOLHA

A localização foliar confere a essas proteínas algumas particularidades (17):

- *In natura*, são associadas com grandes massas de água e fibras, razão pela qual só podem ser consumidas em grande quantidade por herbívoros.
- Para outros usos precisam ser previamente extraídas das folhas. Durante a prensagem, a trama ligno-celulósica esponjosa limita a extração do conteúdo celular, onde situam-se as proteínas. Estima-se que apenas 50% das proteínas são extraídas no suco de prensagem da alfafa (16).
- Do ponto de vista fisiológico as células foliares contêm principalmente vacúolos e cloroplastos. A prensagem resulta em extrato cuja composição é representativa da composição dessas duas organelas. As proteínas originam-se então principalmente dos cloroplastos.

### 2.1 TEOR E COMPOSIÇÃO

O teor em proteínas totais das folhas varia enormemente segundo a idade fisiológica, mas também em função da origem botânica (Tabela 2).

Os teores mais freqüentes situam-se entre 20 e 25% da matéria seca. Depois da extração, a composição em aminoácidos dessas proteínas varia pouco duma planta para outra, qualquer que seja sua origem botânica. Como essas proteínas constituem o aparelho fotossintético, a função e a estrutura das mesmas varia pouco duma espécie para a outra (Tabela 3).

**TABELA 2 - TEORES DE PROTEÍNA DE ALGUMAS FOLHAS**

NOME CIENTÍFICO	NOME VULGAR	TEOR DE PROTEÍNAS (%)
<i>Coriandrum sativum</i>	Coriandro	61
<i>Amaranthus gangeticus</i>	Amaranto	58
<i>Cucurbita maxima</i>	Abóbora	35
<i>Manihot esculenta</i>	Mandioca	24-32
<i>Ipomoea batatas</i>	Batata doce	27
<i>Sechium edule</i>	Chuchu	24
<i>Brassica oleracea</i>	Couve-flor	24
<i>Glycine max</i>	Soja	24
<i>Cajanus cajan</i>	Ervilha cajan	23
<i>Musa paradisiaca</i>	Banana	19-21
<i>Lactuca sativa</i>	Alface	21
<i>Bambusa vulgaris</i>	Bambu	20
<i>Medicago sativa</i>	Alfafa	16-22

Fontes: DOUILLARD (17), GENIER et al. (28), NAGY et al. (46).

**TABELA 3 - COMPOSIÇÃO EM ÁMINOÁCIDOS DE PROTEÍNAS FOLIARES TOTAIS DE DIFERENTES VEGETAIS, EM g POR 100g**

AMINOÁCIDOS	ALFAFA	CEVADA	MANDIOCA	AMARANTO
Alanina	6,2	6,7	7,5	5,4
Arginina	6,3	6,9	6,7	5,9
Ac. Aspártico	10,6	9,6	10,3	9,1
Cistina	1,3	2,0	-	1,1
Fenilalanina*	5,9	6,2	5,9	6,7
Glicina	5,3	5,6	5,8	4,9
Glutâmico	11,4	11,4	13,0	10,1
Histidina	2,5	2,3	2,4	2,1
Isoleucina*	5,3	5,0	5,2	5,5
Leucina*	9,1	9,3	9,9	8,7
Lisina*	6,4	6,6	6,7	10,7
Metionina**	2,0	2,2	1,6	1,8
Prolína	4,8	4,7	5,3	5,8
Serina	4,5	4,4	4,2	4,9
Tirosina	4,7	4,5	4,0	4,8
Treonina*	5,1	5,1	4,8	4,3
Triptofano*	1,7	-	-	2,1
Valina*	6,5	6,4	6,6	6,4

\* = aminoácidos essenciais.

Fontes: BURGHOFFER et al. (7), DOUILLARD (17), NAGY et al. (46).

## 2.2 ORIGEM DAS PROTEÍNAS FOLIARES

A estrutura preponderante das folhas é o aparelho fotossintético. A intervenção das proteínas de cloroplastos no mecanismo de fotossíntese resultou em numerosos trabalhos fundamentais e aplicados, tendo em vista a compreensão da biossíntese das moléculas de carbono renováveis. Atualmente, já se conhece um número significativo dessas proteínas, apesar dos inúmeros polipeptídeos diferentes encontrados nas folhas (250 a 300) (32, 34). Do ponto de vista quantitativo, as membranas dos cloroplastos representam 90 a 95% das membranas das células das folhas de espinafre (38). Uma única proteína da cadeia fotossintética, a enzima Rubisco, pode representar mais da metade das proteínas das folhas (17).

## 2.3 PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS PRINCIPAIS PROTEÍNAS FOLIARES

As principais proteínas foliares são cloroplásticas, ou seja, constituem as lamelas cloroplásticas ou tilacóides, outras são proteínas solúveis do estroma.

### 2.3.1 Proteínas membranares dos cloroplastos

As membranas dos cloroplastos são constituídas de aproximadamente 50% de proteínas e a mesma proporção de lipídios. Estes são principalmente glicerolipídios mas também pigmentos. O principal carotenóide é a luteína. As proteínas são ligadas aos lipídios e à maioria dos pigmentos, principalmente às clorofilas. A proporção das massas proteínas/clorofila é de 4 (4, 5, 35, 39). Estas proteínas apresentam uma parte da superfície com propriedades hidrofílicas e o restante com características hidrofóbicas (2, 8). Esse caráter amfifílico provoca sua agregação em solução aquosa ou faz com que as proteínas estejam fortemente ligadas às membranas lipoprotéicas em condições naturais. As principais proteínas das lamelas cloroplásticas são: os complexos proteínas-clorofila, que asseguram a captura e a transferência dos fótons; os centros fotoquímicos onde acontecem as reações primárias da fotossíntese; as cadeias de transferência de elétrons, que produzem um gradiente de pH entre os dois lados das lamelas e, finalmente, as ATPases, que a partir dos gradientes de pH sintetizam o ATP (17).

### 2.3.2 Proteínas solúveis dos cloroplastos

O estroma que cerca as lamelas dos cloroplastos é um gel protéico com concentração aproximada de 300g/L (23), na qual encontram-se também os ácidos nucleicos, os íons e os

metabólitos da fotossíntese. As proteínas enzimáticas mais típicas dos cloroplastos catalisam a fixação fotossintética do dióxido de carbono pela reação de Calvin. A enzima responsável pela carboxilação é a Rubisco, presente no estroma (1). Essa enzima apresenta numerosas características notáveis, principalmente a baixa atividade enzimática em relação à outras enzimas do ciclo de Calvin (53). O equilíbrio cinético é mantido por um teor muito alto de Rubisco, que pode representar 80% das proteínas do estroma (23). Sua abundância faz com que a purificação seja relativamente fácil (18). A Rubisco já foi cristalizada a partir de numerosos variedades de alfafa, milho, algodão, batata, espinafre, tabaco e tomate (17, 37).

### **3 AS PROTEÍNAS DA FOLHAS DE MANDIOCA**

O conteúdo de proteína das folhas de mandioca é superior aqueles encontrados na maioria das gramíneas e leguminosas. Além disso, a mandioca tem a vantagem de oferecer maior produtividade e de adaptar-se a solos pobres (11, 40). Entretanto, em nível de aproveitamento tecnológico e nutricional, estas proteínas não foram ainda devidamente exploradas. Na realidade, o desperdício das folhas da mandioca é grande em todas as regiões do Brasil. No Paraná, um dos maiores produtores nacionais, 158.000 ha são ocupados com a cultura, segundo dados da Secretaria da Agricultura. Estima-se que, para essa mesma área, são perdidas em cada ano mais de 178.000 ton de folhas.

Considerando-se o número de folhas produzido por planta e por hectare é possível obter cerca de 2.250 kg de farinha de folhas/ha (51). Na matéria seca dessas folhas pode-se encontrar até 30% de proteína bruta, além de vitaminas do grupo A (11, 61).

#### **3.1. TEOR E COMPOSIÇÃO**

O teor em proteínas das folhas da Mandioca oscila muito, principalmente em função da variedade (Tabela 4)

O teor em proteína varia, também, em função do ciclo de crescimento. Estudos realizados durante o primeiro ciclo de crescimento com dez variedades indicaram que o teor de proteínas em % de matéria seca, baixo nos primeiros meses após o plantio atinge o máximo no décimo mês após o plantio (36). Outra pesquisa sobre os teores de proteína da folha em diferentes épocas de colheita mostrou decréscimo do décimo primeiro ao décimo nono mês após o plantio (12).

**TABELA 4 - TEORES DE PROTEÍNAS FOLIARES DA MANDIOCA, SEGUNDO DIFERENTES AUTORES**

TEOR EM PROTEÍNA		REFERÊNCIAS
% PS*	% PF**	
32,5-37,4		EGGUM (22)
15,09-21,88		FIGUEIREDO & REGO (25)
31,6		HALL <i>et al.</i> (30)
25,5		MARTIN <i>et al.</i> (44)
15,6-39,8	8,8-11,4	NORMANHA (47)
19,79-31,54	6,29-8,30	RAMOS-LEDO & POPENOÉ (54)
26,7-39,9	8,79-11,8	TUPYNAMBA & VIEIRA (61)
29,3-39,4	7,35-9,26	YEOH E CHEW (66)

\*PS: Peso seco.

\*\*PF: Peso fresco.

### 3.2 ASPECTOS NUTRICIONAIS

Do ponto de vista nutricional, embora as proteínas foliares não se equiparem às proteínas animais, são melhores do que a maioria das proteínas de semente, cereais e leguminosas. Alguns trabalhos demonstraram que as proteínas das folhas apresentam balanço de aminoácidos adequado com referência ao padrão da FAO (29, 48). Essas proteínas apresentam altos teores de lisina, razão pela qual poderiam ser utilizadas como complemento de proteínas de cereais como trigo, milho e arroz.

A composição em aminoácidos é de grande importância do ponto de vistnutricional e funcional (Tabela 5).

Entre os resultados existem variações mas todos os autores mostram que, com exceção da metionina, o teor em aminoácidos essenciais ultrapassa o padrão exigido pela FAO. As proteínas da folha são ricas em ácido glutâmico e aspártico e em leucina.

A oscilação do teor de aminoácidos das proteínas da folha pode ser consequência não apenas de diferenças de variedades, mas também das condições agronômicas e ecológicas e/ou dos métodos de análises empregados. De fato, outro trabalho realizado com diferentes variedades de mandioca, cultivadas sobre as mesmas condições, mostrou que as diferenças na composição em aminoácidos são insignificantes (50).

**TABELA 5 - COMPOSIÇÃO EM ÁMINOÁCIDOS DAS PROTEÍNAS DA FOLHAS DE MANDIOCA E DO CONCENTRADO PROTÉICO DA FOLHA (CPF) E PADRÃO DE ÁMINOÁCIDOS ESSENCIAIS RECOMENDADO PELA FAO**

AMINOÁCIDOS	PADRÃO FAO	FOLHAS DE MANDIOCA			CPF DE MANDIOCA <sup>d</sup>
		a	b	c	
Alanina		5,71	5,98	6,19	6,72
Arginina		5,5	5,28	6,12	6,53
Aspartico		9,57	10,14	9,63	10,8
Cisteina		1,29	1,37	1,04	0,49
Fenilalanina	2,8	5,89	5,82	5,53	6,14
Glicina		5,20	5,39	5,32	5,96
Glutamico		10,97	10,22	10,12	13,1
Histidina		2,27	2,23	2,56	2,26
Isoleucina	4,2	5,10	5,01	4,84	3,93
Leucina	4,8	9,17	8,89	8,85	10,.1
Lisina	4,2	6,28	7,20	6,33	5,31
Metionina	2,2	2,07	1,65	1,71	0,57
Prolina		-	4,64	5,40	5,75
Serina		4,47	5,16	4,60	6,43
Tirosina		4,30	4,18	3,93	4,63
Treonina	2,8	4,53	4,92	4,73	5,41
Triptofano	1,4	1,77	1,47	2,07	-
Valina	4,2	5,80	5,73	5,58	5,41

<sup>a</sup> EGGUM (22).

<sup>b, c</sup> ROGERS e MILNER (56).

<sup>d</sup> TUPYNAMBÁ e VIEIRA (61).

A semelhança entre a composição em aminoácidos de diferentes variedades de mandioca mostra novamente a finalidade idêntica das proteínas, uma vez que a maioria entra no sistema complexo da fotossíntese.

As folhas contêm elevados teores de minerais (cálcio, potássio, ferro) e vitaminas, principalmente C e A (40, 45, 49, 57).

O uso potencial das proteínas de folhas *in natura* sofre restrições devido a presença de fatores-antinutricionais. As folhas de mandioca apresentam elevado teor de linamarina, um  $\beta$ -glicosídeo cianogênico e tóxico, juntamente com pequena quantidade de seu derivado metilado lotaustralina (10, 40). Estes glicosídeos são capazes de gerar ácido cianídrico após hidrólise enzimática, levada a efeito pela enzima

linamarinaise autóctone ou exógena. Entretanto, o glicosídeo da mandioca é termolábil e solúvel em água. No caso de extração das proteínas à partir de folhas frescas, o glicosídio pode ser eliminado por arraste aquoso ou por aquecimento. Eventuais teores residuais podem ser eliminados durante a operação de secagem. O cianeto não é o único fator antinutricional nem o mais difícil de ser eliminado. A literatura cita a presença de taninos e compostos fenólicos (12, 55).

### 3.3 ASPECTOS TECNOLÓGICOS

O processo básico de fracionamento é comum à todos os tipos de produção e envolve a maceração da matéria verde e a separação em duas frações: um suco e um resíduo fibroso prensado. Em seguida, pode-se considerar 3 diferentes graus de extração: a deságua (remoção do máximo de água com mínimo de perdas da fração sólida), a extração parcial (por precipitação ácida ou por calor) e a extração exaustiva (coagulação alcalina e precipitação ácida) (26). Processos mais recentes fazem uso da técnica de ultrafiltração (42).

A utilização destes processos leva à obtenção de concentrados e isolados proteicos à partir do suco ou torta de proteína de folhas. Os primeiros apresentam um teor de proteínas superior à 70% e os segundos superior à 90%. Além da vantagem da concentrar as proteínas, facilitando sua distribuição, consumo, transformação e comercialização, esses processos permitem a obtenção de produtos altamente funcionalizados. Até o momento, poucos trabalhos foram realizados com a folha de mandioca visando a obtenção de concentrados protéicos. Entretanto, muitas pesquisas foram conduzidas na Europa e nos Estados Unidos para a preparação de concentrados protéicos a partir de outras variedades de planta. Já existem grandes empresas na França, Itália e Alemanha, que produzem em escala industrial concentrado protéico de alfafa (16, 19, 20, 27).

## 4 APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS E ECONÔMICAS POTENCIAIS

Considerando os aspectos quantitativos e qualitativos das proteínas das folhas de mandioca, vários empregos tecnológicos desta matéria-prima podem ser propostos.

### 4.1 ALIMENTAÇÃO HUMANA

Para consumo humano, a utilização pode atender a dois objetivos, um nutricional e outro funcional. Do ponto de

vista nutricional, as proteínas de folhas, devido à sua composição em aminoácidos característica (29, 48), podem servir como proteínas complementares em dietas pobres em lisina, problema associado à dietas baseadas em cereais. De

fato, em cidades do interior do Estado de Santa Catarina, por exemplo, as folhas desidratadas de mandioca são adicionadas ao arroz servido às crianças de creches populares, com o intuito de melhorar o aporte protéico. Entretanto, nenhum estudo sistemático foi ainda realizado para precisar os benefícios nutricionais, os efeitos antinutricionais, as quantidades recomendáveis e a aceitabilidade desta nova fonte de proteínas por parte das crianças. Em princípio, uma vez eliminados os fatores antinutricionais, estas proteínas poderiam ser utilizadas para a complementação de dietas de crianças em idade escolar e pré-escolar, mulheres em período de gestação ou amamentação e idosos ou portadores de enfermidades com balanço negativo de nitrogênio.

Do ponto de vista funcional, as proteínas de folhas, a exemplo de outras proteínas globulares, não apresentam propriedades muito marcantes na sua configuração nativa. Entretanto, modificações químicas (introdução ou eliminação de grupos carregados, hidrólise ácida ou polimerização por reagentes bi-funcionais) (21, 41, 59), físicas (agentes precipitantes, tratamento térmico por aquecimento, extrusão) (31, 58) ou enzimáticas (hidrólise ou polimerização por ligação covalente) (14, 15, 59) permitem a obtenção de produtos diversos, com propriedades específicas e valor agregado aumentado. As de maior interesse para a indústria alimentícia são as propriedades de absorção e retenção de água, geleificação e emulsificação. Outras propriedades como formação e estabilização de espuma, retenção de gordura, estabilização de soluções e texturas diversas, também atualmente bastante procuradas pela indústria alimentar, poderiam ser fornecidas por proteínas de folhas de mandioca modificadas (6, 20, 21, 43, 58, 59, 64, 65).

#### 4.2 ALIMENTAÇÃO ANIMAL

Nesse caso, a utilização de proteínas de folhas apresenta alguns aspectos interessantes (3, 9, 13, 63). Para os monogástricos, a extração das proteínas de folhas representa uma alternativa ao problema da incapacidade de digerir as proteínas ligadas à material celulósico. No caso dos ruminantes, para os quais a celulose não representa problema, as culturas verdes oferecem teor em proteínas muito superior ao requerido. Para evitar o desperdício e maximizar a utilização do alto rendimento apresentado na extração de proteína de folhas, deve-se destinar uma fração da produção

para aves, suínos e mesmo para alimentação humana. O resíduo fibroso, contendo ainda certa quantidade de proteína não-extraida, poderia ser usado como alimento para ruminantes.

#### 4.3 FONTE DE PROTEÍNAS PARA BIOTECNOLOGIA

Perspectivas muitas interessantes apresentam-se no setor da biotecnologia. As indústrias buscam novos substratos de baixo custo para otimizar os custos de produção. A produção bacteriana ou fúngica de diversos componentes biológicos tais como enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, biomoléculas de interesse para a área da saúde e outras podem ser desenvolvidas a partir de concentrados proteicos. Além das vantagens já anteriormente citadas, deve-se ressaltar a abundância e a facilidade de transporte deste tipo de substrato, garantindo fornecimento uniforme de matéria-prima durante todo o ciclo anual.

#### 4.4 INTERESSE ECONÔMICO PARA AS INDÚSTRIAS DAS REGIÕES PRODUTORAS DE MANDIOCA

Nas regiões produtoras, existem numerosas indústrias familiares de farinha de mandioca. Atualmente, essas farinheiras encontram-se em grandes dificuldades econômicas. A valorização das folhas pode ser uma das alternativas, juntamente com o reaproveitamento da manipueira, para reanimar a economia local. A transformação dos resíduos em produtos de valor agregado maior é talvez a única possibilidade de impedir o desaparecimento destas indústrias familiares e do tecido social ligado a estas.

### 5 CONCLUSÃO

As folhas da mandioca, cultura nativa de grande importância social para o país, apresentam alto teor de proteínas de boa qualidade nutricional. Entretanto, estas proteínas não foram ainda exploradas sob o ponto de vista tecnológico. Estudos posteriores no que tange aos processos de extração e ensaios de aplicação devem resultar no desenvolvimento de novos produtos baseados nesta matéria-prima.

## **Abstract**

Some aspects of leaf proteins, specially from cassava (*Manihot esculenta* Crantz), as physiologic origin, amino acid composition, biochemical properties, nutritional role and technological process are reviewed. Cassava leaves present high protein content (20-30% w/w dry basis), of satisfactory quality when compared to FAO recommended pattern, and also high content of vitamins A and C and minerals. Some potential applications for human nutrition, animal feed or biotechnology industries are discussed.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 ADLER, K., ARKONA, C., MANTEUFFEL, R., SUSS, K. H. Electron-microscopical localization of chloroplast protein by immunogold labelling on cry-embedded spinach. **Cell Biol. Int.**, v. 17, p. 213-220, 1993.
- 2 ALLEN, J. F. How does protein phosphorylation regulate photosynthesis? **Trends Biochem. Sci.**, v. 17, p. 12-17, 1992.
- 3 ALMEIDA, E. X., TERNES, M., AGOSTINI, I. Aproveitamento da parte aérea da mandioca visando a alimentação de bovinos em Santa Catarina. **Rev. Bras. Mand.**, v. 10, n. 1/2 p.15-25, 1991.
- 4 ANDERSON, J. M. Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 37, p. 93-136, 1986.
- 5 BENNETT, J. Protein phosphorylation in green plant chloroplasts. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 42, p. 281-311, 1991.
- 6 BETSCHART, A. A. Nitrogen solubility of alfalfa protein concentrate as influenced by various factors. **J. Food Sci.** v . 39, p. 1110-1115, 1974.
- 7 BURGHOFER, C., LANDRY, J., COSTES, C., Preparation of protein isolates from amaranth leaves. IN: FANTOZZI, P. & TRAYNOR, S. M. **Proceedings of the Third International Conference on Leaf Protein Research**. Itália, Pinerolo :

Chirietti Editori, 1990.  
p. 225-230.

- 8 CAPALDI, R. R. Structure of intrinsic membrane proteins.  
**Trends Bioch. Sci.**, v. 7, p. 292-295, 1982.
- 9 CARVALHO, J. L. H. A mandioca, raiz e parte aérea na alimentação animal. **EMBRATER, Série Articulação Pesquisa e Extensão**, n. 2, 44 p. 1983.
- 10 CARVALHO, V. D. Ácido cianídrico em produtos de Mandioca.  
**Inf. Agropec.**, v. 13, n. 145, p. 88-91, 1987.
- 11 CARVALHO, V. D. & KATO, M. S. A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. **Rev. Bras. Mand.**, v. 5, n. 1, p. 63-70, 1987.
- 12 CARVALHO, V. D., ALMEIDA GONCALVEZ, J.R., BOTREL, N., REZENDE CHAGAS, S .J. Efeito da época de colheita nos teores de compostos fenólicos da parte aérea de três cultivares de mandioca. **Rev. Bras. Mand.**, v. 12, n. 1/2, p. 31-37, 1993.
- 13 CHAVES, J. G. & FERREIRA, P. E. Fracionamento da parte aérea da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). II Coagulação por fermentação e enriquecimento com proteína de origem animal por co-extração. **Rev. Bras. Mand.**, v. 3, n. 2, p. 91-97, 1985.
- 14 CHIARELLO, M. D. & LARRÉ, C. Transglutaminases: aplicação para a modificação de proteínas alimentares. SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 2., Rio de Janeiro, 1995. **Anais...** Rio de Janeiro : Divisão Gráfica UFRJ, 1995. v. 1
- 15 CHIARELLO, M. D., LARRÉ, C., POPINEAU, Y., GUEGUEN, J. Caractérisation des protéines végétales modifiées par des transglutaminases. In: COLÓQUIO "BIOTECHNOLOGIES APPLIQUÉES AUX INDUSTRIES AGROALIMENTAIRES". Nantes, França. **Anais...** França : INRA, 1994. p. 18-20.

- 16 DILLY, H. D. & MATHAN, O. de. L'extraction des protéines de luzerne. *Ind. Alim. Agric.*, v. 10, p. 65-72, 1978.
- 17 DOUILlard, R. Protéines de feuilles et Rubisco. In: GODON, B. *Protéines Végétales: Connaissances Récentes*. Paris : Lavoisier, 1996.
- 18 DOUILlard, R. Purification et caractérisation électrophorétique de la ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygénase de luzerne. *Sci. Aliments*, v. 6, p. 81-89, 1986.
- 19 DOUILlard, R., BEGHIN, V., RAMBOURG, J. C. Concentré de protéines de feuilles de luzerne riches en Rubisco. In: COLLOQUE FAO/EUCARPIA. *Culture, exploitation et sélection de la luzerne pérenne pour différentes utilisations*. França : INRA Lusignan, 1994.
- 20 DOUILlard, R., MATHAN, O. Leaf protein for food use: potential of Rubisco. In HUDSON, B. J. F. *New and Developing Sources of Food Proteins*. London : Chapman & Hall, 1994. p 307-342.
- 21 DOUILlard, R., SONGVILAY KONGPHET, T. Propriétés tensioactives de la ribulose-1,5 biphosphate carboxylase/oxygenase de luzerne native e maltosylée. *Sci. Aliments*, v. 10, p. 175-187, 1990.
- 2 EGGUM, B. O. The protein quality of cassava leaves. *British J. Nutr.*, v. 24, p. 761-768, 1970.
- 23 ELLIS, R. J. The most abundant protein in the world. *Trends Biochem. Sci.*, v. 4, p. 241-244, 1979.
- 24 FANTOZZI, P. & TRAYNOR, S. M. *Proceedings of the Third International Conference on Leaf Protein Research.*, Itália, Pinerolo : Chiriotti Editori, 1990. 260 p.
- 25 FIGUEIREDO, A. de A. & REGO, M. M. Do. Teor proteico e mineral em raízes e folhas de mandioca. *Bol. Tecnol. Centro Tecnol. Agric. Aliment.*, v. 5, p. 23-25, 1973.

- 26 FIORENTINI, R. & GALOPPINI, C. The proteins from leaves. In: BODWELL, C.E., PETIT, L. **Plant proteins for human food.** Netherland : Martinus Nijhoff, 1983. p. 335-350.
- 27 GASTINEAU, I. & MATHAN, O. de. La préparatin industrielle de la protéine verte de luzerne. In: COSTES, C. **Protéines foliaires et alimentation.**, Paris : Gauthier-Villars, 1981. p. 159-182.
- 28 GENIER, G., HUGUET, L., GUY, P., SAUVION, A., TRAINEAU, R. Influence of genotype and management on quality of lucerne. In: **Proceeding of Eucarpia fodder crops section meeting.** Radzikov, Pologne, 1978. p. 124-137.
- 29 GOMEZ, G. & NOMA, A. T. The amino acid composition of cassava leaves, foliage, root tissues and whole-root chips. **Nut. Rep. Int.**, v. 4, n. 33, p. 595-601, 1986.
- 30 HALL, N. T., NAGY, S., BERRY, R. E. Leaves for food: protein and amino acid contents of leaves from 23 tropical and subtropical plants. **Proc. Florida State Hort. Soc.**, v. 88, p. 486-490, 1975.
- 31 HANCZAKOWSKI, P. & SKRABA, B. The effect of different precipitating agents on quality of leaf protein concentrate from luzerne. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v. 12, p. 11-17, 1984.
- 32 HARI, V. A method for two-dimensional electrophoresys of leaf protein. **Anal. Biochem.**, v. 113, p. 332-335, 1981.
- 33 HEATH, S. B. The production of leaf protein concentrates from forage crops. In: NORTON, G. **Plant Proteins.** Londres : Butterworths, 1977. p. 171-189.
- 34 HIRANO, H. Varietal differences of leaf protein in mulberry. **Phytochemistry**, v. 21, p. 1513-1518, 1982.
- 35 HOLZENBURG, A., BEWLEY, M. C., WILSON, F. H., NICHOLSON, W. V., FORD, R. C. Three-dimensional structure of photosystem II. **Nature**, v. 363, p. 470-472, 1993.
- 36 JESUS, V. S. de, MORAES, C. F., TELE, F. F. F., SEDIYAMA, C. S., MORAES, G., H., K, de. Teor de proteína nas folhas de dez variedades de mandioca durante o primeiro ciclo de crescimento. **Revista Ceres**, v. 34, n. 134, p. 366-377, 1987.
- 37 JOHAL, S., BOURQUE, D. P., SMITH, W. W., SUH, S. W. EISENBERG, D. Crystallization and charcterization of ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase from eigth plant species. **J. Biol. Chem.**, v. 255, p. 8873-8880, 1980.

- 38 JOYARD, J. **L'enveloppe des chloroplastes.** Grenoble, 1979. Tese (Doutorado) Ciências Naturais - Université Scientifique et Médicale de Grenoble.
- 39 KUHLBRANDT, W. & WANG, D. N. Three-dimensional structure of plant light-harvesting complex determined by electron crystallography. **Nature**, v. 350, 130-134, 1991.
- 40 LANCASTER, P. A. & BROOKS, J. E. Cassava leaves as human food. **Econ. Bot.**, v. 37., p. 331-348, 1983.
- 41 LEAVER, C. J. & GRAY, M. W. Mitochondrial genome organization and expression in higher plants. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 33, p. 373-402, 1992.
- 42 LE GUERROUÉ, J. L., SURMELY, R, CEREDA, P. M. Quantities and quality of protein extracted from Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves using heat precipitation or acidic coagulation and ultrafiltration procedures. In: CONFERENCE PLANT PROTEINS FROM EUROPEANS CROPS. **Food and non food applications.** Nantes, França, 1996.
- 43 LU, P. S. & KINSELLA, J. E. Extractibility and properties of protein from alfalfa leaf meal. **J. of Food Sci.**, v. 37, p. 94-100, 1972.
- 44 MARTIN, F. W., TELEK, L., RUBERTE, R. Some tropical leaves as feasible sources of dietary protein. **J. Agric. Univ. Puerto Rico**, v. 61, p. 32-40, 1977.
- 45 MENDES, M. A., CAMPOS, O. F., SILVA, J. F. C. Determinação do valor nutritivo da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, var. Salangorzinha). **Planta Integral. Seiva**, v. 38, n. 86, p. 1-5, 1978.
- 46 NAGY, S., TELEK, L., HALL, N. T., BERRY, R. E. Potential food uses for protein from tropical and subtropical plant leaves. **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, p. 1016-1028, 1978.
- 47 NORMANHA, E. S. As folhas de mandioca servem como alimento.. **J. Estado de São Paulo, Supl. Agric**, v. 3, p. 4, 1966.
- 48 OKE, O. L. Leaf protein research in Nigeria: a review. **Trop. Sci.**, v. 15, n. 2, p. 139-155, 1973.
- 49 OLIVIERA, J. P. **Valor nutritivo do feno e da silagem da parte aérea da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).** Lavras, 1984. 57p. Tese (Mestrado), Escola superior de Agricultura de Lavras.
- 50 OTOUL, E. Contribution à l'étude nutritionnelle des feuilles de manioc *Manihot esculenta* Crantz (*Manihot utilissima* Pohl). **Bull. Inst. Agron. Etat. Gembloux.**, v. 8, p. 117-123, 1973.

- 51 PEQUENO, M.G., FLORES, C. O., CEREDA, M. P., PENTEADO, M. V. C. P., CASALI, V., LORENA, C. B. de. *Avaliação de produção foliar e produtos desidratados em oito variedades no município de Renacença, região de Francisco Beltrão, Pr.* 1996. (enviado para publicação)
- 52 PIRIE, N. W. *Leaf protein and other aspects of fodder fractionation.* Cambridge : Cambridge University, 1978.
- 53 PORTIS, Jr. A. R. Regulation of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase activity. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v. 43, p. 415-437, 1992.
- 54 RAMOS-LEDON, L. J. & POPENOE, J. Comparative chemical composition of cultivars of *Manihot esculenta* Crantz and some related species. *Proc. Trop. Reg. Amer. Soc. Hort. Sci.*, v. 14, p. 232-234, 1970.
- 55 REED, J. D., McDOWELL, R. E., SOEST, P. J. V., HORVATH, P. J. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. *J. Sci. Food Agric.*, v. 33, p. 213-220, 1982.
- 56 ROGERS, D. J. & MILNER, M. Amino acid profile of manioc leaf protein in relation to nutritive value. *Econ. Bot.*, v. 17, p. 211-216, 1963.
- 57 ROSS, E. & ENRIQUEZ, F. W. The nutritive value of cassava leaf meal. *Poultry Science*, v. 48, n. 3, p. 845-53, 1965.
- 58 SHEEN, S. J. Thermal modification of the structural and functional properties of fraction-1-protein. *J. Agric. Food Chem.*, v. 37, p. 605-610, 1989.
- 59 SHEEN, S.J., SHEEN, V.T. Effect of chemical and enzymatic degradation on the functional properties of fraction-1-protein. *J. Agric. Food Chem.*, v. 36, p. 445-450., 1988.
- 60 TELEK, L. & GRAHAM, H. D. *Leaf Protein Concentrates.* Westport, AVI., 1983.
- 61 TUPYNAMBA, M. L. V. & VIEIRA, E. C. Isolation of cassava leaf protein and determination of its nutritive value. *Nutr. Rep. Intl.*, v. 19, p. 249-259, 1979.
- 62 UNESCO. *La science et la technologie au service du développement de l'Afrique.* Dakkar : UNESCO, 1974, p.26-28.
- 63 VON TIESENHAUSEN, I. M. E. V. O feno e a silagem da rama de mandioca na alimentação de ruminantes. *Inf. Agropec.*, v. 13, n. 145, p. 42-46, 1987.

- 64 WANG, J. C. & KINSELLA, J. E. Functional properties of novel proteins: alfalfa leaf protein. **J. Food Sci.**, v. 41, p. 286-292, 1976a.
- 65 WANG, J. C. & KINSELLA, J. E. Functional properties of novel proteins: foaming. **J. Food Sci.**, v. 41, p. 498-501, 1976b.
- 66 YEOH, H. H. & CHEW, M. Y. Protein content and amino acid composition of cassava leaf. **Phytochemistry**, v. 15, p. 1597-1599, 1976.