

## A RICINOQUÍMICA E O PROCESSAMENTO DOS SUBPRODUTOS POTENCIALMENTE APTOS PARA A ALIMENTAÇÃO DE MONOGÁSTRICOS: CAPÍTULO 2 - PROCESSAMENTO DOS SUBPRODUTOS PARA A ALIMENTAÇÃO DE MONOGÁSTRICOS

Juliana Cláudia Neves de Santana Silva<sup>1</sup>, Camila Guedes Valadares<sup>2</sup>, Maria do Carmo  
Mohaupt Marques Ludke<sup>2</sup>, Giovani Rotta Bertani<sup>3</sup>, Adiel Sousa Silva<sup>4</sup>, Jorge Vitor  
Ludke<sup>5</sup>

1. Centro Universitário dos Guararapes, PPG - UNIFG, Recife, PE, Brasil;
2. Universidade Federal Rural de Pernambuco, PPG - Zootecnia, Recife, PE, Brasil;
3. Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica, Recife, PE, Brasil;
4. BRANDT do Brasil, Petrolina, PE, Brasil;
5. Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil.

### RESUMO

Neste capítulo estão abordadas questões relativas à composição nutricional dos subprodutos da extração do óleo de mamona e descreve alguns efeitos de processamentos aplicados para inativar fatores tóxicos. A sustentabilidade econômica para a produção da maioria das sementes oleaginosas que chegam às indústrias de processamento/extração é baseada em dois principais produtos: o óleo de alto valor usado para diferentes finalidades e o farelo ou torta que potencialmente pode agregar valor à cadeia produtiva das oleaginosas quando é usado na alimentação animal. No entanto, ao contrário da alta valência do óleo de mamona o farelo somente é usado como fertilizante com efeitos remediadores no solo, muito abaixo de seu valor potencial como uma fonte de proteína para os animais de produção. O farelo de mamona contém compostos bioativos que são um obstáculo para o manejo e uso normal sob forma de ingrediente para ração de monogástricos como a presença de fatores tóxicos (principalmente Ricina), complexo de fatores alergênicos (CB-1A) e, presença de fatores anti-nutricionais a exemplo da alta concentração de fibra bruta. Com adequado tratamento físico-químico os fatores tóxicos e alergênicos podem ser inativados, mas a real efetividade desses processamentos deve ser passível de quantificação para um uso seguro na alimentação animal. No caso específico das aves e dos suínos é importante limitar sob forma de processos mecânicos a presença da fibra bruta no farelo de mamona visando aumentar o potencial de uso nas rações.

**Palavras-Chave:** Farelo de mamona, frangos de corte, fibra bruta, *Ricinus communis* L. e suínos

## ABSTRACT

This chapter addresses issues related to the nutritional composition of the by-products of castor oil extraction and some effects of processes necessary to inactivate toxic factors. The economic sustainability for most oilseeds production that reach the processing/extraction industries is based on two main products: high-value oil used for various purposes and meal or cake that can potentially add value to the oilseed production chain when it is used in animal feed. However, unlike the high valence of castor oil, meal is only used as a fertilizer with remedial effects in the soil, far below its potential value as a protein source for farm animals. Castor bean meal contains bioactive compounds that are an obstacle to the management and normal use in the form of an ingredient for monogastric feed such as the presence of toxic factors (mainly Ricin), complex of allergenic factors (CB-1A) and the presence of anti-nutritional factors such as the high concentration of crude fiber. With adequate physicochemical treatment, toxic and allergenic factors can be inactivated, but the real effectiveness of these processes must be quantified for a safe use in animal feed. In the specific case of swine and poultry, it is important to limit, in the form of mechanical processes, the presence of crude fiber in castor bean meal in order to increase its potential use in feed.

**Keywords:** Broilers, castor meal, crude fiber, *Ricinus communis* L. and Pigs.

## 1. INTRODUÇÃO

A extração do óleo da semente de mamona apresenta um rendimento aproximado de 45% e gera como subproduto a torta ou o farelo em proporção variável que se aproxima ou ultrapassa os 50 %. A valorização dos subprodutos é importante para auxiliar na viabilização da cadeia produtiva. O método utilizado para extrair o óleo depende da sua finalidade: extrações por prensagem a frio são usadas para obter óleo medicinal ou farmacêutico (“extrapale”) e o óleo de uso industrial é obtido via prensagem a quente (80 % de óleo industrial do tipo 1) e de forma complementar com extração via solvente (20 % de óleo industrial do tipo 3). As tortas de mamona resultantes dos processos de extração por prensagem ainda contêm alto teor de óleo (torta gorda). Este é extraído de forma eficiente via extração complementar por solvente gerando o farelo de mamona (ou torta magra) com características de composição nutricional diferentes. Os dois principais destinos para o subproduto são o uso como adubo ou como ingrediente de rações para animais. Na forma não processada a torta de mamona em função da sua riqueza em nutrientes e componentes bioativos é utilizada como adubo orgânico e remediador dos solos (LIMA et al., 2011) e o seu preço (quando comercializado a granel) está abaixo do seu valor potencial como ingrediente de rações para monogástricos. Como ingrediente nas rações de animais a torta ou farelo na forma integral sem fracionamento tem função de fornecedora de proteína cuja concentração pode variar de 28 até 42% dependendo da quantidade de fibra e matéria mineral presentes

no subproduto e, também do óleo residual. Além da obrigatoriedade da inativação dos fatores tóxicos e alergênicos quando do uso na alimentação de monogástricos, e considerando o estágio atual das recomendações nutricionais, a complementação das rações com aminoácidos sintéticos é de fundamental importância para o adequado balanceamento nutricional das dietas de monogástricos. Até mesmo quando do uso da torta ou farelo de mamona como adubo existe o problema potencial da intoxicação (através da Ricina) ou de intensa reação alérgica (devido ao fator alergênico CB1A ou família RCA Aglutininas das Albuminas 2S) da mão-de-obra responsável pelo seu manejo durante as várias etapas até a disposição do adubo nas lavouras e plantações (APEN Jr. et al., 1967). A inativação das Ricinas também protege a vida silvestre no entorno das lavouras. Atualmente uma das alternativas de mercado para a torta/farelo de mamona que mais agrega valor é a formulação de adubos organo-minerais balanceados comercializados em embalagens pequenas para uso doméstico em jardinagem. Embora agregue valor, este é um mercado restrito sem capacidade para absorver toda a produção de torta/farelo. Em algumas regiões do país existe demanda pela torta de mamona a granel para uso em adubação de culturas de alto valor agregado em sistemas intensivos no uso dos fatores de produção principalmente em sistemas de produção orgânica (LIMA et al., 2011).

## **2. MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **2.1. OS FATORES TÓXICOS NO FARELO DE MAMONA**

O subproduto gerado na extração do óleo de mamona contém vários fatores tóxicos de relevante importância que, quando mantidos na torta e no farelo, impedem a inclusão destes subprodutos nas rações de animais de produção sobretudo os monogástricos terrestres. Estes fatores são as Ricinas, o fator alergênico CB1-A e a Ricinina. Dois destes fatores são importantes (tradicionalmente conhecidos como Ricina e o fator alergênico CB-1A), pois quando não inativados de forma adequada representam elevado risco para a sobrevivência e/ou prejudicam o desempenho de algumas espécies de animais. Outro fator como a Ricinina, que é um alcalóide, e tem concentração média de 0,23 % na torta e apresenta atuação apenas moderada sobre o organismo dos animais monogástricos se presentes nas rações ingeridas. Em função de estudos de genômica, segundo Lord e

Spooner (2011) considera-se que a família das Ricinas tem dois componentes principais, ambas lectinas, coletivamente conhecidas como RCA II (*Ricinus communis* Aglutinina II ou Ricina) e RCA (ou RCA I - *Ricinus communis* Aglutinina I). Enquanto a Ricina (a RCA II) é uma lectina de ação moderada e toxidez muito elevada a RCA I, ao contrário, é uma potente lectina, porém praticamente é atóxica. A Ricina (RCA II) é uma glicoproteína classificada como lectina e possui toxidez elevada, está presente na concentração de 1 a 5 % (BRADBERRY et al., 2003) ou 6 a 9% (CHIERICE; NETO, 2001) na baga da mamona. No Brasil, segundo relatos, os níveis de Ricina variam entre 1,4% e 4,5% das proteínas totais na semente. Em função da extração do óleo a concentração da Ricina na torta e no farelo pode ser aumentada até duas vezes. Segundo Audi et al. (2005) a toxidez da Ricina presente no farelo depende da via de entrada no organismo: quando ingerida a dose letal média (LD50) é de 30 mg/kg para camundongos, mas este valor de LD50 é 1000 vezes menor quando a Ricina é inalada ou injetada. Nos humanos, em caso de ingestão, a LD50 é de aproximadamente 10 a 20 mg de Ricina por kg de peso vivo. A Ricina apresenta baixa estabilidade térmica e alta solubilidade em água e dessa forma ela pode ser eliminada por processo de cozimento com vapor de água saturado. Segundo CHIERICE e NETO (2001) o fator CB-1A é um composto protéico-sacarídico, não tóxico, porém, com ação altamente alergênica. A concentração do CB1A é de 3 a 6 % na baga da mamona, e por ser termicamente estável, o cozimento do farelo de mamona é realizado e a adição de óxido/hidróxido de cálcio é imprescindível seguido por processo de extrusão via úmida com aplicação de pressão e temperaturas elevadas (entre 130 e 150 °C) durante poucos segundos (HORTON; WILLIAMS, 1989). Da quantidade total do fator CB-1A residual ainda presente no farelo de mamona apenas 0,01 % é absorvido pelo trato digestivo quando ingerido através das rações de animais (THORPE et al., 1988). Youle e Huang (1978) estabeleceram a homologia entre a classe de proteína de reserva denominada 2S-Albumina e o fator alergênico CB1-A nas condições descritas por Spies e Coulson (1964). Outros autores, mais recentemente, afirmaram que o complexo CB-1A contribui com cerca 12,5 % do peso da torta e apresenta cerca de 20 isoformas de proteínas alergênicas com massa molecular entre 10 e 14 kDa dentro da classe das albuminas 2S.

## 2.2. A FIBRA PRESENTE NOS SUBPRODUTOS

Sob o ponto de vista nutricional a fibra bruta em elevada concentração variando entre 18 e 33% nas tortas e/ou farelos é mais um dos desafios para o uso do ingrediente na

alimentação de aves e suínos. Os diferentes processamentos (cozimento com vapor de água saturada e, na sequência, extrusão via úmida) desde que operados de forma adequada são os descritos na literatura científica como efetivos na inativação dos fatores tóxicos e alergênicos. Porém, em condições operacionais práticas o uso da extrusão é tecnicamente possível apenas quando ingredientes que contenham simultaneamente baixo nível de fibra bruta e alto nível de carboidratos não estruturais são processados. Neste sentido com a presença de alto teor de fibra bruta o processamento do farelo de mamona via autoclave torna-se menos desafiador, mas ainda com alto custo de processamento. Considerando o seu uso potencial na alimentação animal, está bem estabelecido que suínos e aves submetidos a dietas contendo torta ou farelo de mamona não detoxificada têm alta taxa de mortalidade e reduzido ou nenhum ganho de peso. Em função da dinâmica de ingestão e excreção as aves podem se recuperar de intoxicações moderadas a altas de curta duração o que não acontece com suínos que entram em óbito quando intoxicados. Estudos brasileiros desenvolvidos entre 1970 e 1980 e, ainda algumas pesquisas mais recentes, apresentam a torta de mamona como inapta para ser incluída nas rações nutricionalmente balanceadas de suínos, frangos de corte e de poedeiras. O uso da torta de mamona na alimentação de ruminantes foi recentemente, após o ano 2000, avaliado em várias instituições de pesquisa brasileiras. Naqueles estudos, diferentes protocolos de processamento da torta (Embrapa Caprinos e Ovinos, Embrapa Semi-Árido, UFV) foram desenvolvidos e cada proponente considerou satisfatórios os resultados obtidos. Porém, nem todos conseguiram demonstrar elevado desempenho animal mediante a aplicação dos respectivos protocolos de processamento. E, em muitos casos o limite máximo de inclusão nas dietas encontra-se abaixo de 8 % com base na matéria seca.

### 2.3. COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DA TORTA OU FARELO DE MAMONA

Considerando as particularidades dos processamentos para extração do óleo e as concentrações de nutrientes, a torta e o farelo de mamona são incluídos na categoria dos ingredientes não padronizados. Os principais componentes são a proteína, o óleo residual, os minerais e a fibra. A concentração de proteína bruta (PB) pode variar de 25 a 42 % dependendo do grau de exclusão da casca e da intensidade da extração do óleo. Segundo Akande et al. (2015) cerca de 60 % da PB é composta por globulinas, 20 % por glutelinas, 16 % por albuminas e 4 % por proteases. De acordo com Rostagno et al. (2017) o farelo de mamona apresenta um valor médio de 39,2 % de proteína bruta, 1,55 % de extrato etéreo,

18,5 % de fibra bruta, 6,8 % de matéria mineral e valor de energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio para frangos de corte (EMAn) de 1484 kcal/kg e energia metabolizável para suínos de 2084 kcal/kg. Considerando a nutrição de monogástricos o farelo de mamona é deficiente em lisina e treonina e o balanceamento das dietas deve ser realizado com a adição dos respectivos aminoácidos sintéticos. Rostagno et al. (2017) avaliando a composição do farelo de mamona em aminoácidos essenciais e em conformidade com as demandas estabelecidas para frangos de corte e suínos calcularam que, respectivamente, 44 % e 35,9 % da fração nitrogenada total do ingrediente está presente nestes aminoácidos para atender a essencialidade. O óleo de mamona apresenta, em média, 85 a 95 % de ácido ricinoléico, sendo o restante composto por ácidos graxos não hidroxilados (2 a 6 % de ácido linoleico, 0,5 a 1 % de ácido alfa-linolênico, 0,5 a 1 % de ácido esteárico e 0,5 a 1 % de ácido palmítico). Com esta composição média, as características mais importantes do óleo de mamona dizem respeito a sua solubilidade em etanol e em hexano a quente, alta viscosidade, alta reatividade química, é considerado purgativo e é um óleo secativo que provoca irritação intestinal. Segundo Fuller (1971) o ácido ricinoléico não tem ação purgativa quando misturado com alimentos e a adição de 1 a 5 % nas rações não tem efeito adverso em galinhas. Muitas vezes o óleo de mamona entra como adulterante em até 10 % em óleos comestíveis de maior valor agregado (RAUPP, 1973) sem efeitos colaterais. Diferentes níveis tecnológicos para extração do óleo de mamona resultam em diferentes concentrações de óleo residual presente na torta. A concentração de óleo na torta oriunda da extração mecânica via prensa hidráulica situa-se entre 4% e 8 %, porém quando oriundo de processamento com prensa de eixo helicoidal a torta de mamona mantém entre 3% e 5% de extrato etéreo. Na extração por solvente o farelo apresenta menos de 3% de óleo residual geralmente próximo a 1%. Considerando um potencial de 20 % de inclusão em rações balanceadas de aves e suínos uma torta ou farelo que ainda contenha 8 % de óleo residual apenas aporta cerca de 1 a 2 % de óleo de mamona na dieta o que não resulta em efeitos adversos. A matéria mineral no farelo de mamona varia entre 6 e 8 % e dentre os 18 minerais destaca-se a presença do fósforo em 0,8 a 1,0 %, do potássio em 0,65 % e do cálcio e magnésio em 0,5 % cada.

Segundo os relatos científicos mais recentes foi verificado que na base matéria seca, cerca de 60 % do farelo de mamona é formado por carboidratos (CHOT) e praticamente apenas 5 % são carboidratos não fibrosos (CNF), 55 % são Fibra em Detergente Neutro (FDN). Na fração fibra 37 % são Fibra em Detergente Ácido (FDA), a hemicelulose é estimada em 18%, a lignina (cuja digestibilidade para monogástricos é nula) corresponde a



29% e a celulose é estimada em 9 %. Porém, existe ampla variação nos valores de composição química relatados.

Em pesquisas com utilização da torta ou do farelo de mamona na alimentação animal, os ruminantes têm maior destaque e geralmente é utilizada uma das metodologias de detoxificação descritas por Anandan et al. (2005) com a utilização de óxido de cálcio ou hidróxido de sódio. Araújo et al. (2020) com o objetivo de alimentar caprinos com torta de mamona propuseram dois tratamentos fundamentados em adição de álcalis à torta de mamona. Na tabela 1 é apresentado o detalhamento dos carboidratos avaliados pelos pesquisadores. As tortas de mamona utilizadas no estudo foram obtidas após extração do óleo, por prensagem usando temperaturas entre 90 e 100 °C. Depois de misturar a torta com reagentes e água por 3 horas a mistura foi secada ao sol por dois dias. As concentrações de produtos alcalinos (hidróxidos de cálcio e de sódio) utilizadas para 100% desintoxicação de Ricina na torta de mamona foram 90 g  $\text{Ca(OH)}_2$  e 60 g de NaOH por quilograma, respectivamente, que foram diluídos em 2 litros de água. A composição química foi determinada e as concentrações de FDN foram corrigidas para cinzas e nitrogênio conforme proposto por Mertens et al. (2002), e para proteínas de acordo com Licitra et al. (1996). A fração de lignina detergente ácida (LDA) foi extraída com ácido sulfúrico 72% (Van SOEST et al., 1991).

O carboidrato não fibroso (CNF) foi calculado por uma adaptação do método proposto por Hall (2003), utilizando FDN corrigido para cinzas e proteína (FDN<sub>ap</sub>). O teor de carboidratos totais (CHOT) foi obtido usando a equação proposta por Sniffen et al. (1992)  $\text{CHOT} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas})$ . Os valores determinados ou calculados apresentados na tabela 1 para a torta de mamona estão expressos na base 100 % matéria seca e informam via análise química a distribuição das frações nitrogenadas NIDN (1,605 % de N) e NIDA (0,708 % do N) que podem caracterizar, para ruminantes, a disponibilidade relativa dos compostos nitrogenados. Lacerda (2013) determinou valores de 1,00 % de N para NIDN e 1,32 % de NIDA em amostra de farelo de mamona com 59,55 % de FDN, 42,04 % de FDA e 38,17 % de proteína bruta.

**Tabela 1.** Caracterização de torta de mamona submetida a dois tratamentos com álcali conforme descrito por Araújo et al. (2020).

Parâmetros avaliados e/ou calculados expressos com base em 100% matéria seca	Processamento	
	*Ca(OH) <sub>2</sub>	**NaOH
MS - Matéria seca, %	90,42	90,48
Matéria orgânica, %	86,77	85,56
Cinzas, %	13,23	14,44
EE - Extrato etéreo, %	5,21	4,75
PB - Proteína bruta, %	31,54	30,90
NIDN – proteína insolúvel em detergente neutro, %	10,03	10,27
NIDA - nitrogênio insolúvel em detergente ácido, %	4,88	4,94
Carboidrato total, % (CHOT = 100 - %PB - %EE - % Cinzas)	50,01	49,26
Carboidrato não fibra, % (CNF = CHOT - FDN)	10,39	13,24
FDN - Fibra detergente neutro, %	48,34	44,35
FDNap - FDN corrigido para cinza e proteína bruta, %	39,62	36,02
<sup>1</sup> Hemicelulose, % (HCL = FDN - FDA)	10,42	5,48
FDA - Fibra detergente ácido, %	37,92	38,87
<sup>1</sup> Celulose, % (CL = FDA - Lignina)	32,85	34,23
LDA – Lignina em detergente ácido, %	5,07	4,64

\*Ca(OH)<sub>2</sub> - 0,9 g/kg de MS de Na e 22,25 g/kg de MS de Ca; \*\*NaOH - 29,2 g/kg de MS de Na e 0,63 g/kg de MS de Ca; <sup>1</sup>Valores calculados e tabela adaptada de Araújo et al. (2020).

#### 2.4. AVALIAÇÃO DE PROCESSAMENTOS DA TORTA DE MAMONA

Atualmente existem muitos processos para detoxificação das tortas e dos farelos de mamona (MCKEON et al., 2013), porém ainda não existem métodos padronizados rápidos de baixo custo que os validem. Anandan et al. (2005) nos estudos de controle da concentração da Ricina estabeleceu um nível de 91 % de redução da presença com o uso de solução 0,75 Molar de hidróxido de sódio (3 g/mL) ou com uma solução de cloreto de sódio (3 g/mL) ou, ainda, uma redução de 100 % em solução de óxido de cálcio (3 g/mL) com 40 g/kg em temperatura ambiente por um período de 12 horas. A redução de 100 % também foi obtida com autoclavagem por 60 minutos.

Embora seja possível caracterizar/quantificar a concentração de Ricina e fatores alergênicos, através de diferentes técnicas laboratoriais, a toxidez relativa da Ricina em cada



caso ainda permanece sem ser definida. Foram avaliados cinco diferentes processamentos de subproduto de mamona que foi produzido a partir de um único lote de mesma colheita da mamona da cultivar BRS Nordestina. O procedimento industrial para geração dos diferentes subprodutos de mamona foi desenvolvido em escala piloto em uma unidade extratora de óleos localizada em Pesqueira, PE. As etapas consistiram no cozimento das sementes de mamona via vapor em batelada usando caldeirão industrial, passagem da massa cozida quente por duas prensas mecânicas dispostas sequencialmente com retirada parcial do óleo e submissão da torta resultante em contracorrente ao solvente (etanol usando um catalisador como adjuvante). As prensas utilizadas são idênticas a aquelas usadas para extração de óleo de algodão. Os processamentos dos subprodutos foram: FMA - tratamento que não sofreu lavagem por etanol para retirada do óleo residual da torta e cujo produto foi seco em temperatura de 80°C, sendo denominado este processamento de torta tradicional; FMB - tratamento em que o produto sofreu lavagem por etanol por 20 minutos e recuperação do álcool à temperatura de 80°C e sofreu posterior secagem a 80°C, denominado como processamento normal sem utilização de NaOH; FMD - tratamento em que a torta sofreu lavagem com o álcool por um período de 6 minutos e recuperação do etanol à temperatura de 80°C com a utilização da neutralização por NaOH em concentração de 5% e posterior secagem por dois dias ao sol; FME - tratamento em que a torta sofreu lavagem com álcool durante 6 minutos e recuperação do etanol a temperatura de 80°C com a utilização da neutralização por NaOH em concentração de 5% e posterior processamento por peletização; FMF - tratamento em que a torta sofreu lavagem com álcool por um período de 15 minutos e recuperação do etanol à temperatura de 110°C e sofreu posterior secagem a 110°C. A composição química da torta de mamona (FMA) e dos farelos submetidos ao banho de etanol (FMB, FMD, FME, FMF) está na tabela 2. Observa-se que o banho com etanol independente do tempo de duração conseguiu melhorar a extração de óleo residual, em média em 20,8%, conforme era o objetivo e pode ter sido efetivo para atuar sobre alguns compostos bioativos. Foram observadas variações na composição bromatológica dos ingredientes avaliados para a matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra bruta e cinzas que se devem provavelmente às diferenças em relação aos processamentos (térmico e/ou químico) no qual foram submetidos os farelos de mamona B, D, E, F quando comparados à torta de mamona FMA (sem processamento). Segundo Mottola et al. (1971) podem ocorrer modificações nos constituintes nutricionais do ingrediente ao se utilizar tratamentos térmicos para inativação de fatores antinutricionais. A torta de mamona FMA, apresentou valores satisfatórios na composição química de matéria seca (91,34%), proteína bruta (32,68%) e extrato etéreo

(11,95%). Entretanto, por este não ter recebido tratamento de inativação, é um ingrediente inadequado à alimentação dos monogástricos.

Costa et al. (2009) ao avaliarem um farelo de mamona oriundo da mesma unidade extratora de óleos (processamento semelhante ao farelo de mamona FMB), determinaram os seguintes valores para a composição química: matéria seca de 93,77%, proteína bruta de 30,51%, extrato etéreo de 5,72%, fibra bruta de 43,10% e cinzas de 6,18% sendo diferentes dos encontrados nesta pesquisa. O teor de extrato etéreo do farelo de mamona FMB (10,92%) no presente estudo, foi duas vezes maior dos encontrados por Costa et al. (2009), decorrente da menor eficiência de extração mecânica das duas prensas dispostas em série na unidade extratora de óleos visto que ajustes foram implementados no processamento visando maior preservação das células de prensagem mecânica e visando melhorar o fluxo de massa nestas prensas.

**Tabela 2.** Identificação de diferentes processamentos da torta de mamona realizada em escala piloto através da extração do óleo via prensa, composição química e valores de energia bruta dos subprodutos expressos na matéria natural.

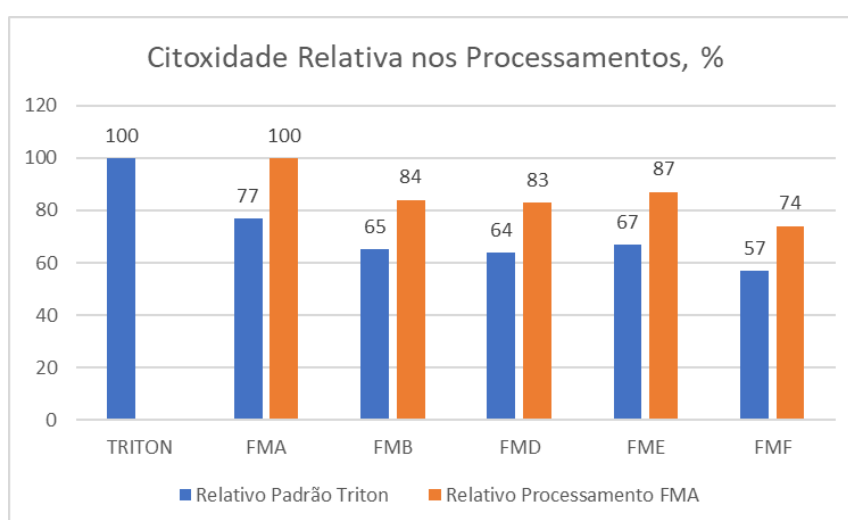
Parâmetro	Processamentos de subprodutos da extração de óleo de mamona				
	FMA	FMB	FMD	FME	FMF
Uso de solvente (temperatura / tempo, min.)	Não	80°C / 20 min.	80°C / 6 min.	80°C / 6 min.	110°C / 15 min
Uso de NaOH	Não	Não	5 %	5 %	Não
Processamento final	Secagem 80°C	Secagem 80°C	Secagem sol (2 dias)	Peletização	Secagem 110°C
Composição nutricional <sup>1</sup>					
Matéria seca, %	91,34	91,33	90,77	89,45	90,61
Proteína bruta, %	32,68	28,21	29,92	31,02	29,77
Extrato etéreo, %	11,9	10,93	8,44	9,24	9,08
Fibra bruta, %	24,19	26,94	29,72	28,43	27,72
FDN (%)	41,08	45,44	42,68	42,78	47,20
FDA (%)	30,41	33,52	30,99	30,98	36,33
Cinzas, %	5,52	5,90	6,19	6,05	5,85
EB (Kcal/kg)	4884	4757	4680	4734	4700
CMAEB	NA	64,00±4,2	63,77±1,0	65,04±2,0	65,51±1,7

<sup>1</sup>Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia da UFRPE; proteína bruta = nitrogênio (via Kjeldahl) x 6,25; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; EB = Energia bruta; CMAEB = Coeficiente de metabolização aparente da energia bruta avaliado com frangos; NA = não avaliado.

As amostras dos subprodutos gerados através dos cinco processamentos foram analisadas no Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos (LQFPP) do Centro de Ciências e Biotecnologia (CBB) na Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) através de técnicas padronizadas de ensaio biológico para toxicidade de Ricina. Para determinar a eficiência dos processamentos aplicados visando inativar os fatores antinutricionais foi utilizado um ensaio biológico com células Vero que tem limite de detecção de Ricina de 10 ng/mL quando é usada uma concentração de  $1,6 \times 10^5$  células por ponto de observação. As células Vero (de rim de macaco de pelagem dourada-esverdeada - *Chlorocebus sabaeus*) são caracterizadas como uma linha de células de crescimento contínuo que são aneuplóides e crescem indefinidamente quando em meio de cultura adequado. As células foram cultivadas a 37°C em meio de cultura mínimo essencial de Eagle modificado por Dulbecco/Vogt (Dulbecco's modified Eagle's medium - DMEM) suplementado com 5% soro fetal bovino e penicilina-estreptomicina. Para início da atividade de quantificação da concentração de Ricina as células Vero foram liberadas via tratamento com tripsina (0.5 mg/mL) com EDTA (0.2 mg/mL) e mantidas em solução salina fosfatada tampão (PBS 1X – pH 7,0) por 5 minutos a 37°C. Em cada ponto de observação as células suspensas no meio de cultura foram mantidas a 37°C durante 48 horas. Células incubadas com PBS, pH 7,0, foram usadas como controle negativo e células incubadas em Triton X-100 40 (surfactante não-iônico) foram usadas como controle positivo. Para determinar a toxicidade foi realizado um ensaio de atividade de Lactato Desidrogenase (LHD). A morte celular foi medida usando um kit de detecção de citotoxicidade da Roche após 24 e 48 horas de incubação. O sobrenadante da cultura das células (100 µL) foi colocado em cada ponto de leitura seguido da adição de 100 µL LDH de solução de detecção e incubado na ausência de luz por 30 minutos a temperatura ambiente. A quantificação foi realizada usando uma leitora de microplacas Thermo com absorvância em 490 nm. A citotoxicidade foi calculada seguindo a recomendação pelo fabricante do kit. Cada amostra foi testada em triplicata. As proteínas das amostras dos farelos de mamona dos diferentes processamentos foram extraídas para solução PBS, pH 7,0 (1:4) e a mistura foi agitada por 3 h a 20°C seguida de centrifugação a 12.000 g por 15 minutos. As amostras foram filtradas e incubadas com as células na concentração de 10 µg/mL. Cada incubação foi realizada em triplicata. A morte celular foi estimada através da atividade LDH (Lactato Desidrogenase) liberada. Na figura 1 estão apresentadas as porcentagens de citotoxicidade relativas ao controle positivo Triton X-100 para os diferentes tipos de processamentos dos subprodutos e citotoxicidade entre os

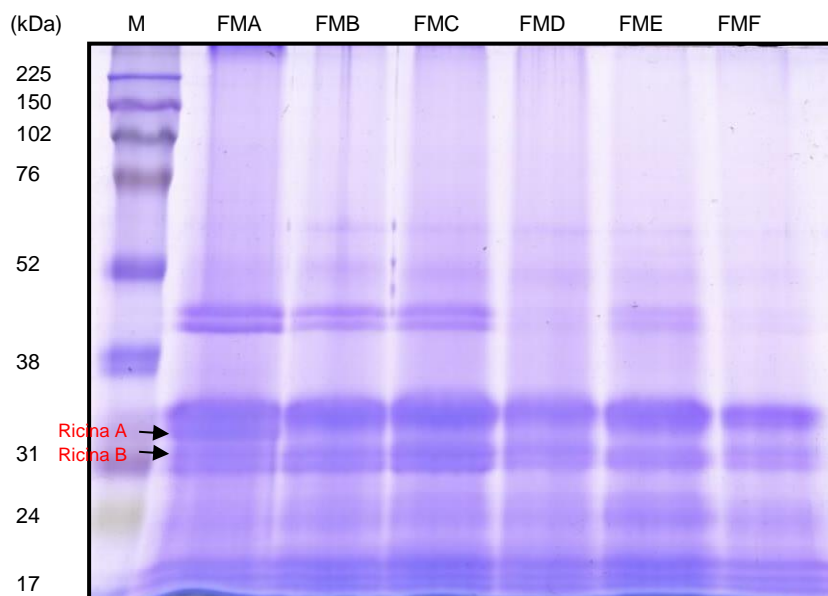
processamentos tomando a torta de mamona - FMA sem processamento adicional como referencial.

Na figura 2 está apresentado o resultado do gel de eletroforese. Estão identificadas com duas setas as bandas referentes às cadeias A e B da Ricina. Como o gel de poliacrilamida em dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é um gel desnaturante, pois usa beta-mercaptoetanol, a ponte disulfeto que liga as cadeias é desfeita, e por isso ficam evidenciadas duas bandas de cerca de 32 kDa e 34 kDa ao invés de uma única banda de 60 kDa. O volume de amostra aplicado em cada raia foi o mesmo (15 uL de extrato proteico bruto da torta ou farelos avaliados).



**Figura 1.** Citotoxicidade relativa para os diferentes tratamentos dos subprodutos de mamona mediante avaliação com células Vero e técnica de concentração de LDH no comparativo com Triton ou referencial FMA torta de mamona sem processamento adicional.

A amostra FMC foi incluída como controle interno do laboratório com perfil conhecido para Ricina. As concentrações de Ricina (% em m/m, gramas por 100 gramas de farelo) avaliadas mediante eletroforese em gel (SDS-PAGE), densitometria e dosagem de proteína total nas bandas de Ricina presentes no gel foram 0,330 para o FMA, 0,399 para o FMB, 0,205 para o FMD, 0,318 para o FME e 0,165 para o FMF.



**Figura 2.** Resultado do gel de eletroforese SDS-PAGE (12%) para processamentos de subprodutos da extração do óleo de mamona (torta - FMA e farelos até FMF) e Coluna M = marcador DNA. Em cada coluna foram carregados 15 microgramas de extrato proteico bruto por amostra.

A correlação entre a citotoxicidade relativa usando células Vero com a dosagem de proteína total nas bandas entre as amostras FMB, FMD, FME, FMF foi de 0,727. Neste sentido verifica-se que a concentração de Ricina total nem sempre acompanha a citotoxicidade, pois existem diferentes níveis de toxidez para as diferentes isoformas de Ricina que são detectadas. Porém, a correlação entre a citotoxicidade relativa e o coeficiente de metabolização aparente da energia bruta (CMAEB) avaliado com frangos de corte apresentado na tabela 1 foi de -0,949 indicando que quanto menor a toxidez relativa avaliada com células Vero tanto maior foi o CMAEB, isto é, o aproveitamento energético do farelo aumentou.

Amostras da torta de mamona (FMA) e dos farelos (FMB, FMD, FME, FMF) submetidos aos diferentes processamentos foram analisadas no Laboratório Avançado de Tecnologia de Química da Embrapa Algodão para determinação da concentração de Ricina conforme apresentado na figura 3. A extração das proteínas dos subprodutos da extração do óleo foi obtida segundo Anandan et al. (2005) e os extratos foram submetidos a cromatografia de exclusão molecular com fase móvel usando o Ácido Trifluoroacético 0,1% (TFA) e na fase estacionária usando o Sephadex G-50. O equipamento utilizado foi o BioLogic LP da Bio-Rad (Hercules, CA, USA). Os extratos foram diluídos duas vezes com 20

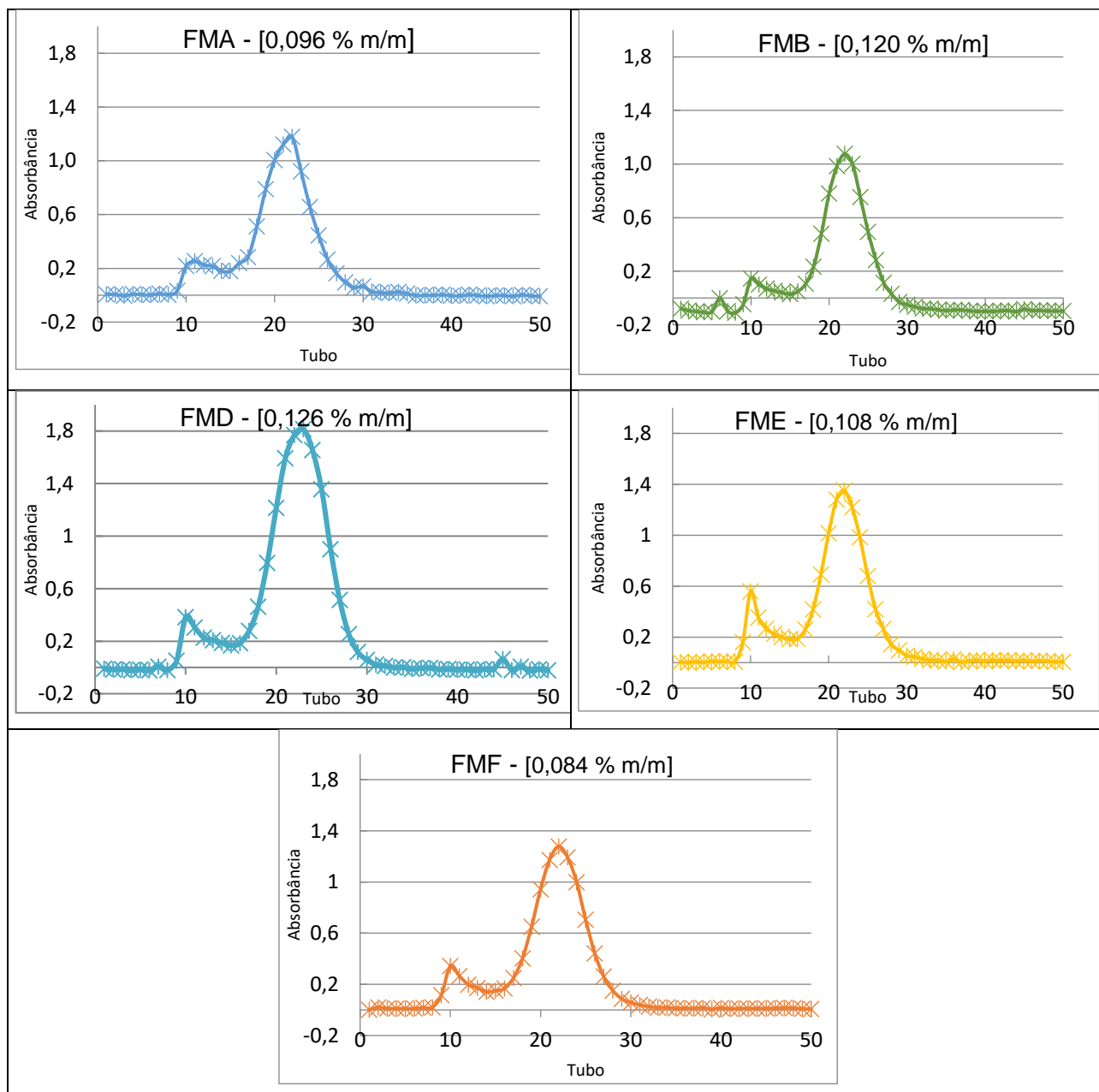
mM Tris-HCl, pH 7,5 e aplicado em uma coluna HighQ (Bio-Rad) usando o Sistema Cromatógrafo BioLogic LP da Bio-Rad em taxa de transporte de 3 ml/min a 4°C e leitura em 280 nm. Com esta metodologia são separadas 3 frações proteicas: a) rica em ricina, b) rica em albuminas 2S e, c) rica em peptídeos de baixa massa molecular. A área integrada debaixo da curva representa o valor de concentração calculado.

## 2.5. METODOLOGIA SIMPLES PARA SEGREGAR A FIBRA DO FARELO DE MAMONA

Foi estabelecida uma rotina de fracionamento do farelo através de segregação granulométrica de modo a estabelecer um ingrediente proteico com baixa concentração de fibra apto para compor as rações de aves e suínos. O farelo foi obtido da linha de produção de uma indústria paulista de extração de óleos por solvente. Diferentes granulometrias foram obtidas usando um agitador mecânico Granutest ao qual foram acopladas nove peneiras e o prato disposto na ordem de maior abertura até a menor abertura e disposição do prato na base. Da maior abertura para a menor foram usadas as peneiras (ABNT) 5, 10, 16, 30, 35, 50, 60, 100, 140 e Prato (base). O agitador foi abastecido com 200 gramas de farelo a ser peneirado e foi regulado para um tempo padrão de dez minutos em cada batelada. Foram realizadas 18 operações de fracionamento. Em cada batelada a quantidade de material retida em cada peneira foi pesada e anotada para o cálculo da porcentagem retida. As frações de cada uma das peneiras foram agrupadas em triplicata (cada uma contendo seis repetições de mesma granulometria). Para cada granulometria foram analisadas a matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), energia bruta (EB), cinzas (CZ), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg) e sódio (Na).

A melhor combinação de rendimento e composição nutricional foi obtida com o acumulado que passa na peneira ABNT 30 (abertura de 0,6 mm) contendo 31,56% da amostra original e tendo a seguinte composição nutricional em base natural: MS 90%, PB 57,42%, FB 5,61%, EB 4091 Kcal/kg, CZ 11,72%, EE 1,24%, Ca 0,58%, P 1,25%, K 1,52%, Mg 0,93% e sódio 64 ppm.





**Figura 3.** Resultados de concentração de Ricina determinados via cromatografia de exclusão molecular com fase móvel para processamentos de subprodutos da extração do óleo de mamona (torta - FMA e farelos FMB, FMD, FME e FMF).

Através do fracionamento foi possível obter um ingrediente com alto valor proteico e baixo teor de fibra bruta potencialmente adequado para aves e suínos. Lacerda (2013) triturou previamente uma amostra de farelo de mamona oriunda da mesma indústria de extração de óleos por solvente localizada em São Paulo e, na sequência separou as frações usando diferentes aberturas de peneira classificando o acumulado que passou na peneira ABNT/ASTM 50 (com abertura de 0,3 mm) e obteve 52,13% de rendimento da amostra original com MS 92,85 %, Cinzas 14,82 %, EE 3,11 %, PB 49,26 % e FB 11,57 %. Assim

através de diferentes técnicas de fracionamento é possível obter um rendimento pré-determinado do ingrediente para rações de monogástricos com composição nutricional específica dando ênfase para baixa concentração de fibra bruta.

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre os inúmeros processamentos para inativar a Ricina e fatores alergênicos da torta ou farelo de mamona os que apresentam maior potencial de êxito são os tratamentos com álcali que conseguem atingir um pH acima de 11 no substrato. Quando complementados com tratamento térmico em autoclave é possível obter 100 % de redução nos fatores tóxicos e alergênicos. A adição de álcali aumenta a concentração de sódio ou de cálcio para valores acima do que é recomendado como nível nutricional adequado aos animais. Neste sentido a dose ótima de combinação de óxido de cálcio, hidróxidos de sódio e potássio precisa ser avaliada em condições de autoclavagem para obter segurança na inocuidade do ingrediente. A técnica de fracionamento para reduzir a presença de fibra e aumentar o teor de proteína é viável a nível industrial. A ampla disponibilidade comercial dos aminoácidos sintéticos mais limitantes nas dietas das aves e suínos permite que o farelo de mamona de baixa fibra possa substituir o farelo de soja com vantagens econômicas.

### 4. REFERÊNCIAS

AKANDE, T. O.; ODUNSI, A. A.; AKINFALA, E. O. A review of nutritional and toxicological implications of castor bean (*Ricinus communis* L.) meal in animal feeding systems. **J Anim Physiol Anim Nutr**, v. 100, p. 201-210, 2015.

ANANDAN, S.; KUMAR, A.G.K.; GHOSH, J.K.S. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, n.1, p.159-168, 2005.

APEN JR., E. M.; COOPER, W. C.; HORTON, R. J. M.; SCHEEL, L. D. **Health aspects of castor bean dust - Review and bibliography**. Cincinnati, Ohio: U. S. Department of Health, Education, and Welfare, 1967.

ARAÚJO, R. A.; POMPEU, R. C. F. F.; CÂNDIDO, M. J. D.; ROGÉRIO, M. C. P.; et al. Detoxified castor in the diets of dairy goats: I. Effects on intake, digestibility, and renal and hepatic parameters. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, p. e20190141, 2020.

- AUDI, J.; BELSON, M.; PATEL, M.; SCHIER, J.; et al. Ricin Poisoning - A comprehensive review. **Journal of American Medical Association**, v. 294, n. 18, p. 2342-2351, 2005.
- BRADBERRY, S.M.; DICKERS, K.J.; RICE, P.; GRIFFITHS, G. D.; et al. Ricin poisoning. **Toxicological Review**, v. 22, n. 1, p. 65-70, 2003.
- CHIERICE, G.; NETO, S.C. **Aplicação industrial do óleo**. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. O agronegócio da mamona no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2001.
- COSTA, A. A. G.; LUDKE, M. C. M. M.; LUDKE, J. V.; COSTA, W.M.; et al. Digestibilidade de nutrientes do farelo de mamona pelo método de dissecação em tilápia do Nilo. **Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão (JEPEX)**, Recife, 2009.
- FULLER, G., WALKER, H.G., MOTTOLA, A.C. KUZMICKY, D. D.; et al. Potential for detoxified castor meal. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 48, p. 616–618, 1971.
- HALL, M. B. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 3226-3232, 2003.
- HORTON, J.; WILLIAMS, M.A. A cooker-extruder for deallergenation of castor bean meal. **The Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 66, n. 2, p. 227-231, 1989.
- LACERDA, R. S. **Caracterização química, bioquímica, e físico-química da torta de mamona para seu aproveitamento na produção de material biodegradável e na alimentação animal**. (Tese) Doutorado - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, FZEA - USP, Pirassununga, SP, 2013.
- LICITRA, G.; HERNANDES, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardizations of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, n. 4, p. 347-358, 1996.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standartization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347-358, 1996.
- LIMA, R. L.; SEVERINO, L. S.; SAMPAIO, L. R.; SOFIATTI, V.; et al. Blends of castor meal and castor husks for optimized use as organic fertilizer. **Ind. Crop. Prod.** v. 33, p. 364-368, 2011.
- LORD, J. M.; SPOONER, R. A. Ricin Trafficking in Plant and Mammalian Cells. **Toxins**, v. 3, p. 787-801, 2011.
- MCKEON, T. A.; SHIM, K. B.; HE, X. Reducing the toxicity of castor seed meal through processing treatments. **Biocatal Agric Biotechnol**, v. 2, p. 159-161, 2013,
- MERTENS, D. R.; ALLEN, M.; CARMANY, J.; CLEGG, J.; et al. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.
- MOTTOLA, A.C.; MACKEY, B.; HERRING, V. Castor meal antigen deactivation pilot plant steam process. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 48, p. 510-513, 1971.
- RAUPP, D. S. **Redução da atividade alergênica do farelo industrial de mamona (*Ricinus communis* L.) por processos químicos-hidrotérmicos**. (Dissertação) Mestrado em

Ciências de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, FEAA - UNICAMP, Campinas, SP, 1983.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017.

SNIFFEN C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SPIES, J. R.; COULSON, E. J. The Chemistry of Allergens: XVI. Ion exchange fractionation of the castor bean allergen, CB-1A, and antigenic specificity. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 239, n. 6, p. 1818-1827, 1964.

THORPE, S. C.; KEMENY, D. M.; PANZANI, R. C.; MCGURL, M. L.; et al. Allergy to castor bean. II - Identification of the major allergen in castor bean seeds. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 77, n. 3, p. 67-72, 1988.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

YOULE, R.; HUANG, A. H. C. Albumin Storage Proteins in the Protein Bodies of Castor Bean. **Plant Physiology**, v. 61, n. 1, p. 13-16, 1978.