

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

**DESTOXIFICAÇÃO DA TORTA DE MAMONA POR PRODUTOS QUÍMICOS
ALTERNATIVOS**

IGO RENAN ALBUQUERQUE DE ANDRADE

FORTALEZA – CE
NOVEMBRO DE 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

**DESTOXIFICAÇÃO DA TORTA DE MAMONA POR PRODUTOS QUÍMICOS
ALTERNATIVOS**

IGO RENAN ALBUQUERQUE DE ANDRADE
Zootecnista

FORTALEZA – CE
NOVEMBRO DE 2015

IGO RENAN ALBUQUERQUE DE ANDRADE

**DESTOXIFICAÇÃO DA TORTA DE MAMONA POR PRODUTOS
QUÍMICOS ALTERNATIVOS**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. Magno José Duarte Cândido

Co-orientador: Dr. Antonio Silvio do Egito

FORTALEZA – CE

NOVEMBRO DE 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

A565d Andrade, Igo Renan Albuquerque de.
Destoxificação da torta de mamona por produtos químicos alternativos / Igo Renan
Albuquerque de Andrade. – 2015.
90 f. : il., color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,
Departamento de Zootecnia, Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, Fortaleza, 2015.
Área de Concentração: Forragicultura.
Orientação: Prof. Dr. Magno José Duarte Cândido.
Coorientação: Prof. Dr. Antonio Silvio do Egito.

1. Aglutininas. 2. Mamona. 3. Estudos de viabilidade - Economia. I. Título.

CDD 636.08

IGO RENAN ALBUQUERQUE DE ANDRADE

**DESTOXIFICAÇÃO DA TORTA DE MAMONA POR PRODUTOS
QUÍMICOS ALTERNATIVOS**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Zootecnia.

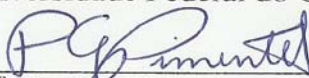
Área de concentração: Forragicultura

Tese defendida e aprovada em 20/11/2015

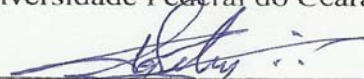
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Magno José Duarte Cândido (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC



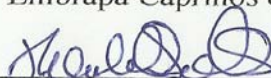
Prof.ª Dr.ª Patrícia Guimarães Pimentel (Membro)
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Rodrigo Gregório da Silva (Membro)
Instituto Federal do Ceará – IFCE



Dr. Roberto Cláudio Fernandes Franco Pompeu (Membro)
Embrapa Caprinos e Ovinos



Dr.ª Hévila Oliveira Salles (Membro)
Embrapa Caprinos e Ovinos

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

IGO RENAN ALBUQUERQUE DE ANDRADE – Nascido em Fortaleza, no estado do Ceará, no dia 18 de março de 1986, filho de Vicente Gilvan Alves de Andrade e Maria Salete Albuquerque de Andrade. Iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Federal do Ceará em 2004, ano em que foi voluntário em atividades de iniciação científica no setor de ovinocaprinocultura. Em agosto de 2005, tornou-se bolsista de Iniciação Científica – PIBIC/UFC, no Laboratório de Estudos em Reprodução Animal, permanecendo por um período de dois anos, exercendo atividades de pesquisa nas áreas de conservação de sêmen e características do plasma seminal de caprinos. Em 2006, participou da fundação da Empresa Júnior de Consultoria e Assessoria em Zootecnia – EMZOOTEC Jr., a qual presidiu durante o período de outubro de 2006 a outubro de 2007. Em agosto de 2007, tornou-se bolsista de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq na área de Nutrição Animal, permanecendo por um período de um ano e três meses, desenvolvendo pesquisas na área de avaliação de alimentos alternativos para pequenos ruminantes. No final de 2008, graduou-se em Zootecnia. Em 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, no qual foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, obtendo o título de Mestre em Zootecnia em 2011. No mesmo ano, iniciou o curso de doutorado no programa de Doutorado Integrado em Zootecnia – PDIZ da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco, exercendo as atividades na Universidade Federal do Ceará. Nesse período, foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, desenvolvendo, além dos trabalhos de pesquisa, atividades voltadas para a docência universitária.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

DEDICO

A Deus, por abençoar-me, guiar-me e dar-me forças nos momentos difíceis, além da imensa alegria de poder viver ao lado de uma família maravilhosa.

Aos meus queridos pais, Vicente Gilvan Alves de Andrade e Maria Salete Albuquerque de Andrade, que me apoiaram e me ensinaram sempre a agir com dignidade, dentro dos ensinamentos de Deus.

À minha irmã Isabele, por tudo que representa em minha vida.

À minha noiva Monalisa Eva, por todo o carinho, respeito, dedicação e amor, ajudando-me a superar todos os momentos difíceis.

Ao meu afilhado José Gustavo, por todo o amor e felicidade que me proporciona a cada sorriso

A todos os meus primos e tios, que sempre tornam meus dias mais felizes, com o mais belo presente de Deus: uma família magnífica.

Aos meus avós (*in memoriam*) que, apesar de já se encontrarem ao lado de Deus, me deram ensinamentos valorosos que levarei por toda a minha vida.

Que Deus abençoe todos vocês!

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por sempre está ao meu lado, me iluminar nos momentos difíceis e sempre me manter no caminho do bem. Toda honra e toda glória a ti, Senhor!

À minha família, por toda a força e confiança que me passam a cada dia, vocês são tudo para mim!

À minha noiva Monalisa Eva, por ter me ajudado a superar os momentos difíceis com palavras e gestos de carinho.

À Universidade Federal do Ceará e à Embrapa Caprinos e Ovinos, por todo o suporte para o desenvolvimento do curso de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador, professor Dr. Magno José Duarte Cândido, por toda a orientação, dedicação, ensinamentos e oportunidade para execução deste trabalho.

Ao meu co-orientador, Dr. Antonio Silvio do Egito, por todos os ensinamentos e suporte para condução da parte bioquímica do experimento.

Ao pesquisador e amigo, Dr. Roberto Cláudio Fernandes Franco Pompeu, por todos os ensinamentos, conselhos e conversas durante o curso.

Aos pesquisadores Dra. Hévila Oliveira Salles, Dr. Marco Aurélio Delmondes Bomfim e ao professor Dr. Rodrigo Gregório da Silva, por toda a orientação para o desenvolvimento do trabalho.

A todos os professores que fazem parte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará.

Ao meu amigo e zootecnista, Tibério Sousa Feitosa, por toda a ajuda para o desenvolvimento desta Tese.

Ao meu amigo Dr. Fernando Guedes, por toda a ajuda, conversas e momentos de descontração, me ajudando a superar a distância da minha família, como se fosse um irmão.

Ao meu amigo Abner, por todos os momentos de descontração que me proporcionou durante o duro período experimental.

Ao Dr. Henrique Antunes de Sousa, por todo o apoio e conselhos durante o desenvolvimento do experimento.

Aos meus colegas e laboratoristas da Embrapa Caprinos e Ovinos, Batista, João Ricardo, Liana, Lidiana, Tabosa e Terezinha.

Ao meu amigo Alano Luna, por todas as conversas e apoio durante a redação dos trabalhos científicos.

A todos os colegas do curso de Pós-graduação em Zootecnia.

A todos os funcionários da Faculdade de Tecnologia CENTEC – FATEC Sertão Central, em especial, ao meu amigo Jardel.

Aos animais experimentais, vaca Loira e coelho Bob que, literalmente, deu o sangue pelo experimento.

A todos aqueles que contribuíram de forma direta e indireta para a execução deste experimento.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

Resumo Geral.....	xiv
General Summary.....	Erro! Indicador não definido.
Considerações Iniciais.....	1
Inativação das lectinas da torta de mamona através do uso de produtos químicos alternativos	4
Resumo.....	5
Abstract	6
Introdução	7
Material e métodos.....	9
Resultados e Discussão	13
Conclusões	24
Referências Bibliográficas	25
Parâmetros Nutricionais de Tortas de Mamona Destoxificadas por Diferentes Soluções Alcalinas.....	30
Resumo.....	31
Abstract	33
Introdução	34
Material e Métodos	35
Resultados e Discussão	38
Conclusões	51
Referências Bibliográficas	52
Estimativas do custo máximo de diferentes tortas de mamona destoxificadas por tratamentos alcalinos e seu uso na formulação de dietas para vacas leiteiras.....	56
Resumo.....	57
Abstract	58
Introdução	59
Material e Métodos	60
Resultados e Discussão	62
Conclusões	70
Referências Bibliográficas	71

Considerações Finais..... 74

LISTA DE TABELAS

Parâmetros Nutricionais de Tortas de Mamona Destoxificadas por Diferentes Soluções Alcalinas

Tabela 1. Composição química das tortas de mamona <i>in natura</i> e destoxificadas através de diferentes tratamentos químicos	39
Tabela 2. Parâmetros da degradação ruminal e degradabilidade efetiva da matéria seca, da proteína bruta e da fibra em detergente neutro das tortas de mamona tratadas com diferentes soluções químicas alcalinas	48
Tabela 3. Teores de proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR), digestibilidade intestinal da PNDR (DIPNDR), proteína não degradável no rúmen digestível no intestino (PNDRdi) e proteína bruta disponível para o ruminante (PB disp.).....	50

Estimativas do custo máximo de diferentes tortas de mamona destoxificadas por tratamentos alcalinos e seu uso na formulação de dietas para vacas leiteiras

Tabela 1. Composição química e custo de mercado das diferentes matérias primas utilizadas na formulação das diferentes rações concentradas	62
Tabela 2. Exigências nutricionais dos animais e valor nutritivo das dietas formuladas com farelo de soja e tortas de mamona destoxificadas com diferentes preços de mercado	63
Tabela 3. Relação volumoso:concentrado, custo total da dieta e da fonte proteica das rações formuladas com o farelo de soja e com as diferentes tortas de mamona destoxificadas nos diferentes preços de aquisição	65
Tabela 4. Composição centesimal dos concentrados formulados com as diferentes tortas de mamonas destoxificadas adotando os diferentes preços de mercado.....	67

LISTA DE FIGURAS

Inativação das lectinas da torta de mamona através do uso de produtos químicos alternativos

Figura 1. Caracterização eletroforética (SDS-PAGE 15,4%) das proteínas da torta da mamona tratada com diferentes produtos químicos (90 g de produto químico e 3000 mL de água/kg de torta)	13
Figura 2. Degradação (%) das lectinas citotóxicas presentes nas tortas de mamonas tratadas com diferentes produtos químicos nas quantidades de 90 g e 3000 mL de água/kg de torta de mamona	14
Figura 3: Zimograma em presença de gelatina (0,1%) em SDS-PAGE (10,0%) das enzimas proteolíticas extraídas com solução de NaCl 0,15 M da torta de mamona in natura.	15
Figura 4. Atividade hemaglutinante (UH/mL) dos extratos proteicos obtidos das tortas de mamona tratadas com diferentes reagentes	17
Figura 5. Caracterização eletroforética das proteínas da torta da mamona tratada com hidróxido de sódio em diferentes concentrações e volumes de água.....	19
Figura 6. Caracterização eletroforética das proteínas da torta da mamona tratada com óxido de cálcio em diferentes concentrações (30, 60 e 90 g/kg de torta) e volumes de água	20
Figura 7. Degradação (%) das lectinas citotóxicas presentes nas tortas de mamonas tratadas com hidróxido de sódio e óxido de cálcio em diferentes concentrações (30, 60 e 90 g) e volumes de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL) por quilograma de torta de mamona.	21
Figura 8. Atividade hemaglutinante (UH/mL) dos extratos proteicos obtidos das tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio e óxido de cálcio em três diferentes concentrações (30, 60 e 90 g) e quatro níveis de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL) por quilograma de torta de mamona.	22

Figura 9. Atividade hemaglutinante (UH/mL) dos extratos proteicos concentrados em dez vezes das tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio e óxido de cálcio em diferentes concentrações de reagentes (30, 60 e 90 g) e volumes de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL) por quilograma de torta de mamona. 23

Parâmetros Nutricionais de Tortas de Mamona Destoxificadas por Diferentes Soluções Alcalinas

Figura 1. Fracionamento da proteína bruta de diferentes tortas de mamona tratadas com soluções químicas alcalinas em diferentes volumes de água (1500, 2500 e 3000 mL) e concentrações de reagentes (60 e 90 g) por quilograma de torta de mamona..... 44

DESTOXIFICAÇÃO DA TORTA DE MAMONA POR PRODUTOS QUÍMICOS ALTERNATIVOS

RESUMO GERAL - O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o uso de fontes químicas alternativas na degradação e inativação da ricina e *Ricinus communis* aglutinina da torta de mamona; o uso de uma metodologia de fácil aplicação, capaz de identificar com precisão a atividade biológica das lectinas presentes na torta de mamona; bem como verificar a influência do processo de destoxificação sobre os valores nutritivos da torta de mamona e estimar o custo máximo de venda das tortas destoxificadas, para que seja viável a sua utilização na ração concentrada, em substituição ao farelo de soja. Foi avaliada a eficácia do uso de dez produtos químicos: calcário calcítico, calcário magnesiano, cloreto de sódio, cloreto de potássio, fosfato bicálcico, fosfato monobicálcico, hidróxido de cálcio, hidróxido de sódio, óxido de cálcio e ureia, na destoxificação das lectinas da torta de mamona, utilizando quatro diferentes volumes de água. As análises de destoxificação foram realizadas através da observação visual e por densitometria de géis de eletroforese, além de ensaios de hemaglutinação. Após verificados resultados satisfatórios dos tratamentos que utilizaram óxido de cálcio e hidróxido de sódio, foram realizadas análises de composição química, fracionamento da proteína bruta, degradação ruminal da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro, além da digestibilidade intestinal da proteína bruta. Em seguida, com o intuito de analisar a viabilidade de uso da torta de mamona destoxificada em rações concentradas, substituindo totalmente o farelo de soja, foram formuladas diferentes rações, buscando estimar os custos máximos de comercialização das mesmas. Verificou-se que os tratamentos químicos alcalinos, óxido de cálcio e hidróxido de sódio, promoveram completa inativação das lectinas das tortas de mamona. A concentração do reagente e o volume de água foram determinantes para a eficácia de tal inativação, sendo a destoxificação eficaz ao se utilizar 60 ou 90 g de hidróxido de sódio em volumes de água iguais ou superiores a 1500 mL/kg de torta de mamona ou óxido de cálcio na concentração de 90 g de reagente com 2500 ou 3000 mL de água/kg de torta de mamona. Os tratamentos químicos de destoxificação influenciaram diretamente o perfil das diferentes frações nitrogenadas que compõe a proteína bruta dietética, assim como os parâmetros de degradação ruminal da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro, bem como a digestibilidade intestinal

da proteína bruta não degradável no rúmen. Os tratamentos químicos de destoxificação alteraram o valor nutritivo e o aproveitamento da proteína dietética pelo animal ruminante, observando diminuição do valor nutritivo das tortas e proporcionando alimentos com diferentes características nutricionais. As tortas de mamona tratadas com óxido de cálcio permitiram um nível de substituição do farelo de soja mais elevado, quando comparados às tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio. Em termos econômicos, verificou-se que as tortas tratadas com óxido de cálcio permitiram um maior preço de venda da mesma em relação às tortas tratadas com hidróxido de sódio.

Palavras-chave: ricina, *ricinus aglutinina*, *Ricinus communis*, subproduto, valor nutritivo, viabilidade econômica

DETOXIFICATION OF CASTOR CAKE BY ALTERNATIVE CHEMICAL COMPOUNDS

GENERAL SUMMARY - The objectives of the present study were to evaluate the use of alternative chemical sources in the degradation and inactivation of ricin and *Ricinus communis* agglutinin from castor cake; the use of an easily applicable methodology able to precisely identify the biological activity of the lectins present in the castor cake; and the influence of the detoxification process on the nutritional values of the castor cake and estimate the maximum sale price of detoxified cakes so that their use in the concentrate feed replacing soybean meal can be viable. The use efficiency of ten chemical compounds (calcitic limestone, magnesian limestone, sodium chloride, potassium chloride, dicalcium phosphate, monocalcium phosphate, calcium hydroxide, sodium hydroxide, calcium oxide, and urea) in the inactivation of lectins from castor cake was evaluated, using four different volumes of water. Detoxification analyses were performed by visual observation and densitometry of electrophoresis gels, in addition to hemagglutination assays. After satisfactory results were obtained with the treatments using calcium oxide and sodium hydroxide, analyses of chemical composition; crude protein fractionation; rumen degradation of dry matter, crude protein, and neutral detergent fiber; and intestinal digestibility of crude protein were performed. Next, aiming to analyze the viability of using detoxified castor cake in concentrate diets completely replacing soybean meal, different diets were formulated to estimate its maximum sale costs. Alkaline treatments calcium oxide and sodium hydroxide provided complete inactivation of the lectins from castor cakes. Reagent concentration and water volume were decisive to the inactivation efficiency, with detoxification being effective when 60 or 90 g sodium hydroxide were used with water volumes equal to or greater than 1500 mL/kg castor cake or calcium oxide at the concentration of 90 g with 2500 or 3000 mL water/kg of cake. Chemical detoxification treatments directly influenced the profile of the different nitrogen fractions that compose the dietary crude protein; the rumen degradation parameters of dry matter, crude protein, and neutral detergent fiber; as well as the intestinal digestibility of the rumen-undegradable protein. Chemical detoxification treatments changed the nutritional value and the use of the dietary protein by the ruminant, reducing the nutritional value

of the cakes and providing feedstuffs with different nutritional characteristics. Castor cakes treated with calcium oxide allowed a higher level of replacement of soybean meal as compared with the cakes treated with sodium hydroxide. In economic terms, the cakes treated with calcium oxide allowed a higher sale price of the product in relation to those treated with sodium hydroxide.

Key words: ricin, *ricinus* agglutinin, *Ricinus communis*, by-product, nutritional value, economic viability

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A alimentação representa um dos maiores custos envolvidos nos sistemas de produção animal. Esse fato deve-se, principalmente, aos principais ingredientes utilizados serem alimentos nobres, os quais podem estar ligados diretamente à alimentação humana, como é o caso do milho e do farelo de soja, aliado à grande sazonalidade de produção dos mesmos em regiões produtoras de derivados animais, como é o caso da região semiárida.

Uma solução para diminuir os custos de produção nesses sistemas seria o uso de produtos alternativos na alimentação animal, utilizando subprodutos produzidos em larga escala na região. Dentre os diversos subprodutos existentes na região semiárida, destaca-se a torta de mamona. Subproduto proteico, oriundo da extração de seu óleo para a produção de biocombustível, a mamona vem ganhando grande visibilidade, pois programas governamentais têm incentivado a plantação dessa oleaginosa para ser utilizada na indústria do biodiesel. No entanto, a torta de mamona, apesar de apresentar composição química satisfatória para seu uso na alimentação animal, apresenta uma série de fatores antinutricionais, os quais podem ocasionar desde alergia, devido a compostos alergênicos, até a morte, devido a lectinas citotóxicas, como ricina e *Ricinus communis* aglutinina (RCA).

Lectinas são moléculas que se ligam a carboidratos, como a ricina, composta por dois polipeptídios, cadeia A e cadeia B; e a RCA, composta por duas cadeias A e duas cadeias B. A cadeia B é uma lectina propriamente dita, a qual se liga aos carboidratos da membrana da célula, permitindo a entrada da cadeia A por endocitose. Ao entrar na célula, a cadeia A promove a inativação dos ribossomos mais rápido do que a célula possa produzir novos ribossomos, o que ocasiona a morte celular.

Diversos estudos já foram desenvolvidos com o intuito de encontrar uma alternativa viável para que se possa destoxificar de maneira eficiente a torta de mamona, seja através de processos físicos, como a autoclavagem; processos biológicos, como o uso de enzimas; até o uso de compostos químicos. A autoclavagem apresentou-se como um método viável para a destoxificação da torta de mamona, todavia seu uso necessita de um investimento inicial bastante elevado, além da dificuldade de manejo da torta durante o processo de destoxificação. Entre as soluções para os pequenos e médios

produtores, está o uso de produtos químicos alternativos, que apresentem baixo investimento inicial e que sejam de fácil aplicação.

Vários estudos que avaliaram a destoxificação da torta de mamona através de produtos químicos não levaram em consideração que a torta de mamona apresenta três diferentes tipos de ricina e dois diferentes tipos de RCA, sendo difícil avaliar a completa degradação das mesmas por meio de um ensaio de eletroforese, visto que as cadeias apresentam massas moleculares muito próximas.

Diante disso, a presente pesquisa visou a avaliação de um método de fácil aplicabilidade e que fosse mais preciso do que o ensaio de eletroforese para avaliar a inativação das lectinas citotóxicas. Em virtude das lectinas serem moléculas que se ligam a carboidratos, um dos ensaios bastante utilizados para avaliar a presença das mesmas seriam ensaios de hemaglutinação, usando as hemácias de coelho, pois são as que apresentam uma maior concentração de carboidratos em suas membranas, dentre os diversos animais domésticos possíveis de serem utilizados. O referido método mostra-se, portanto, bastante promissor para avaliar a completa inativação das lectinas da torta de mamona, além de ser bem mais barato e rápido que os ensaios de eletroforese.

Além de verificar a inativação das lectinas, torna-se de suma importância avaliar o impacto do processo de destoxificação sobre as características nutritivas da torta de mamona, averiguando sua composição química, fracionamento dos compostos nitrogenados, degradação ruminal do alimento e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em virtude de seu uso principal ser como fonte de proteína para o animal. Em adição, é importante observar se os tratamentos químicos promovem melhorias no alimento ou prejudicam sua composição química, avaliando o melhor tratamento a ser aplicado.

Aliado a essas análises, torna-se relevante avaliar, também, características inerentes ao custo de produção, visto que se faz necessário analisar se é viável o uso da torta de mamona destoxificada em substituição ao farelo de soja na ração concentrada. Essas avaliações precisam ser realizadas por meio de simulações de dietas totais, visando não apenas a substituição do farelo de soja, mas também a substituição do alimento energético, dependendo do valor nutritivo da torta de mamona destoxificada.

Diante do exposto, foram conduzidos três diferentes ensaios: no primeiro, avaliou-se a eficiência de inativação das lectinas citotóxicas por dez diferentes

tratamentos químicos alternativos, em diferentes concentrações de reagentes e níveis de água, avaliando a eficácia da análise através de eletroforese e ensaios de hemaglutinação; no segundo ensaio, avaliou-se a composição química das diferentes dietas, o fracionamento da proteína bruta, a degradação ruminal da matéria seca, da proteína bruta e da fibra em detergente neutro, além da digestibilidade intestinal da proteína bruta dietética; no terceiro, quantificou-se os valores de custo máximo das tortas de mamona destoxificadas, bem como as diferentes composições centesimais das dietas, observando os níveis de substituição do farelo de soja pela torta de mamona.

CAPÍTULO 1

Inativação das lectinas da torta de mamona através do uso de produtos químicos alternativos

Inativação das lectinas da torta de mamona através do uso de produtos químicos alternativos

RESUMO

Viabilizar o uso da torta de mamona na alimentação animal é uma excelente estratégia para reduzir o custo de produção. A torta é um subproduto da extração do óleo de mamona pela indústria do biodiesel, com composição química satisfatória, mas por apresentar fatores antinutricionais, como as lectinas tóxicas, não é recomendado para o consumo animal. O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar fontes químicas alternativas na degradação e inativação da ricina e *Ricinus communis* aglutinina (RCA), duas lectinas da torta de mamona. Dez produtos químicos foram avaliados: hidróxido de sódio, fosfato monobicálcico, fosfato bicálcico, óxido de cálcio, hidróxido de cálcio, calcário calcítico, calcário magnesiano, ureia, cloreto de potássio e cloreto de sódio. As análises de degradação das lectinas foram realizadas através da observação visual e por densitometria de géis de eletroforese, e as análises de inativação da atividade biológica, pelo ensaio de hemaglutinação. Através dos géis de eletroforese observou-se apenas eficiência de 100% de degradação das lectinas nas tortas tratadas com 90 gramas de hidróxido de sódio e 2500 mL de água por quilograma de torta. O ensaio de hemaglutinação foi crucial para garantir a inocuidade das tortas tratadas, observando-se total ausência de atividade hemaglutinante nas tortas de mamona tratadas com 60 ou 90 g de hidróxido de sódio em volumes de água iguais ou superiores a 1500 mL/kg de torta de mamona, e nas tortas tratadas com 90 g de óxido cálcio com 2500 ou 3000 mL de água/kg de torta de mamona. Dessa forma, embora dependente da concentração do produto químico e do volume de água por quilograma de torta tratada, o hidróxido de sódio e o óxido de cálcio mostraram-se produtos químicos promissores para a degradação e completa inativação das lectinas presentes na torta de mamona, de forma a viabilizar o consumo animal desse subproduto.

Palavras-chave: atividade hemaglutinante, desnaturação, eletroforese, ricina, *Ricinus communis* aglutinina, *Ricinus communis*

Inactivation of lectins from castor cake by alternative chemical compounds

ABSTRACT

Enabling the use of castor cake in animal feeding is an excellent alternative strategy to reduce feed costs. The cake is a by-product derived from the extraction of the castor oil by the biodiesel industry whose chemical composition is satisfactory despite the presence of antinutritional factors like toxic lectins, which require detoxification before it can be used as a dietary ingredient. The aim of the present study was to evaluate alternative chemical sources in the degradation and inactivation of ricin and *Ricinus communis* agglutinin (RCA), two lectins from castor cake. Ten chemical compounds were evaluated: sodium hydroxide, monocalcium phosphate, dicalcium phosphate, calcium oxide, calcium hydroxide, calcitic limestone, magnesian limestone, urea, potassium chloride, and sodium chloride. Gel electrophoresis indicated 100% lectin degradation only in the cakes treated with 90 g sodium hydroxide and 2500 mL water per kg of cake. The hemagglutination assay was crucial to providing innocuousness to the treated cakes, with total absence of hemagglutinating activity observed in the castor cakes treated with 60 or 90 g sodium hydroxide in water volumes equal to or higher than 1500 mL/kg of castor cake and in the cakes treated with 90 g calcium oxide with 2500 or 3000 mL water/kg castor cake. Thus, though depending on the concentration of the chemical compound and on the volume of water per kilogram of treated cake, sodium hydroxide and calcium oxide showed to be promising chemical products for degradation and complete inactivation of the lectins present in castor cake to allow its use as an ingredient in animal diets.

Keywords: denaturation, electrophoresis, hemagglutination activity, ricin, ricin agglutinin, *Ricinus communis*

INTRODUÇÃO

Sementes de mamona (*Ricinus communis* L) têm sido utilizadas mundialmente como matéria-prima para obtenção de um óleo destinado principalmente à manufatura de detergentes, cosméticos, produtos farmacêuticos, lubrificantes e de laxantes (GOWDA et al., 2009; SÁNCHEZ et al., 2011; TUNARU et al., 2012), além de ser utilizado na indústria do biodiesel (DA SILVA CÉSAR; OTÁVIO BATALHA, 2010; IYER, 2011; SCHOLZ; DA SILVA, 2008). Durante o processo de extração do óleo, grandes quantidades de resíduos são produzidas, no qual, de acordo com Melo et al. (2008), para cada tonelada de óleo extraída é produzido cerca de 1,2 toneladas de resíduo com alto teor de proteínas.

Atualmente, o principal uso desse resíduo é como adubo orgânico. Porém, o mesmo apresenta características desejáveis para ser utilizado na alimentação animal (DINIZ et al., 2011). Todavia, antes de utilizá-lo, torna-se necessário sua destoxificação (WORBS et al., 2011), devido, principalmente, à uma série de compostos químicos que apresentam caráter tóxico, destacando-se duas lectinas: ricina e *Ricinus communis* aglutinina (RCA) (DUBOIS et al., 2013; ZHAN; ZHOU, 2003), ambas específicas por galactose (MICHAEL LORD; SPOONER, 2011), e letais para células eucariontes.

A ricina está presente na lista de agentes seletos e toxinas do Centro para Controle de Doenças e Prevenção dos Estados Unidos da América (ROY et al., 2015), sendo investigada como uma arma ofensiva pelos militares dos Estados Unidos da América após a primeira guerra mundial (KREUZER; WEST; EHLERINGER, 2013), considerada uma das mais potentes e mortais toxinas conhecidas (ASLANI et al., 2007).

A mesma é uma potente inibidora da síntese proteica celular, sendo constituída de duas diferentes cadeias polipeptídicas (A e B) ligadas por uma simples ponte dissulfeto (SEHGAL et al., 2010). A cadeia A caracteriza-se como uma proteína catalítica inativadora de ribossomos classe II (RIP II), enquanto a cadeia B caracteriza-se como uma lectina específica por galactose (MICHAEL LORD; SPOONER, 2011; ROY et al., 2015).

De acordo com (AUDI; BELSON, 2013), o mecanismo de ação da ricina inicia-se com uma ligação da cadeia B com os carboidratos localizados na parede celular, ocorrendo, em seguida, um processo de endocitose em membranas vesiculares e seu

transporte através de endossomos até o complexo de Golgi, sofrendo, posteriormente, um transporte retrógrado até o retículo endoplasmático. A partir do retículo endoplasmático, a cadeia A desliga-se da cadeia B e é translocada para o citosol, onde a cadeia A inativa os ribossomos, através da remoção de uma adenina da posição 4324 do RNAr 28S na subunidade ribossomal 60S (WALSH; DODD; HAUTBERGUE, 2013).

A ação citotóxica da cadeia A é tão elevada, que uma simples molécula ocasiona a destruição dos ribossomos da célula a uma velocidade maior do que a mesma possa produzir novos (OLSNES; KOZLOV, 2001), levando à morte celular.

Em seres humanos, a dose letal de ricina tem sido estimada em 5 a 10 µg/kg de peso, quando a toxina é inalada ou injetada, e em 1 a 20 mg/kg de peso corporal, quando ingerida (KREUZER; WEST; EHLERINGER, 2013). Em animais, a dose letal da ricina, quando ingerida por frangos, é de 140 a 170 mg/kg de peso corporal, em suínos, é de 13 a 65 mg/kg de peso corporal, em coelhos, é de 9 a 45 mg/kg de peso corporal e em equinos de 1 a 5 mg/kg de peso corporal (GARLAND; BAILEY, 2006).

No tocante a animais ruminantes, Alexander et al. (2008) citam que os bovinos são relativamente tolerantes a níveis mais elevados de ricina na alimentação por maiores tempos de exposição, em que novilhas adaptadas toleram um consumo médio de 20 mg/kg de peso corporal de ricina, enquanto que ovinos toleram aproximadamente 1,4 mg/kg de peso corporal por dia, apresentando alterações morfológicas em diversos tecidos.

Em comparação à ricina, a RCA é uma proteína tetramérica com elevadas propriedades aglutinantes e baixa toxicidade (SEHGAL et al., 2011), constituída por duas cadeias A e duas cadeias B (OLSNES; KOZLOV, 2001). De acordo com Worbs et al. (2011), a diferença de toxidez entre a RCA e a ricina é muito pronunciada, sendo a RCA cerca de 100 a 2000 vezes menos tóxica do que a ricina. Comprovando sua baixa toxicidade comparativamente à ricina, uma única molécula de cadeia A da RCA pode inativar cerca de 100 ribossomos por minuto, ao passo que uma cadeia A da ricina inativa cerca de 1500 ribossomos (SALTVEDT, 1976).

Diversos estudos têm sido conduzidos com o intuito de proporcionar uma destoxificação da torta de mamona, permitindo, assim, o seu uso na alimentação animal, apresentando como enfoque principal a eliminação da ricina (ANANDAN et al., 2005; FURTADO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2010; POMPEU et al., 2012). Aliada a essa

premissa, existe uma escassez de informações referentes a uma metodologia eficiente e de fácil aplicabilidade, utilizando técnicas de avaliação dessa destoxificação através de ensaios de atividade.

De acordo com Akande et al. (2015), diversos são os métodos de destoxificação utilizados no tratamento da torta ou farelo de mamona, sendo eles: físicos (aquecimento e pressão), químicos (uso de álcalis, soda cáustica, ácidos, fosfatos mono e bicálcico, ureia, amônia, sais, taninos, etc.), biotecnológicos (microrganismos e genética) e combinação de duas ou mais metodologias.

Nesse contexto, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o uso de fontes químicas alternativas para inativação da ricina e da RCA na torta de mamona de origem industrial.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

A torta de mamona foi obtida na Indústria e Comércio de Óleos Vegetais Ltda. – Olveq, localizada no município de Quixadá-CE, a partir da extração mecânica (prensagem) do óleo presente na semente de mamona, utilizando temperaturas entre 90 e 100 °C. O armazenamento da mesma foi realizado em sacos de rafia de polipropileno, sobre estrado de madeira, em galpão fechado, até o processo de destoxificação.

Tratamentos químicos da torta de mamona

Seguindo um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, foram avaliados dez produtos químicos na inativação das lectinas da torta de mamona, a saber: hidróxido de sódio, fosfato monobicálcico, fosfato bicálcico, óxido de cálcio, hidróxido de cálcio, calcário calcítico, calcário magnésiano, ureia, cloreto de potássio e cloreto de sódio. Inicialmente, para cada tratamento adicionou-se à torta de mamona 90 g de produto químico e 3000 mL de água/kg de torta de mamona, bem como um tratamento utilizando apenas o volume de água. A torta de mamona pura (sem nenhum tratamento químico) foi considerada o padrão. As misturas foram homogeneizadas a cada trinta minutos, durante oito horas. Após esse período, os materiais foram deixados em repouso por um prazo de dezesseis horas. Em seguida, as misturas foram transferidas para

bandejas plásticas e mantida sob incidência de luz solar direta, até completa secagem, momento em que as mesmas foram moídas e acondicionadas à temperatura ambiente.

Após identificados os dois melhores produtos químicos nessas proporções estudadas, através das análises dos perfis eletroforéticos, densitometria e ensaios de hemaglutinação, os mesmos foram avaliados em três diferentes concentrações (30, 60 e 90 g) e quatro diferentes volumes de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL) por quilograma de torta de mamona, caracterizando um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 2x3x4, com três repetições.

Extração das proteínas solúveis presentes na torta de mamona

Para obtenção das proteínas solúveis da torta de mamona sob diferentes tratamentos, dentre elas a ricina e a RCA, procedeu-se uma diluição da torta de mamona finamente moída, com solução de NaCl 0,15 M, na proporção de 1/10 (p/v). O material foi mantido em agitação durante o período de uma hora, centrifugado a 10000 x g a 4 °C por 30 minutos e o sobrenadante filtrado em lã de vidro, obtendo-se o extrato proteico. Uma alíquota de 10 mL desse material foi congelada e liofilizada. A quantidade restante foi mantida congelada em freezers a -20 °C para análises futuras.

Caracterização eletroforética dos extratos proteicos das tortas de mamona tratadas

A SDS-PAGE foi realizada em géis de concentração com 4,9% de poliacrilamida, em 125 mM de tampão Tris-HCl, pH 6,8 e com géis de separação com 15,4% de poliacrilamida, em 380 mM de tampão Tris-HCl 1,5 M, pH 8,8, contendo 0,1% de SDS (LAEMMLI; FAVRE, 1973). As amostras liofilizadas de extrato proteico foram dissolvidas em tampão Tris-HCl 1,0 M, pH 6,8, na presença de 0,1% de SDS e 5% de 2-mercaptoetanol (8 mg/mL). Em seguida foram aquecidas a 100 °C por 3 min, e volumes de 50 µL foram depositados nos géis. A eletroforese foi realizada a 4 °C durante 150 minutos a 500 V, 60 mA, e 30 W. Os padrões de massa molecular (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) foram miosina (200,0 kDa), β-galactosidase (116,2 kDa), fosforilase b (97,4 kDa), albumina sérica bovina (66,2 kDa), ovalbumina (45,0 kDa), anidrase carbônica (31,0 kDa), inibidor de tripsina (21,5 kDa), lisozima (14,5 kDa, mas com massa molecular aparente de 15,5 kDa), e aprotinina (6,5 kDa). Após a corrida, as

proteínas foram coradas com 0,1% de azul de Coomassie R250, dissolvido em uma mistura de 50% de etanol e 2% de TCA, durante 120 min. A descoloração foi realizada com uma solução a 30% de etanol e 7,5% de ácido acético.

Análise de atividade proteolítica por Zimograma

A atividade proteolítica das proteínas extraídas da torta de mamona foi detectada por zimografia, utilizando metodologia adaptada a partir de Dib et al. (1998). Uma quantidade de 8 mg do extrato proteico liofilizado da torta de mamona foi adicionada a 1 mL de tampão Tris-HCl 0,125 M, pH 6,8, contendo 5% (p/v) de SDS, 1% (p/v) de sacarose e 0,05% (p/v) de azul de bromofenol. Volumes de 3 – 32 μ L da solução, ou seja 24 - 256 μ g de massa, foram injetados nos géis de SDS-PAGE preparados conforme descrito no item anterior, contendo 0,1% (p/v) de gelatina. Após a migração electroforética, o gel foi lavado duas vezes com 2% (v/v) de Triton X-100 durante 30 min. A reação de hidrólise foi realizada através da incubação do gel a 37 °C, durante 48 h, em solução contendo 0,05 M de tampão Tris-HCl, pH 7,5, com 15 mM de CaCl₂. A atividade enzimática foi revelada através da observação de bandas translúcidas depois de incubação do gel, primeiro em uma mistura de 40% (v/v) de etanol, 10% (v/v) de ácido acético, e 0,1% (p/v) de Coomassie R-250 azul, durante 60 min, seguida de uma solução de descoloração, contendo 30% (p/v) de etanol e 7,5% (v/v) de ácido acético, através de várias lavagens.

Densitometria para quantificação da eficiência de degradação das lectinas

Analisou-se os géis de eletroforese corados com o azul de Coomassie, através do software ImageJ (National Institutes of Health, USA). Foram mensuradas as áreas dos picos relativos às lectinas citotóxicas (ricina e RCA) das tortas de mamona tratadas com os diferentes reagentes e comparou-se com os picos das lectinas obtidos nos perfis proteicos das tortas de mamona *in natura*. A estimativa de destoxificação foi calculada dividindo-se a área dos picos das lectinas obtidas nas tortas tratadas pelas áreas das lectinas obtidas nas tortas *in natura*, multiplicando-se por 100, para obter os resultados em porcentagem.

Atividade hemaglutinante das lectinas das tortas de mamona

Os ensaios de hemaglutinação foram desenvolvidos utilizando soluções contendo hemácias de coelho a 2%, seguindo metodologia adaptada de Lynn e Clevette-Radford (1986) e possuindo autorização para punção venosa da Comissão de Ética para Uso de Animais da Embrapa Caprinos e Ovinos (protocolo CEUA número 005/2015). Amostras dos extratos proteicos obtidos dos diferentes tratamentos químicos e da torta *in natura* foram dialisadas em membranas de celulose com porosidade de 12 kDa, durante o período de 24 horas, na proporção de 1 mL do extrato proteico para 50 mL da solução de diálise. Procederam-se, inicialmente, duas lavagens com água ultrapura, com intervalos de dez horas (totalizando vinte horas) e uma lavagem com NaCl 0,15 M (durante quatro horas). Em seguida, as amostras foram congeladas a -20 °C para posteriores análises. Para realização das análises da presença de lectinas, foram utilizadas placas de microtitulação, onde se adicionou, a cada poço, 50 µL de solução contendo o extrato proteico em 50 µL de solução salina a 0,15 M. Como controle positivo, utilizou-se 50 µL dos extratos protéicos, proveniente da torta de mamona *in natura*. Como controle negativo, utilizou-se 50 µL NaCl 0,15 M. A diluição seriada foi realizada transferindo-se 50 µL da mistura, sucessivamente, entre os poços adjacentes na mesma linha. Após realizada a diluição seriada, adicionou-se, em cada poço, 50 µL de solução de hemácias a 2% em solução salina 0,15 M. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa de cultivo a 37 °C, durante uma hora. Após esse período, realizou-se a leitura, considerando positivas as amostras que apresentaram aglutinação das hemácias. Os resultados foram expressos como unidade de hemaglutinação por mL (UH/mL), sendo definida como o recíproco da maior diluição ainda capaz de provocar hemaglutinação visível a olho nu. Para confirmar a degradação das lectinas, amostras que não reagiram no ensaio foram dialisadas outra vez, utilizando-se 1 mL dos extratos proteicos, seguidas de três trocas de 50 mL de água ultrapura durante 24 horas à temperatura ambiente. Após diálise, as amostras foram congeladas e liofilizadas. O material liofilizado foi diluído em 100 µL de solução salina (NaCl 0,15 M) e submetido a novo ensaio de hemaglutinação, nas mesmas condições anteriores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Destoxificação das lectinas da torta de mamona por diferentes produtos químicos

A presença das lectinas citotóxicas, ricina e RCA, foi constatada na torta de mamona *in natura*, através dos géis de eletroforese, pela presença de bandas proteicas próximas ao padrão de massa molecular de 31 kDa, por volta de 32 a 35 kDa (Figura 1).

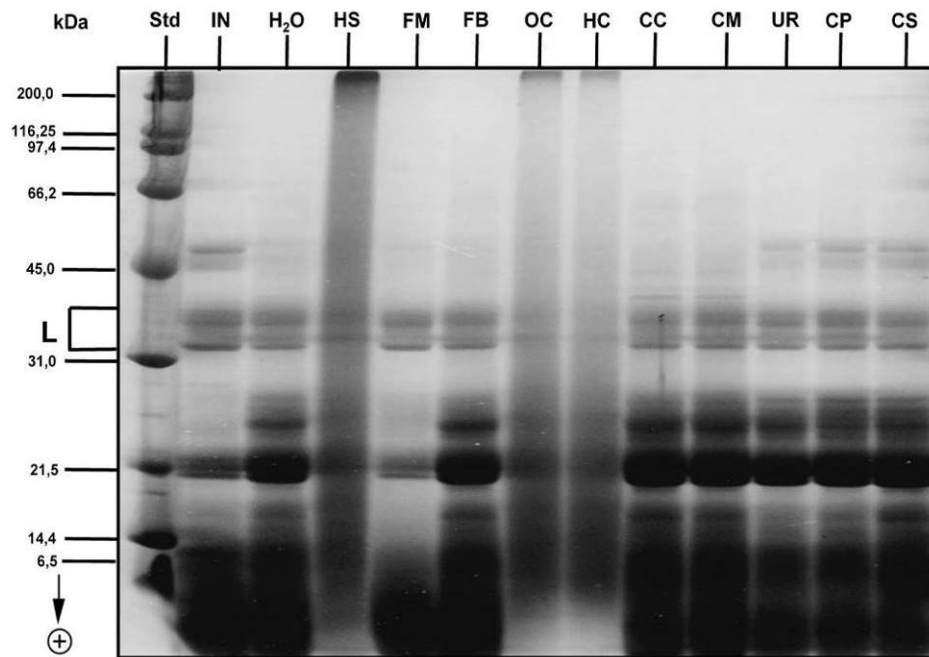


Figura 1. Caracterização eletroforética (SDS-PAGE 15,4%) das proteínas da torta de mamona tratada com diferentes produtos químicos (90 g de produto químico e 3000 mL de água/kg de torta). Std: Padrão de massa molecular, L: Lectinas, IN: Torta de mamona *in natura*, controle, Torta de mamona tratadas com: H₂O: água, HS: hidróxido de sódio, FM: fosfato monobicálcico, FB: fosfato bicálcico, OC: óxido de cálcio, HC: hidróxido de cálcio, CC: calcário calcítico, CM: calcário magnesiano, UR: ureia, CP: cloreto de potássio, CS: cloreto de sódio.

Tornou-se possível observar a ocorrência ou não dessas lectinas citotóxicas nessa região devido ao uso de agentes desnaturantes, como o dodecil sulfato de sódio, o 2-mercaptoetanol e elevadas temperaturas (100 °C) durante o preparo das amostras a serem adicionadas nos géis de eletroforese. De acordo com Raimondo et al. (2013), o uso do 2-mercaptoetanol durante o preparo de amostras submetidas à eletroforese de géis de poliacrilamida ocasiona a desnaturação das proteínas, em virtude do rompimento das ligações dissulfídicas. No caso das lectinas citotóxicas da torta de mamona, permitiu a separação de suas cadeias A e B.

Segundo Sehgal et al. (2010), a massa molecular da ricina, em condições não desnaturantes, é de 66 kDa, onde a cadeia A apresenta, aproximadamente, 32 kDa e a cadeia B, aproximadamente, 34 kDa, sendo a massa molecular da RCA o equivalente ao dobro da ricina.

As tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio, óxido de cálcio e hidróxido de cálcio com 90 g de reagente e 3000 mL de água (Figura 1), apresentaram maiores médias de redução na intensidade e tamanho de área das bandas de proteínas correspondentes às lectinas citotóxicas, quando comparadas com o controle e demais tratamentos, sem apresentar, no entanto, eficiência total de degradação.

Através da densitometria dos géis de eletroforese, relacionou-se o perfil das bandas referentes às lectinas citotóxicas nos diferentes tratamentos com o apresentado na torta de mamona *in natura* e verificou-se maiores médias de degradação das lectinas nos processos químicos que utilizaram hidróxido de cálcio (92,3%), óxido de cálcio (89,9%) e hidróxido de sódio (82,0%), conforme mostrado na Figura 2.

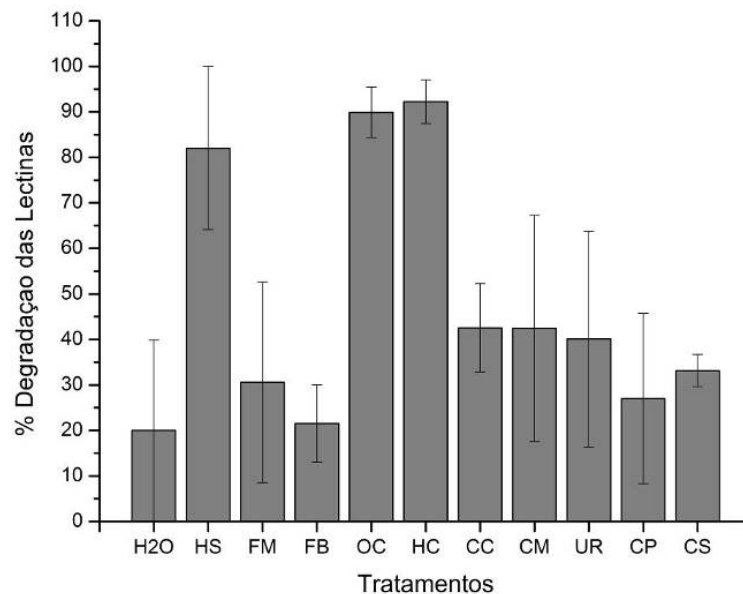


Figura 2. Degradação (%) das lectinas citotóxicas presentes nas tortas de mamonas tratadas com diferentes produtos químicos nas quantidades de 90 g e 3000 mL de água/kg de torta de mamona. Resultados obtidos através da quantificação das lectinas por densitometria dos géis de eletroforese. IN: Torta de mamona *in natura*, H2O: Tortas de mamona tratadas com água, HS: hidróxido de sódio, FM: fosfato monobicálcico, FB: fosfato bicálcico, OC: óxido de cálcio, HC: hidróxido de cálcio, CC: calcário calcítico, CM: calcário magnesiano, UR: ureia, CP: cloreto de potássio, CS: cloreto de sódio.

É importante ressaltar que, nas tortas tratadas apenas com água, houve uma degradação média de 20,0% das lectinas citotóxicas após quantificação por densitometria (Figura 2), provavelmente, devido à atividade de enzimas proteolíticas existentes na torta de mamona. Tal afirmação pôde ser constatada através de zimograma, por meio do qual, utilizando-se volumes crescentes do extrato liofilizado (3 a 32 μL), ressuspenso em tampão de amostra (8 mg/mL), a partir de 6 μL , observou-se a degradação da gelatina, intensificando-se de acordo com o aumento da concentração de extrato proteico aplicado no gel, comprovando, assim, a presença de enzimas proteolíticas na torta de mamona *in natura* (Figura 3).

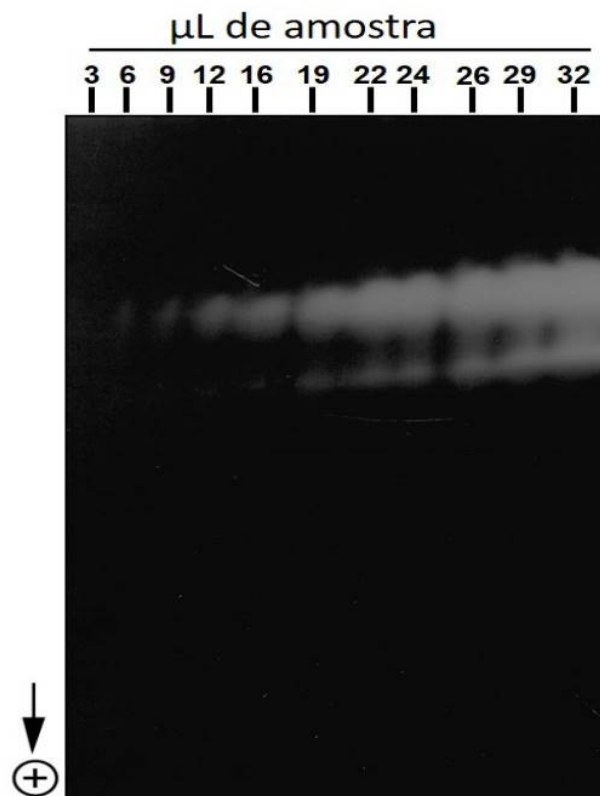


Figura 3: Zimograma em presença de gelatina (0,1%) em SDS-PAGE (10,0%) das enzimas proteolíticas extraídas com solução de NaCl 0,15 M da torta de mamona *in natura*. Volumes crescentes do extrato liofilizado (3 a 32 μL) ressuspenso em tampão de amostra (8 mg/mL) foram aplicados no gel.

A presença das enzimas endógenas é elucidada em trabalhos desenvolvidos por Barnes et al. (2009), que identificaram a presença da ricina na semente de mamona

apenas nos últimos dezesseis dias de desenvolvimento da semente, não identificando mais na plântula, oito dias após a germinação. Os autores alegam que o desaparecimento da ricina ocorra com o intuito de tornar-se fonte de nitrogênio para a planta ou que a mesma é degradada enzimaticamente, a fim de evitar o envenenamento das mudas durante a germinação.

A existência de bandas de proteínas na região inerente às lectinas citotóxicas caracteriza uma possível presença das mesmas, todavia não quantifica sua atividade biológica. Nesse contexto, análises de atividade biológica são necessárias para verificar se as lectinas citotóxicas ainda presentes após os tratamentos químicos permanecem biologicamente ativas.

Bozza et al. (2015) ressaltam que é crítico, para um método de detecção da ricina, ser capaz de distinguir entre ricina ativa e inativa, por várias razões, dentre elas, os autores ressaltam que informações sobre o nível de bioatividade da ricina influenciará grandemente o plano de resposta de emergência necessário, especialmente no caso de alimentos contaminados. Segundo os mesmos autores, para que as RIP II exerçam atividade citotóxica torna-se necessário que ambas as cadeias, A e B, estejam presentes e ativas. Vale ressaltar que, para que a cadeia A exerça sua atividade catalítica é preciso que esteja dentro da célula. Para isso, é preciso, primeiro, que a cadeia B tenha se ligado à superfície celular através da afinidade aos carboidratos ali presentes. Logo, ensaios de hemaglutinação, que verificam a atividade da cadeia B, podem ser uma maneira fácil e econômica de averiguar a atividade biológica das lectinas citotóxicas em laboratório, comprovando ou não sua atividade biológica, já que sua ausência caracteriza uma destoxificação do material.

Ao se avaliar a atividade hemaglutinante dos extratos proteicos obtidos das tortas de mamona não tratadas e tratadas com os diferentes produtos químicos (Figura 4), observou-se uma elevada atividade hemaglutinante nos extratos proteicos das tortas de mamona *in natura*, apresentando na análise de diluição seriada uma atividade hemaglutinante média de 160 UH/mL.

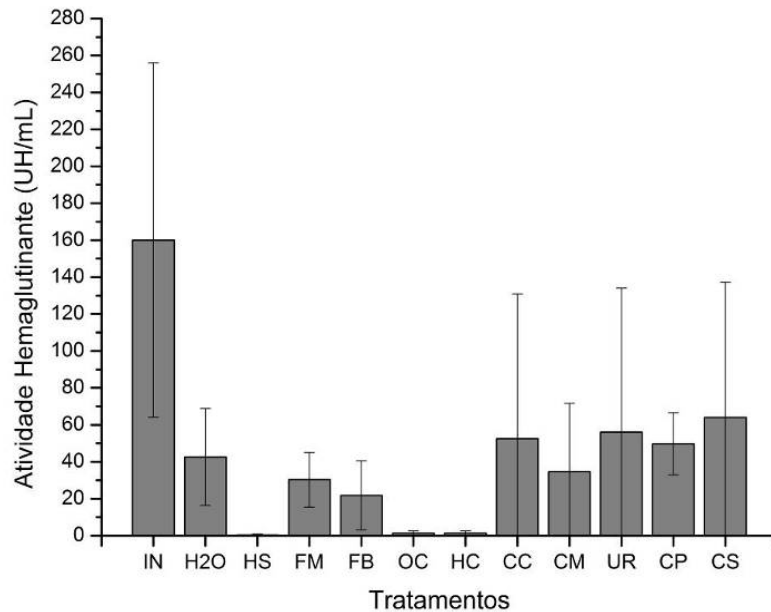


Figura 4. Atividade hemaglutinante (UH/mL) dos extratos proteicos obtidos das tortas de mamona tratadas com diferentes reagentes. IN: Torta de mamona *in natura*, controle, Torta de mamona tratada com: H2O: água, HS: hidróxido de sódio, FM: fosfato monobicálcico, FB: fosfato bicálcico, OC: óxido de cálcio, HC: hidróxido de cálcio, CC: calcário calcítico, CM: calcário magnésiano, UR: ureia, CP: cloreto de potássio, CS: cloreto de sódio

Todavia, nos extratos proteicos das tortas tratadas com hidróxido de sódio não foi observada atividade de hemaglutinação, mostrando a eficiência desse produto químico na destoxificação da torta, verificando, assim, que, apesar da não completa degradação das lectinas (82%), as mesmas foram inativadas por uma possível desnaturação. Ao se analisaram os extratos proteicos obtidos das tortas de mamona tratadas com óxido e hidróxido de cálcio, observou-se atividade hemaglutinante com média de 1,22 UH/mL, caracterizando-se como matérias primas possíveis de serem trabalhadas.

Os melhores resultados de destoxificação da torta de mamona apresentados pelos materiais alcalinos podem estar diretamente relacionados à natureza química dos mesmos, pois Anandan et al. (2005) relataram que a ricina é altamente susceptível a álcalis fortes.

Apesar de determinados processos químicos não terem proporcionado uma completa degradação das lectinas citotóxicas quando analisadas por eletroforese, a atividade biológica foi afetada, caracterizando a inativação das mesmas, devido à

desnaturação de sua estrutura tridimensional pela sua exposição à pH elevados. De acordo com Damodaran (2010), em valores de pH extremos ocorre elevada repulsão eletrostática intramolecular nas proteínas, ocasionada, principalmente, pela elevada carga líquida na molécula, resultando, assim, em expansão e desdobramento da mesma, sendo o grau de desdobramento maior em valores extremos de pH alcalinos do que em valores extremos de pH ácido.

Com base nos resultados obtidos nos perfis eletroforéticos, nas densitometrias dos géis de eletroforese e no ensaio de hemaglutinação, observou-se melhor eficiência de degradação nos tratamentos com o hidróxido de sódio, seguido do hidróxido de cálcio e óxido de cálcio, sendo o hidróxido de sódio e o óxido de cálcio os mais promissores. Embora o óxido de cálcio e o hidróxido de cálcio tenham apresentados resultados similares, o óxido de cálcio se mostra mais promissor por possuir um menor preço de mercado e o mesmo, em contato com a água, reage formando hidróxido de cálcio.

Destoxificação das lectinas da torta de mamona por hidróxido de sódio e óxido de cálcio em diferentes concentrações de reagente e volumes de água por quilograma de torta

No perfil eletroforético das tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio em três concentrações do reagente (30, 60 e 90 g/kg de torta de mamona) e quatro volumes de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL/kg de torta) (Figura 5), observou-se a presença das lectinas em todos os tratamentos que utilizaram 30 g de hidróxido de sódio. Quando se utilizou 60 g de NaOH, ocorreu a presença de lectinas somente nas tortas de mamona que foram tratadas com soluções contendo 500 e 1500 mL de água. No entanto, quando se utilizou 90 g de reagente, somente as tortas de mamona tratadas com soluções contendo 500 mL de água apresentaram bandas visíveis de polipeptídios na região inerente às lectinas citotóxicas.

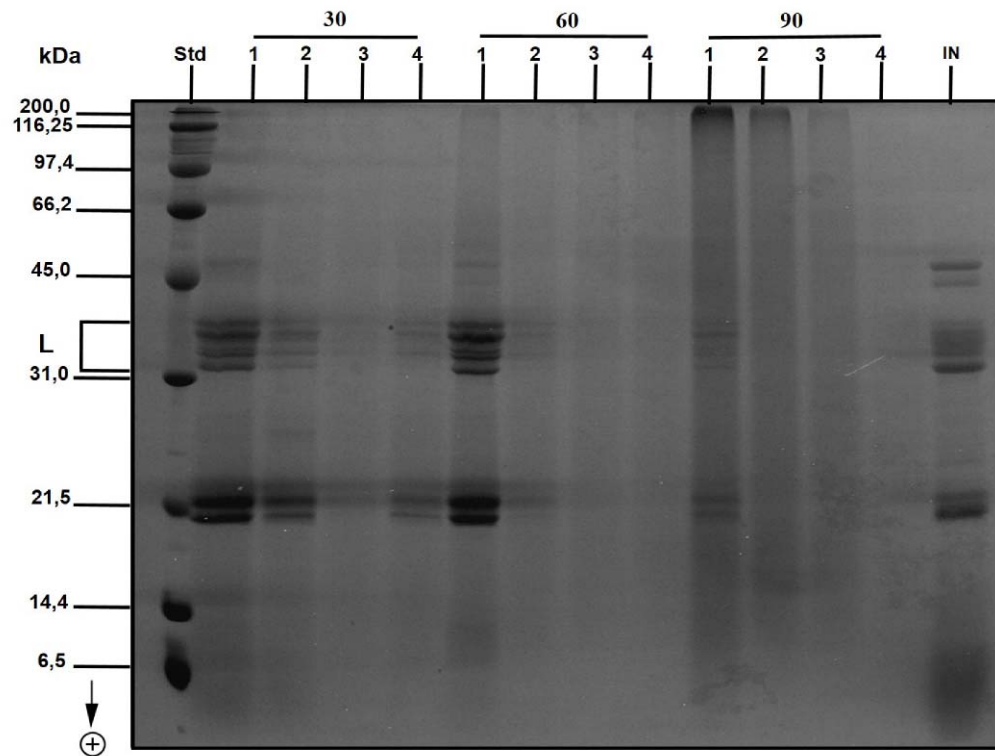


Figura 5. Caracterização eletroforética das proteínas da torta da mamona tratada com hidróxido de sódio em diferentes concentrações (30, 60 e 90 g/kg de torta) e volumes de água. 1: 500 mL/kg de torta, 2: 1500 mL/kg de torta, 3: 2500 mL/kg de torta, 4: 3000 mL/kg de torta, Std: Padrão de massa molecular (kDa), L: Lectinas. IN: Torta de mamona *in natura*.

Nos processos químicos que utilizaram 500 mL de água verifica-se claramente quatro diferentes bandas, sugerindo, assim, a existência de outros isômeros das lectinas citotóxicas. Estudos desenvolvidos por Cawley; Hedblom e Houston (1978), avaliando sementes de *Ricinus communis zanzibarenses*, observaram a presença de três diferentes ricinas e duas diferentes RCA, nas quais, em géis de eletroforese com pH 9,5 tornou-se possível observar duas ricinas e duas RCA. Segundo os autores, as ricinas apresentaram cadeias B com a massa molecular similares de 34 kDa e variaram apenas as cadeias A, que apresentaram massa molecular de 30 e 33 kDa, para a ricina1 e ricina2, respectivamente. Resultados similares foram observados nas RCAs, as quais apresentaram cadeias B similares, com massa molecular de 37 kDa cada e cadeias A, com massa molecular de 30 e 33 kDa cada, na RCA1 e RCA2, respectivamente.

Esses resultados explicam as quatro diferentes bandas observadas nos perfis eletroforéticos das diferentes tortas tratadas com os materiais alcalinos que não

conseguiram completa degradação e apresentavam quatro diferentes bandas na região inerente às lectinas citotóxicas (Figuras 5 e 6).

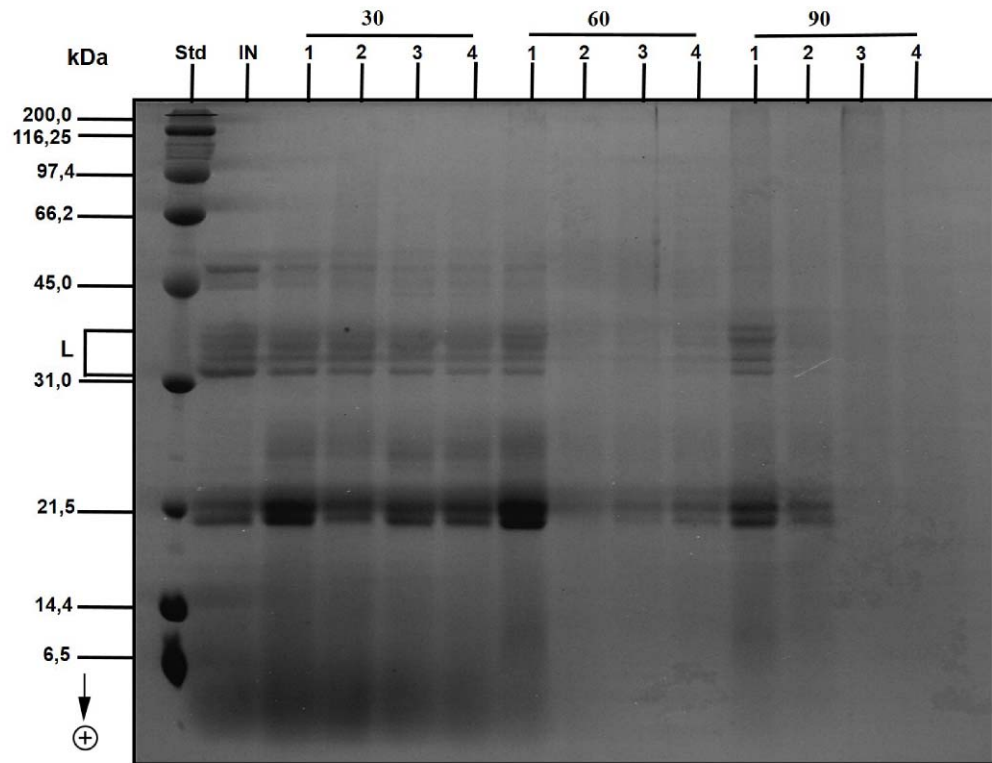


Figura 6. Caracterização eletroforética das proteínas da torta da mamona tratada com óxido de cálcio em diferentes concentrações (30, 60 e 90 g/kg de torta) e volumes de água 1: 500 mL/kg de torta, 2: 1500 mL/kg de torta, 3: 2500 mL/kg de torta, 4: 3000 mL/kg de torta), Std: Padrão de massa molecular (kDa), L: Lectinas. IN: Torta de mamona *in natura*.

Nos tratamentos com óxido de cálcio em diferentes concentrações de reagente (30, 60 e 90 g/kg de torta de mamona) e quatro volumes de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL/kg de torta), analisados através de eletroforese (Figura 6), foram observados efeitos positivos (inexistência das lectinas avaliadas) quando as tortas de mamona foram tratadas com 90 g do reagente e 2500 ou 3000 mL de água/kg de torta. Todavia, os demais tratamentos apresentaram resquícios de bandas possíveis de serem visualizadas a olho nu.

Também foi observada a presença de quatro diferentes bandas, localizadas na região inerente às lectinas citotóxicas nos perfis eletroforéticos, principalmente, das tortas tratadas com 90 g de óxido de cálcio e 500 mL de água/kg de torta de mamona.

No tocante à quantificação da degradação total das lectinas, pela densitometria dos géis de eletroforese como mostra a Figura 7, observou-se uma eficiência de 100% de degradação somente nas tortas de mamona tratadas com 90 g de hidróxido de sódio e 2500 mL de água. Nas tortas tratadas com óxido de cálcio, não foi observado 100% de degradação, sendo o maior valor obtido nas tortas tratadas com 90 g de óxido de cálcio e 2500 mL de água (98,38%).

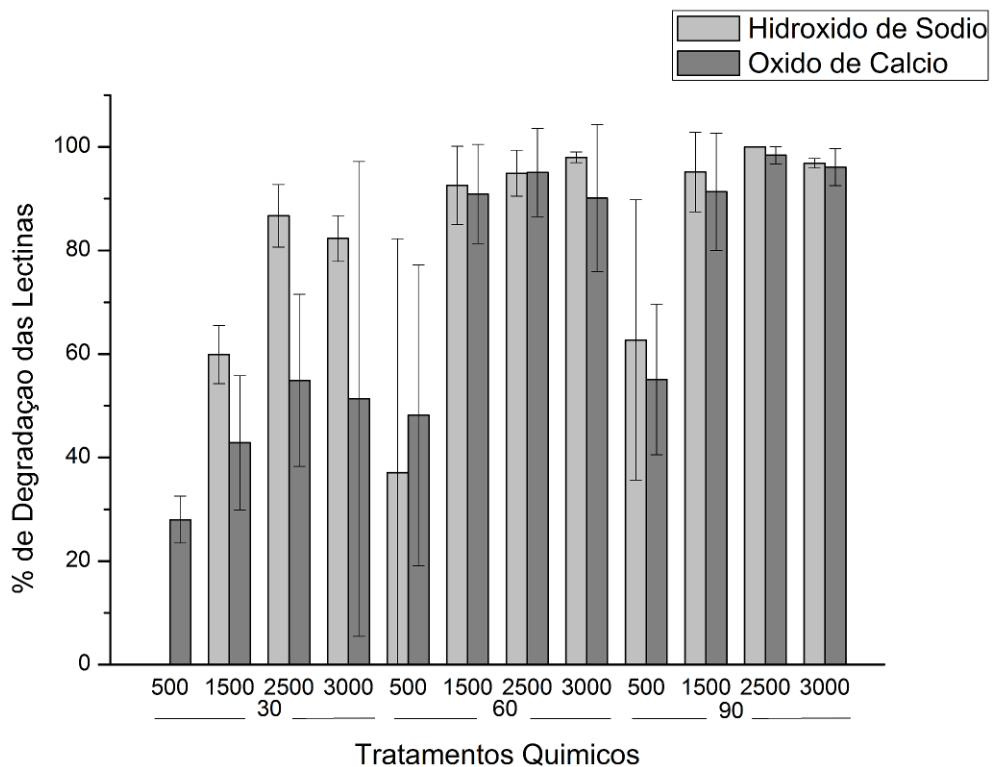


Figura 7. Degradação (%) das lectinas citotóxicas presentes nas tortas de mamonas tratadas com hidróxido de sódio e óxido de cálcio em diferentes concentrações (30, 60 e 90 g) e volumes de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL) por quilograma de torta de mamona. Resultados obtidos através da quantificação das lectinas por densitometria dos géis de eletroforese.

Estudos desenvolvidos por Anandan et al. (2005), verificando a eficácia de destoxificação de diferentes métodos físicos e químicos na destoxificação da ricina, mostraram resultados positivos ao utilizarem 40 g de hidróxido de cálcio/kg de torta de mamona em uma solução de 3 g/mL, observando 100% de destoxificação da ricina. Os mesmos autores obtiveram 91% de degradação da ricina quando utilizaram 10 g de hidróxido de sódio/kg de torta em uma solução aquosa de 3 g/mL.

No entanto, Oliveira et al. (2010) não obtiveram, no perfil eletroforético, uma destoxificação total das bandas referentes às lectinas após utilizarem as mesmas quantidades de hidróxido de cálcio/kg de torta de mamona sugeridas por Anandan et al. (2005).

Através de ensaios de hemaglutinação, verificou-se que os extratos proteicos das tortas de mamona *in natura* apresentaram hemaglutinação média de 85,33 UH/mL (Figura 8). Não se observou atividade hemaglutinante dos extratos proteicos obtidos das tortas de mamona, quando tratadas com óxido de cálcio nas seguintes combinações de produto químico (g) e água (mL) por quilograma de torta: 60 g/1500 mL, 60 g/2500 mL, 60 g/3000 mL, 90 g/2500 mL e 90 g/3000 mL. No que diz respeito ao uso do hidróxido de sódio, não foram observadas atividades hemaglutinantes nos extratos proteicos das tortas tratadas nas seguintes combinações de produto químico e água por quilograma de torta: 30 g/2500 mL, 30 g/3000 mL, 60 g/1500 mL, 60 g/2500 mL, 60 g/3000 mL, 90 g/1500 mL, 90 g/2500 mL e 90 g/3000 mL (Figura 8).

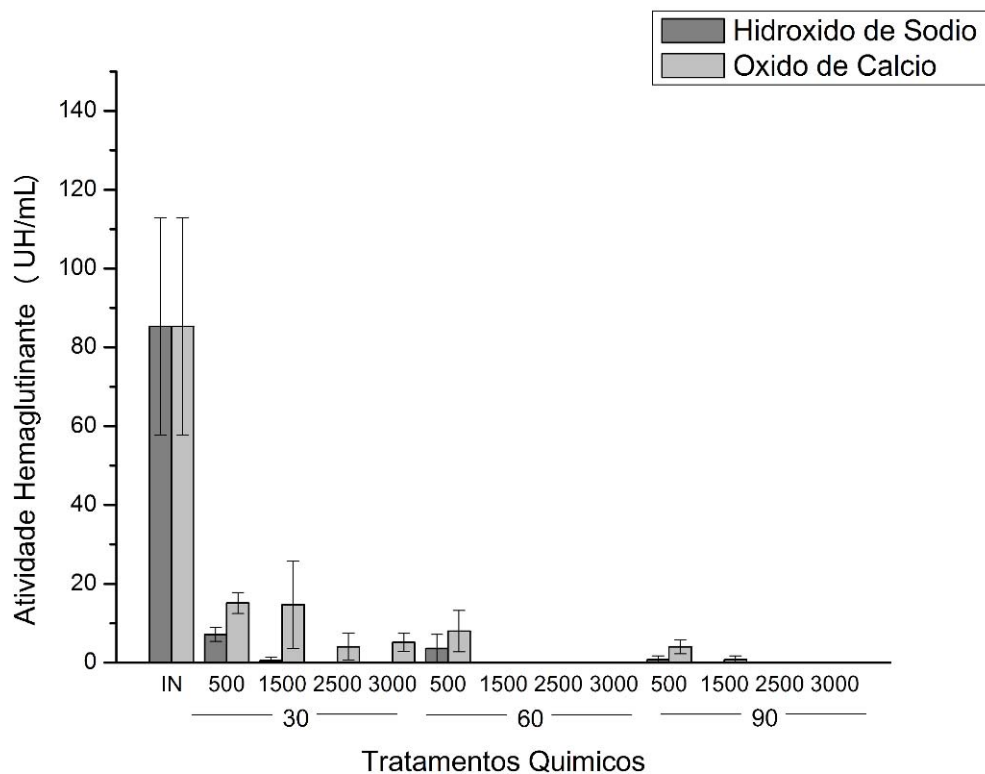


Figura 8. Atividade hemaglutinante (UH/mL) dos extratos proteicos obtidos das tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio e óxido de cálcio em três diferentes concentrações (30, 60 e 90 g) e quatro níveis de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL) por quilograma de torta de mamona. IN: Torta de mamona *in natura*.

Ao se analisar os extratos proteicos concentrados (dez vezes), verificou-se ausência completa de hemaglutinação nas tortas que foram tratadas com 90 g de óxido de cálcio com 2500 ou 3000 mL de água/kg de torta de mamona (Figura 9) e nas tortas de mamona tratadas com 60 e 90 g de hidróxido de sódio com volumes de água iguais ou superiores a 1500 mL/kg de torta de mamona (Figura 9).

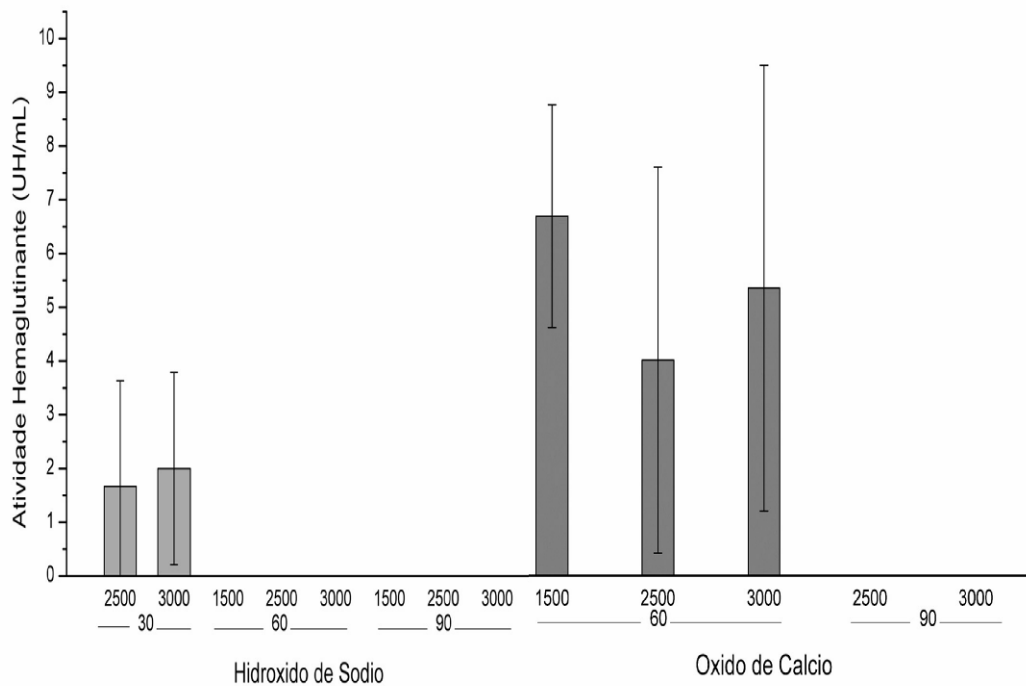


Figura 9. Atividade hemaglutinante (UH/mL) dos extratos proteicos concentrados em dez vezes das tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio e óxido de cálcio em diferentes concentrações de reagentes (30, 60 e 90 g) e volumes de água (500, 1500, 2500 e 3000 mL) por quilograma de torta de mamona.

Estudos realizados por Cawley et al. (1978), relataram que 1,5 µg de ricina/mL de solução é suficiente para aglutinar hemácias de coelho em soluções contendo 0,25% de hemácias em tampão fosfato, enquanto que é necessário apenas 0,02 µg de RCA/mL de solução para as mesmas observações. Nesse contexto, o ensaio utilizado no presente estudo mostrou-se muito eficaz, visto que foi adotada uma concentração oito vezes maior de hemácias (2,0%) e ainda se concentrou o extrato bruto proteico em dez vezes,

podendo, de fato, atestar a destoxificação das tortas de mamona tratadas por não apresentarem hemaglutinação.

CONCLUSÕES

É possível destoxificar torta de mamona com hidróxido de sódio, sendo necessário uma quantidade igual ou superior a 60 g do produto químico e quantidades iguais ou superiores a 1500 mL de água/kg de torta de mamona.

Tratamentos químicos utilizando óxido de cálcio também podem proporcionar completa destoxificação das tortas de mamona ao serem utilizados 90 g do produto químico e uma quantidade de água igual ou superior a 2500 mL/kg de torta de mamona.

Ensaio de hemaglutinação com hemácias de coelhos mostraram-se mais eficientes na avaliação da destoxificação das tortas de mamona, em comparação a métodos tradicionais, como eletroforese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, p. 1 - 10, 2015.

ALEXANDER, J. et al. Ricin (from *Ricinus communis*) as undesirable substances in animal feed, Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. **The European Food Safety Authority Journal**, v. 2008, n. June, p. 1–38, 2008.

ANANDAN, S. et al. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology**, v. 120, n. 1-2, p. 10, 2005.

ASLANI, M. R. et al. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. **Toxicon**, v. 49, n. 3, p. 400–406, 2007.

AUDI, J.; BELSON, M. Ricin Poisoning. **American Medical Association**, v. 294, n. 18, p. 2342 – 2351, 2013.

BARNES, D. J.; BALDWIN, B. S.; BRAASCH, D. A. Ricin accumulation and degradation during castor seed development and late germination. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 2, p. 254–258, set. 2009.

BOZZA, W. P. et al. Ricin detection: tracking active toxin. **Biotechnology advances**, v. 33, n. 1, p. 117–23, jan. 2015.

CAWLEY, D. B.; HEDBLUM, M. L.; HOUSTON, L. L. Homology between ricin and

Ricinus communie agglutinin: Amino terminal sequence analysis and protein synthesis inhibition studies. **Arch Biochem Biophys**, v. 190, n. 2, p. 744–755, 1978.

DA SILVA CÉSAR, A.; OTÁVIO BATALHA, M. Biodiesel production from castor oil in Brazil: A difficult reality. **Energy Policy**, v. 38, n. 8, p. 4031–4039, ago. 2010.

DAMADORAN, S. Aminoácidos, peptídeos e proteínas. In: FENNEMA, O.R.(Ed). **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre, ArtMed, 900 p. 2010.

DIB, R. et al. Purification, molecular properties and specificity of a thermoactive and thermostable proteinase from *Pyrococcus abyssi*, strain st 549, hyperthermophilic archaea from deep-sea hydrothermal ecosystem. **FEBS Letters**, v. 431, n. 2, p. 279–284, 17 jul. 1998.

DINIZ, L. L. et al. Castor bean meal for cattle finishing: 1—Nutritional parameters. **Livestock Science**, v. 135, n. 2-3, p. 153–167, fev. 2011.

DUBOIS, J.-L. et al. Detoxification of castor meal through reactive seed crushing. **Industrial Crops and Products**, v. 43, n. 0, p. 194–199, 2013.

FURTADO, R. N. et al. Valor nutritivo de dietas contendo torta de mamona submetida a métodos alternativos de destoxificação para ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 155–162, 2012.

GARLAND, T.; BAILEY, E. M. Toxins of concern to animals and people. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 25, n. 1, p. 341–351, 2006.

GOWDA, N. K. S. et al. Evaluation of castor (*Ricinus communis*) seed cake in the total mixed ration for sheep. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 2, p. 216–220, 2009.

IYER, R. Comments on the Use of Fatty Acid Methyl Esters of Linseed and Castor Oil as Biodiesel. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 88, n. 8, p. 1271–1273, 2011.

KREUZER, H. W.; WEST, J. B.; EHLERINGER, J. R. Forensic applications of light-element stable isotope ratios of *Ricinus communis* seeds and ricin preparations. **J Forensic Sci**, v. 58 Suppl 1, p. S43–51, 2013.

LAEMMLI, U. K.; FAVRE, M. Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. **J Mol Biol**, v. 80, n. 4, p. 575–599, 1973.

LYNN, K. R.; CLEVETTE-RADFORD, N. A. Lectins from latices of *Euphorbia* and *Elaeophorbia* species. **Phytochemistry**, v. 25, n. 7, p. 1553–1557, 1986.

MELO, W. C. et al. Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e avaliação da letalidade da torta hidrolisada para camundongos. **Química Nova**, v. 31, p. 1104–1106, 2008.

MICHAEL LORD, J.; SPOONER, R. A. Ricin trafficking in plant and mammalian cells. **Toxins**, v. 3, n. 7, p. 787–801, 2011.

OLIVEIRA, A. S. et al. Nutrient digestibility, nitrogen metabolism and hepatic function of sheep fed diets containing solvent or expeller castorseed meal treated with calcium hydroxide. **Animal Feed Science and Technology**, v. 158, n. 1–2, p. 15–28, 2010.

OLSNES, S.; KOZLOV, J. V. Ricin. **Toxicon**, v. 39, n. 11, p. 1723–1728, 2001.

POMPEU, R. C. F. F. et al. Desempenho produtivo e características de carcaça de ovinos em confinamento alimentados com rações contendo torta de mamona destoxificada em substituição ao farelo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 726–733, 2012.

RAIMONDO, R. F. S. et al. Proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 119–125, jan. 2013.

ROY, C. J. et al. Thermostable ricin vaccine protects rhesus macaques against aerosolized ricin: Epitope-specific neutralizing antibodies correlate with protection. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 112, n. 12, p. 3782–3787, 2015.

SALTVEDT, E. Structure and toxicity of pure ricinus agglutinin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 451, n. 2, p. 536–548, 1976.

SÁNCHEZ, R. et al. Tribological characterization of green lubricating greases formulated with castor oil and different biogenic thickener agents: a comparative experimental study. **Industrial Lubrication and Tribology**, v. 63, n. 6, p. 446–452, 2011.

SCHOLZ, V.; DA SILVA, J. N. Prospects and risks of the use of castor oil as a fuel. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 2, p. 95–100, fev. 2008.

SEHGAL, P. et al. Purification, characterization and toxicity profile of ricin isoforms from castor beans. **Food Chem Toxicol**, v. 48, n. 11, p. 3171–3176, 2010.

SEHGAL, P. et al. Differential toxicity profile of ricin isoforms correlates with their glycosylation levels. **Toxicology**, v. 282, n. 1-2, p. 56–67, 2011.

TUNARU, S. et al. Castor oil induces laxation and uterus contraction via ricinoleic acid activating prostaglandin EP3 receptors. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 109, n. 23, p. 9179–9184, 2012.

WALSH, M. J.; DODD, J. E.; HAUTBERGUE, G. M. Ribosome-inactivating proteins: Potent poisons and molecular tools. **Virulence**, v. 4, n. 8, p. 774–84, 2013.

WORBS, S. et al. Ricinus communis Intoxications in Human and Veterinary Medicine- A Summary of Real Cases. **Toxins**, v. 3, n. 10, p. 1332–1372, 24 out. 2011.

ZHAN, J.; ZHOU, P. A simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricinus agglutinin. **Toxicology**, v. 186, n. 1-2, p. 119–123, abr. 2003.

CAPÍTULO 2

Parâmetros Nutricionais de Tortas de Mamona Destoxificadas por Diferentes Soluções Alcalinas

Parâmetros Nutricionais de Tortas de Mamona Destoxificadas por Diferentes Soluções Alcalinas

RESUMO

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes tratamentos químicos eficazes na destoxificação da torta de mamona sobre os parâmetros nutricionais deste subproduto. Foi avaliada a influência do uso de oito diferentes tratamentos químicos, seis utilizando hidróxido de sódio e dois utilizando óxido de cálcio em diferentes proporções e volumes de água sobre as características nutricionais da torta de mamona, tais como: composição química, cinéticas de degradação ruminal, fracionamento da proteína bruta e digestibilidade intestinal da proteína bruta. Os tratamentos químicos utilizados foram: 60 g de NaOH/1500 mL de H₂O, 60 g de NaOH/2500 mL de H₂O, 60 g de NaOH/3000 mL de H₂O, 90 g de NaOH/1500 mL de H₂O, 90 g de NaOH/2500 mL de H₂O, 90 g de NaOH/3000 mL de H₂O, 90 g de CaO/2500 mL de H₂O e 90 g de CaO/3000 mL de água por quilograma de torta de mamona. Verificou-se que os tratamentos químicos atuam diretamente na composição química das tortas de mamona, influenciando principalmente os teores de matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e hemicelulose, interferindo, assim, nas estimativas de carboidratos não fibrosos, carboidratos fibrosos e nutrientes digestíveis totais. O tratamento químico altera o perfil das diferentes frações nitrogenadas que compõe a proteína bruta dietética, assim como nos parâmetros de degradação ruminal da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro, bem como a digestibilidade intestinal da proteína bruta não degradável no rúmen. Os tratamentos químicos de destoxificação influenciam diretamente o valor nutritivo e o aproveitamento da proteína dietética pelo animal ruminante, havendo diminuição do valor nutritivo das tortas e proporcionando alimentos com diferentes características nutricionais. Dentre os diferentes tratamentos químicos analisados, as tortas de mamona destoxificadas que apresentaram melhores características nutricionais foram as tratadas com 90 g de NaOH/2500 mL de água por

quilograma de torta de mamona e 90 g de CaO/3000 mL de água por quilograma de torta de mamona.

Palavras-chave: Biodiesel, composição química, degradação efetiva, degradação ruminal, fracionamento da proteína

Nutritional parameters of castor cakes detoxified by different alkaline solutions

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the effect of different effective chemical treatments in the detoxification of castor cake on the nutritional parameters of this by-product. The experiment evaluated the influence of eight different chemical treatments — six using sodium hydroxide and two using calcium oxide at different proportions and water volumes — on the nutritional characteristics of castor cake; e.g., chemical composition, kinetics of rumen degradation, crude protein fractionation, and intestinal digestibility of crude protein. The following chemical treatments were tested: 60 g NaOH/1500 mL H₂O, 60 g NaOH/2500 mL H₂O, 60 g NaOH/3000 mL H₂O, 90 g NaOH/1500 mL H₂O, 90 g NaOH/2500 mL H₂O, 90 g NaOH/3000 mL H₂O, 90 g CaO/2500 mL H₂O, and 90 g de CaO/3000 mL water per kilogram of castor cake. Chemical treatments were found to act directly on the chemical composition of the castor cakes, influencing mainly the dry matter, mineral matter, ether extract, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, and hemicellulose contents and thus interfering with the estimates of non-fibrous carbohydrates, fibrous carbohydrates, and total digestible nutrients. The chemical treatment alters the profile of the different nitrogen fractions composing the dietary crude protein; the rumen degradation parameters of dry matter, crude protein, and neutral detergent fiber; as well as the intestinal digestibility of the rumen-undegradable crude protein. The chemical detoxification treatments directly influence the nutritional value and use of the dietary protein by the ruminant, reducing the nutritional value of the cakes and providing feedstuffs with different nutritional properties. Of the different chemical treatments analyzed, the detoxified castor cakes that showed best nutritional characteristics were those treated with 90 g NaOH/2500 mL water per kilogram of cake and 90 g CaO/3000 mL water per kilogram of cake.

Key words: Biodiesel, chemical composition, effective degradation, rumen degradation, protein fractionation

INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial, aliado ao maior avanço das áreas urbanas sobre as áreas de produção rural, tem proporcionado uma maior necessidade de produção de alimentos por unidade de área, influenciando diretamente os sistemas de produção ligados aos animais ruminantes, os quais cada vez mais estão buscando medidas viáveis que proporcionem uma elevação da produtividade, sem afetar a sua viabilidade econômica. Dentre as medidas adotadas, destaca-se o maior controle da nutrição dos rebanhos e o uso de subprodutos oriundos da agroindústria e do biodiesel.

A crescente produção mundial de biodiesel, oriundo da extração do óleo contido nas sementes de mamona (*Ricinus communis*), tem gerado uma elevada quantidade de subprodutos. O processo de extração do óleo presente nas sementes de mamona é responsável pela produção diária de grandes quantidades de torta de mamona, no qual, para cada tonelada de óleo extraído, é produzido um total de 1,2 toneladas de torta, pois o óleo corresponde a 55% do peso total da semente (MELO et al., 2008), com um teor de proteína bruta atraente para a adoção do seu uso na alimentação animal. No entanto, o uso desse subproduto *in natura* na alimentação animal não é possível devido à existência de lectinas citotóxicas, ricina e *ricinus aglutinina* no mesmo, as quais são glicoproteínas (HARLEY; BEEVERS, 1986) com capacidade de inativar ribossomos de células eucariontes.

Nesse contexto, torna-se importante adotar tratamentos de destoxificação desse subproduto, objetivando permitir o seu uso na alimentação animal, como fonte proteica concentrada, visando substituir o farelo de soja na ração concentrada e agregar valor à torta de mamona, atualmente utilizada basicamente como adubo orgânico. Diversos são os métodos de destoxificação estudados com o objetivo de permitir o uso desse material, sejam através de tratamentos físicos ou químicos, como as metodologias descritas nos estudos desenvolvidos por Anandan et al. (2005); Furtado et al. (2012) e Pompeu et al. (2012). Todavia, os tratamentos físicos apresentam elevados custos de utilização, favorecendo, assim, o uso de tratamentos químicos, com matérias primas de fácil acesso.

Dentre os diferentes produtos químicos utilizados, os que apresentam resultados mais satisfatórios são os alcalinos, pois, segundo Anandan et al. (2005), a alcalinidade

permite a desnaturação da ricina. Contudo, torna-se necessário avaliar o efeito do tratamento químico sobre o valor nutritivo e aproveitamento da torta de mamona pelos animais.

Diante do exposto, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes tratamentos químicos eficazes na destoxificação da torta de mamona sobre os parâmetros nutricionais deste subproduto.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e duração do experimento

O presente estudo foi conduzido de setembro de 2013 a agosto de 2014, no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Ceará, localizada no município de Fortaleza – CE, Brasil.

Tratamentos químicos de destoxificação das tortas de mamona

As diferentes tortas de mamona foram destoxificadas através do uso de oito tratamentos químicos, seis utilizando hidróxido de sódio (NaOH) e dois utilizando óxido de cálcio (CaO) em diferentes proporções e volumes de água, a saber: 60 g de NaOH/1500 mL de H₂O, 60 g de NaOH/2500, 60 g de NaOH/3000 mL de H₂O, 90 g de NaOH/1500 mL de H₂O, 90 g de NaOH/2500 mL de H₂O, 90 g de NaOH/3000 mL de H₂O, 90 g de CaO/2500 mL de H₂O e 90 g de CaO/3000 mL de H₂O por quilograma de torta de mamona. Esses tratamentos químicos de destoxificação utilizados proporcionaram total inativação das lectinas citotóxicas das tortas de mamona tratadas, fato comprovado através de ensaios de eletroforese e de hemaglutinação.

Composição química das diferentes tortas de mamona

Foram determinados os teores de matéria seca (MS, ID 934,01), matéria orgânica (MO, ID 942,05), matéria mineral (MM, ID 942,05), cálcio (Ca, ID 975,03), sódio (Na, ID 956,01), proteína bruta (PB, ID 954,01), extrato etéreo (EE, ID 920,39) (AOAC, 1990) e fósforo (P) utilizando o método de espectrofotometria com azul de molibdênio em plantas (AOAC, 1995); fibra em detergente neutro (FDN) utilizando amilase; fibra em detergente ácido (FDA) (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS,

1991); fibra em detergente neutro corrigido para cinzas (MERTENS et al., 2002) e proteínas (LICITRA; HERNANDEZ; VAN SOEST, 1996) (FDN_{cp}); ligninas (método do permanganato de potássio) e hemicelulose das tortas de mamona destoxificadas e da torta de mamona *in natura* (VAN SOEST; WINE, 1968).

Foram estimados os teores de carboidratos totais (CT) de acordo com as recomendações de Sniffen et al. (1992), seguindo a seguinte fórmula: $\%CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$. Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) segundo equação proposta por Weiss (1993): $\%CNF = 100 - (\%FDN_{cp} + \%PB + \%EE + \%MM)$. O teor de carboidratos fibrosos (CF) foi estimado pela diferença entre os CT e CNF. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados segundo equações descritas pelo NRC (2001): $NDT = [CNF_d + PB_d + (AG_d \times 2,25) + FDN_d] - 7$, em que CNF_d, PB_d, AG_d e FDN_d correspondem a carboidratos não fibrosos digestíveis, proteína bruta digestível (grãos), ácidos graxos digestíveis e fibra em detergente neutro digestível, respectivamente. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Fracionamento da proteína bruta dietética por método *in vitro*

No tocante à determinação das diferentes frações nitrogenadas do alimento, foi utilizado o protocolo estabelecido por Sniffen et al. (1992), seguindo a metodologia descrita por Licitra, Hernandez e Van Soest (1996), sendo determinadas as frações A (nitrogênio não proteico) das diferentes tortas de mamona através do uso do ácido tricloroacético, fração B1 (fração rapidamente degradada no rúmen), fração B2 (fração insolúvel, com taxa de degradação intermediária no rúmen), fração B3 (fração insolúvel, lentamente degradada no rúmen) e fração C (fração insolúvel e indigestível no trato gastrointestinal).

Cinética de degradação ruminal *in situ*, da matéria seca, fibra em detergente neutro e proteína bruta

A cinética de degradação ruminal *in situ* das diferentes tortas de mamona destoxificadas foram estimadas através de incubação ruminal das amostras acondicionadas em sacos de náilon de 20 cm x 10 cm com porosidade média de 56 µm. As amostras foram incubadas em triplicatas no rúmen de uma vaca com peso corporal médio de 500 kg, alimentada diariamente *ad libitum* com feno de capim-tifton 85 e

concentrado à base de farelo de milho e de soja, adotando uma relação volumoso:concentrado de 60:40. Os sacos de náilon foram inseridos no rúmen após a alimentação matinal e retirados após 0, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas de incubação.

Foram determinadas as constantes de degradação da MS, PB e da FDN das tortas de mamona destoxificadas, seguindo o modelo exponencial descrito por Dhanoa (1988):

$$D(t) = A + B \times (1 - e^{-kd \times (t-L)})$$

no qual, $D(t)$ é a proporção (g/g) desaparecida no tempo $t(h)$; A é a proporção da fração rapidamente degradável (g/g); B é a proporção da fração potencialmente degradável (g/g); kd é a taxa de degradação da fração B (h^{-1}); L é o *lag time*.

A degradabilidade ruminal efetiva (DE) da matéria seca e da proteína bruta para as diferentes taxas de passagem (kp) foram estimadas de acordo com a equação descrita por Ørskov e McDonald (1979):

$$DE = A + \left[\frac{B \times kd}{kd + kp} \right]$$

Todavia, na determinação da DE da FDN adotou-se a mesma equação da DE da matéria seca e proteína bruta, sem considerar a fração A , a qual não compõe a FDN.

A degradabilidade efetiva da MS, da FDN e da PB de cada torta de mamona destoxificada foi estimada levando-se em conta as taxas de passagem de 2, 5 e 8% por hora, correspondendo aos níveis de ingestão alimentar baixo, médio e alto, respectivamente, de acordo com o preconizado pelo Agricultural Research Council (1984).

Estimativa da degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína das diferentes tortas de mamona destoxificadas

A proteína degradável no rúmen (PDR) e a não degradável no rúmen (PNDR) foram estimadas a partir das equações estabelecidas pelo NRC (2001), sendo a $PDR = A + B[kd/(kd + kp)]$ e a $PNDR = B[kp/(kd+kp)] + C$. Os valores de A , B e C (%)

da PB) utilizados nas equações foram os obtidos no fracionamento da PB por métodos *in vitro*, sendo o valor de B (%PB) o somatório das frações B1, B2 e B3. O valor da taxa de passagem (kp) foi o utilizado para um nível médio de ingestão (5%/h), estabelecido pelo Agricultural Research Council (1984). Todavia, os valores das taxas de degradação da fração B (kd) das diferentes tortas de mamona utilizados nas equações foram os obtidas através do ensaio de cinética de degradação *in situ*.

A digestibilidade intestinal da proteína não degradada no rúmen (DIPNDR) foi estimada pela equação preconizada pelo AFRC (1992), na qual a $DIPNDR = 0,9 (PNDR - PIDA)$, sendo a PNDR a proteína não degradada no rúmen (%PB) e o PIDA a proteína indigestível em detergente ácido (%PB).

O teor de proteína não degradável no rúmen, degradável no intestino (PNDRdi) foi estimado a partir da multiplicação do teor de PNDR pela DIPNDR, dividindo por 100 para obter o valor em porcentagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição química das diferentes tortas de mamona

Observou-se que os tratamentos químicos de destoxificação apresentaram interferência direta na composição química das tortas de mamona (Tabela 1), sendo os teores de matéria seca, matéria mineral, Ca, Na, proteína bruta, extrato etéreo, FDN, FDNcp, FDA e hemicelulose as variáveis primárias mais afetadas, proporcionando, assim, diferenças nos valores de estimativas dos CT, CNF, CF e NDT.

No tocante ao teor de matéria seca (Tabela1), pode-se verificar que o tratamento químico das diferentes tortas de mamona com soluções à base de NaOH geraram maior dificuldade de perda de água da torta de mamona durante o processo de secagem, sendo observadas as menores médias nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH e 3000 ml de H₂O/kg de torta (860,5 g/kgMN). Nas tortas de mamona tratadas com 90 g de CaO não foram observadas variações acentuadas nas quantidades de matéria seca (931,3 e 930,3 g/kgMN nos tratamentos com 3000 e 2500 mL de H₂O, respectivamente), quando comparadas à torta de mamona *in natura* (933,4 g/kgMN), constatando-se que as mesmas não apresentam dificuldades na perda de água durante o processo de secagem.

Tabela 1. Composição química das tortas de mamona *in natura* e destoxificadas através de diferentes tratamentos químicos

Tortas de Mamona	g/kgMN							g/kgMS								
	MS	MM	PB	EE	FDN	FDNcp	FDA	Lig	Hcel	Ca	P	Na	CT	CNF	CF	NDT
<i>in natura</i>	933,4	70,4	293,1	82,7	452,1	403,4	403,9	40,1	48,2	3,96	5,72	0,21	553,9	150,5	403,4	730,6
NaOH (90 g/3000 mL)	860,5	171,5	247,5	26,4	366,8	297,9	356,7	45,0	10,1	2,97	6,16	40,52	554,6	256,7	297,9	575,8
NaOH (90 g/2500 mL)	883,6	175,4	250,9	22,1	371,4	304,8	355,2	40,9	16,2	2,17	5,19	40,41	551,5	246,7	304,8	571,9
NaOH (90 g/1500 mL)	894,4	171,4	251,0	20,8	356,1	274,5	344,0	48,8	12,1	1,68	3,88	39,53	556,8	282,3	274,5	567,6
NaOH (60 g/3000 mL)	874,2	138,4	265,6	33,8	461,5	338,4	373,9	48,6	87,6	3,97	6,20	34,78	562,1	223,7	338,4	597,8
NaOH (60 g/2500 mL)	892,0	137,5	268,6	33,4	376,1	315,6	360,9	44,1	15,2	2,12	4,03	30,91	560,4	244,7	315,6	617,1
NaOH (60 g/1500 mL)	907,3	134,5	246,9	37,1	392,7	326,8	367,5	48,7	25,2	2,02	4,39	28,26	581,5	254,7	326,8	614,1
CaO (90 g/3000 mL)	931,3	148,3	266,2	57,0	390,8	301,5	362,0	36,5	28,8	45,81	6,84	0,37	528,5	226,9	301,6	649,4
CaO (90 g/2500 mL)	930,3	148,0	254,6	62,6	404,3	321,6	358,6	36,0	45,7	31,34	5,96	0,39	534,9	213,2	321,6	651,2

NaOH; hidróxido de sódio; CaO: óxido de cálcio; MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida pra cinzas e proteína; FDA: fibra em detergente ácido; Lig.: ligninas; Hcel: hemicelulose; Ca: cálcio; P: fósforo; Na: sódio; CT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não fibrosos; CF: carboidratos fibrosos; NDT: nutrientes digestíveis totais.

Os menores teores de matéria seca observados nas tortas de mamona tratadas com soluções químicas à base de hidróxido de sódio estão relacionados diretamente à elevada capacidade higroscópica do NaOH e à formação de grumos observados nas tortas de mamona que foram destoxificadas com soluções alcalinas à base deste reagente. Todavia, os níveis mais baixos observados de matéria seca no presente estudo (860,5 g/kgMN) não favorecerem o crescimento microbiano no material armazenado.

Estudos desenvolvidos por Pereira Filho et al. (2003), verificando a influência da composição química de fenos de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) tratados com soluções à base de NaOH nas concentrações 0; 20; 40; 60 e 80 g/L, observaram um efeito linear ($p < 0,05$) na diminuição do teor de matéria seca dos fenos com o acréscimo na quantidade de NaOH, em que o acréscimo de uma unidade de NaOH na solução proporcionou uma queda de 0,273 no percentual de matéria seca, comprovando, assim, a dificuldade de perda de água por materiais tratados com NaOH.

No que diz respeito aos teores de matéria mineral (Tabela1), os tratamentos químicos proporcionaram elevações bastante acentuadas, sendo os teores influenciados diretamente pelo agente químico e suas quantidades. Os maiores valores foram observados nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH/kg de torta de mamona, nos diferentes níveis de água, apresentando valores médios acima de 171,4 g/kgMS; seguidas pelas tortas de mamona tratadas com 90 g de CaO/kg de torta, com valores médios acima de 148,0 g/kgMS e por aquelas tratadas com 60 g de NaOH/kg de torta, com valores médios acima de 134,5 g/kgMS, em comparação à torta de mamona *in natura*, que apresentou média de 70,4 g/kgMS.

Os tratamentos químicos proporcionaram variações acentuadas nos teores de Ca e Na (Tabela1), quando comparados aos teores observados na torta de mamona *in natura*. Quando se utilizou tratamentos químicos à base de hidróxido de sódio, os teores de Ca foram iguais ou menores ao teor observado na torta de mamona *in natura*. Todavia, quando se utilizou tratamentos químicos à base de óxido de cálcio (90 g de CaO/kg de torta de mamona), foram observadas elevações acentuadas nos níveis de Ca, obtendo-se médias de 31,34 e 45,81 g/kg nas tortas tratadas com 2500 e 3000 mL de água, respectivamente. Ao se utilizar tratamentos químicos contendo 90 g de óxido de cálcio/kg de torta de mamona, foi verificado uma quantidade de Na nas tortas de mamona tratadas variando de 0,37 a 0,39 g/kg nas tortas tratadas com 3000 e 2500 mL de água, respectivamente, valor um pouco acima da quantidade observada na torta *in natura*. Porém, nas tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio, observou-se uma

elevação bastante acentuada nas quantidades de Na, sendo o menor valor observado quando utilizou-se 60 g de NaOH/1500 mL de água por quilograma de torta de mamona (28,26 g/kg) e o maior valor observado quando utilizou-se 90 g de NaOH/3000 mL de água por quilograma de torta de mamona (40,52 g/kg).

As elevações acentuadas nos teores de matéria mineral das tortas de mamona destoxificadas com os diferentes tratamentos químicos alcalinos se devem à concentração dos minerais remanescentes da solução alcalina após a evaporação da água, fazendo com que os sais fiquem retidos na torta de mamona destoxificada, sendo necessário cuidados especiais para evitar o excesso de minerais durante a formulação de dietas balanceadas.

Os teores de proteína bruta da torta de mamona *in natura* e das demais tortas destoxificadas observados no presente estudo ficaram próximos dos valores encontrados na literatura (FURTADO et al., 2012; POMPEU et al., 2012), variando de 247,5 (60 g de NaOH/1500 mL) a 268,6 (60 g de NaOH/2500 mL) nas tortas destoxificadas e com média de 293,1 g/kg na torta *in natura*, teores bastante satisfatórios quando comparados a outros subprodutos protéicos, tais como torta de girassol, com média de 292,9 g de PB/kgMS (SILVA et al., 2014); torta de algodão (269,1 g de PB/kgMS) e farelo de pinhão manso (278,1 g de PB/kgMS) (COUTO et al., 2012), sendo os teores de proteína bruta abaixo do encontrado no farelo de soja (455,2 g de PB/kgMS) (MARCONDES et al., 2009).

O teor de extrato etéreo foi bastante influenciado pelo tratamento alcalino, observando-se reduções acentuadas nos seus teores, sendo os tratamentos químicos à base de NaOH os que apresentaram maior interferência na diminuição deste nutriente. Na torta de mamona *in natura*, a quantidade média de extrato etéreo observada foi 82,7 g/kgMS, enquanto que na torta de mamona tratada com 90 g de NaOH e 1500 mL de H₂O/kg de torta de mamona o teor deste nutriente foi o menor observado, com média de 20,8 g/kgMS. Nas tortas tratadas com 90 g de CaO/kg de torta de mamona houve uma variação entre 62,6 a 57,0 g/kgMS para 2500 e 3000 mL de água, respectivamente.

Essa influência nos teores de extrato etéreo devido aos tratamentos alcalinos ocorre em função da ação de saponificação dos mesmos por este tipo de solução, pois, segundo Koseoglu e Engelgau (1990), o uso de soluções cáusticas promove a remoção de não-glicerídios e ácidos graxos livres efetivamente, podendo ocasionar também a saponificação de lipídios neutros e o arraste dos mesmos pela formação de sabões.

No que diz respeito aos teores de FDN, com exceção do tratamento que utilizou 60 g de NaOH e 3000 mL de H₂O/kg de torta de mamona, todos os outros proporcionaram reduções acentuadas nos teores deste nutriente. Entretanto, quando a FDN é avaliada corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}), observou-se que todos os tratamentos ocasionaram decréscimos acentuados, sendo as tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH e 1500 mL de H₂O/kg de torta as que apresentaram os menores valores (274,5 g/kgMS). Observou-se também decréscimos, todavia de menor intensidade, nos teores de fibra em detergente ácido, após os diferentes tratamentos químicos, variando de 344,0 a 373,9 g/kgMS, enquanto que na torta de mamona *in natura* o teor observado foi de 403,9 g/kgMS. Analisando esses resultados, pode-se verificar que a alcalinidade afeta diretamente a fibra do alimento, promovendo sua degradação.

Os tratamentos químicos influenciaram nos teores de hemicelulose das diferentes tortas. Com exceção do tratamento que utilizou 60 g de NaOH e 3000 mL de H₂O/kg de torta de mamona, que apresentou um teor médio de 87,6 g/kgMS, os demais proporcionaram diminuição bastante acentuada nessa variável, sendo o tratamento químico que utilizou 90 g de NaOH e 3000 mL de H₂O/kg de torta de mamona o que proporcionou maior redução nos teores desta variável, apresentando médias de 10,1 g/kgMS. As tortas mamona tratadas com 90 g de CaO e 2500 mL de H₂O/kg de torta de mamona foram as que apresentaram um teor de hemicelulose mais próximo das tortas de mamona *in natura*, com médias de 45,7 e 48,2 g/kgMS, respectivamente.

Esse efeito das soluções alcalinas sobre as frações fibrosas pode ser explicado devido à solubilização parcial da hemicelulose e expansão da celulose (MOTA et al., 2010), ocasionada principalmente pela quebra das ligações ésteres entre a lignina e a hemicelulose pelo processo de saponificação (FAHEY et al., 1993). Segundo Klopfenstein (1980), o teor de lignina não é normalmente alterado pelo tratamento químico, mas a ação do tratamento proporciona um aumento na taxa de digestão da fibra, tornando-a mais disponível para os microrganismos ruminais.

No tocante aos CNF, observou-se que os diferentes tratamentos químicos proporcionaram uma elevação dos teores, passando de 150,5 g/kgMS na torta de mamona *in natura* para 282,3 g/kgMS nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH e 1500 mL de H₂O/kg de torta de mamona. O tratamento químico que proporcionou menor variação no teor dos CNF, quando comparado as tortas *in natura*, foi o que utilizou 90 g de CaO e 2500 mL de H₂O/kg de torta de mamona, apresentando

teores médios de CNF de 213,2 g/kgMS. Todavia, observou-se decréscimos nos teores médios de carboidratos fibrosos devido à degradação da fração fibrosa pela alcalinidade dos produtos.

Os diferentes tratamentos químicos proporcionaram uma diminuição acentuada nos teores de NDT, sendo os valores mais próximos da torta *in natura* (730,6 g/kgMS) observados nas tortas de mamona tratadas com CaO, as quais apresentaram valores médios variando de 649,4 a 651,2 g/kgMS para os tratamentos químicos que utilizaram 2500 e 3000 mL de H₂O/kg de torta, respectivamente. Os menores valores foram observados nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH, as quais apresentaram teores médios de 567,6; 571,9 e 575,8 g/kgMS nos tratamentos que utilizaram 1500, 2500 e 3000 mL de H₂O/kg de torta, respectivamente.

Fracionamento da proteína bruta dietética por método *in vitro*

Os diferentes tratamentos alcalinos de destoxificação proporcionaram mudanças no perfil das diferentes frações nitrogenadas que compõem a proteína bruta dietética da torta de mamona (Figura 1). Observou-se, no perfil proteico das diferentes tortas de mamona *in natura*, elevados teores da fração B2 (61,06% da PB), seguida pelas frações A (19,72% da PB), C (12,05% da PB), B1 (6,52%) e B3 (0,65%), caracterizando este alimento como uma fonte proteica com degradação intermediária da proteína dietética no rúmen, servindo, assim, como fonte de aminoácidos e peptídeos no rúmen e intestino delgado.

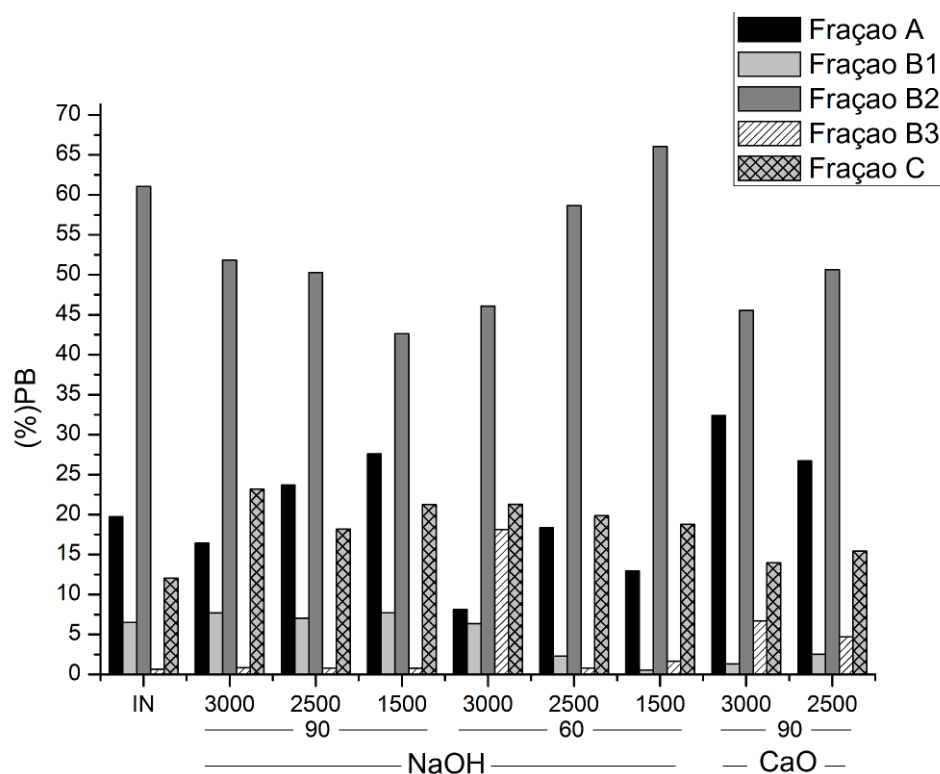


Figura 1. Fracionamento da proteína bruta de diferentes tortas de mamona tratadas com soluções químicas alcalinas em diferentes volumes de água (1500, 2500 e 3000 mL) e concentrações de reagentes (60 e 90 g) por quilograma de torta de mamona.

Ao utilizar tratamentos químicos à base de CaO na quantidade de 90 g de reagente/kg de torta de mamona, obtiveram-se médias inferiores nos teores das frações B2, quando comparadas com as tortas de mamona *in natura*, apresentando médias de 45,56 e 50,62% da PB quando se utilizou 3000 e 2500 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente. Também foram observadas diminuições nos teores da fração B1, obtendo médias de 1,31 e 2,53% da PB quando se utilizou 3000 e 2500 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente.

Em contrapartida, ocorreram incrementos nos teores da fração A, apresentando médias de 32,41 e 26,70% da PB ao utilizarem 3000 e 2500 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente. Houve, também, acréscimos nos teores da fração B3, apresentando médias de 6,71 e 4,69% da PB para 3000 e 2500 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente. Os teores da fração C também se elevaram, com médias de 14,01 e 15,44% da PB quando foram utilizados 3000 e 2500 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente.

Dessa maneira, pode-se inferir que o tratamento químico alcalino à base de CaO vai proporcionar maior degradação das proteínas solúveis e degradação intermediária, favorecendo a disponibilização do NNP. Em compensação, irá proporcionar uma elevação nos teores da fração indisponível, o que representa uma proteína que não será aproveitada pelo animal.

No que diz respeito aos tratamentos químicos que utilizaram 90 g de NaOH/kg de torta de mamona, foram observados decréscimos nos teores médios da fração B2, quando comparadas à torta de mamona *in natura*, sendo mais acentuado quando foi utilizado uma quantidade de água de 1500 mL/kg de torta de mamona, seguido do tratamento que utilizou 2500 e 3000 mL de água, com médias de 42,62; 50,27 e 51,83% da PB, respectivamente. No tratamento que utilizou 3000 mL de água/kg de torta de mamona, notou-se pequena diminuição nos teores médios da fração A, observando-se valores médios de 16,43% da PB. No entanto, nas demais tortas de mamona que foram tratadas com 90 g de NaOH ocorreram elevações nos teores da fração A, observando-se médias de 23,71 e 27,61% da PB, quando foram utilizadas 2500 e 1500 mL de água/kg de torta de mamona.

No que diz respeito à fração C, houve um incremento nos valores médios devido aos tratamentos químicos, observando-se médias de 23,19; 21,27 e 18,18% da PB quando foram utilizadas 3000, 1500 e 2500 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente. No tocante às frações B1 e B3, a variação praticamente não existiu para essa concentração de reagente. Essa alteração no perfil proteico sugere que o NaOH nesta concentração de 90 g tende a degradar a proteína de degradação intermediária no rúmen (B2), tornando-a uma proteína mais disponível, devido a uma elevação na fração A. No entanto, assim como o fenômeno observado nos tratamentos com o CaO, ocorre um acréscimo na fração C, que caracteriza a proteína indisponível, sendo mais acentuada na maior concentração de água.

Esses incrementos na fração A observados nos tratamentos que utilizaram 90 g de CaO com 3000 ou 2500 mL H₂O/kg de torta de mamona ou 90 g de NaOH com 2500 e 1500 mL H₂O/kg de torta de mamona podem proporcionar um maior suprimento de compostos nitrogenados não proteicos para microrganismos que fermentam carboidratos estruturais e, conseqüentemente, incremento na disponibilidade proteica ao longo do trato gastrointestinal (PEREIRA et al., 2000).

Nas tortas de mamona tratadas com 60 g de NaOH/kg de torta de mamona, houve decréscimos nos teores da fração A, quando comparadas à torta de mamona *in*

natura, apresentando médias de 18,36; 12,95 e 8,13% nos tratamentos que utilizaram 2500, 1500 e 3000 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente. A fração B1 também foi influenciada negativamente, apresentando uma diminuição nos teores, sendo os valores médios observados de 6,36; 2,32 e 0,56%, quando foram utilizadas 3000, 2500 e 1500 mL de água/kg de torta de mamona, respectivamente. A fração B2 apresentou uma diminuição nos teores das tortas de mamona tratadas com 3000 (46,10%) e 2500 (58,67%) mL de água/kg de torta de mamona, todavia, apresentando médias mais elevadas nas tortas tratadas com 1500 (66,05%) mL de água/kg de torta de mamona. Houve elevações nos teores da fração C, com médias de 21,28; 19,85 e 18,78% nos tratamentos que utilizaram 3000, 2500 e 1500 mL de água/kg de torta de mamona. A fração B3 apresentou uma elevação na torta de mamona tratada com 3000 mL de água/kg de torta de mamona, com valores médios de 18,13%.

Verificou-se que estes tratamentos químicos, à base de 60 g de NaOH, tendem a tornar a proteína bruta menos disponível ao animal, com elevações nas frações de degradação mais lenta, o que pode caracterizar fenômenos de complexação dos aminoácidos ou NNP em compostos de digestão mais lenta. Nesse sentido, foi possível determinar que o tratamento alcalino prejudica a digestibilidade da proteína para animais ruminantes, tal como observado por Rai e Mudgal (1996).

Analisando apenas os perfis proteicos das tortas de mamona por metodologias *in vitro*, inferiu-se que os tratamentos à base de óxido de cálcio são aqueles mais favoráveis, por tornar a proteína mais disponível (acréscimos da fração A) sem haver grandes perdas por elevações na fração indisponível (fração C)

Parâmetros de degradação ruminal *in situ*, da matéria seca, da proteína bruta e da fibra em detergente neutro

No tocante aos parâmetros de degradação ruminal *in situ* da matéria seca (Tabela 2), observou-se uma maior taxa de degradação da fração insolúvel potencialmente degradável no rúmen (kd) nas tortas de mamona tratadas com 60 g de NaOH e 3000 mL de H₂O/kg de torta de mamona, com valores médios de 5,9%/h, diferindo ($p < 0,05$) das tortas que passaram pelos demais tratamentos químicos. Todavia, a degradabilidade efetiva (DE) a um baixo (kp 2%/h), médio (kp 5%/h) e alto (kp 8%/h) nível de ingestão foram maiores nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH com 1500 e 2500 mL de H₂O/kg de torta de mamona, com médias de 60,30 e 60,07% no baixo nível de ingestão (kp 2%/h), 52,33 e 51,17% no nível de ingestão médio (kp

5%/h) e 48,33 e 46,70% no alto nível de ingestão (kp 8%/h), respectivamente, não diferindo significativamente entre si, porém diferindo ($p < 0,05$) das tortas de mamona destoxificadas com os demais tratamentos químicos.

Estudos desenvolvidos por Marcondes et al. (2009), analisando a cinética de degradação ruminal da MS e da PB de diferentes alimentos concentrados, observaram os maiores valores de kd da MS e da PB do farelo de algodão, contendo 280 g PB/kg MS de 4,2 e 6,8%/h, respectivamente, com uma DE da MS e PB a um nível médio de consumo (kp 5%/h) da MS e da PB de 55,03 e 81,37%, respectivamente, enquanto que no farelo de soja os valores observados de kd da MS e PB foram de 7,9 e 8,6%/h, respectivamente, com uma DE da MS e PB a um nível médio de consumo (kp 5%/h) de 79,53 e 78,03%, respectivamente.

No que diz respeito aos parâmetros de degradação *in situ* da PB (Tabela 2), observou-se as maiores médias de kd nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH e 1500 mL de H₂O/kg de torta de mamona (5,6%/h), não diferindo significativamente das tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH e 2500 mL de H₂O/kg de torta de mamona (5,2%/h) e das tortas tratadas com 60 g de NaOH com 3000 mL de H₂O/kg de torta de mamona (4,8%/h), porém diferindo ($p < 0,05$) dos demais tratamentos. Ao avaliar-se a DE no baixo nível de ingestão (kp 2%/h), verificou-se as maiores médias nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH e 1500 mL de H₂O (79,63%), 90 g de NaOH e 2500 mL de H₂O (79,60%), 60 g de NaOH e 2500 mL de H₂O (74,70%) e 60 g de NaOH e 3000 mL de H₂O (74,43%)/kg de torta de mamona, não diferindo significativamente entre si, nem das tortas de mamona tratadas com 90 g de CaO e 3000 mL de H₂O/kg de torta de mamona (73,73%), porém diferindo consideravelmente das tortas de mamona destoxificadas com os demais tratamentos químicos. Já a um nível de ingestão médio (kp 5%/h) e alto (kp 8%/h), as maiores médias da DE foram observadas nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH/1500 mL de H₂O (69,47 e 63,80%, respectivamente) e 90 g de NaOH/2500 mL de H₂O por quilograma de torta de mamona (69,13 e 63,43%, respectivamente), não diferindo ($p > 0,05$) entre si, porém diferindo ($p < 0,05$) dos demais tratamentos.

Tabela 2. Parâmetros da degradação ruminal e degradabilidade efetiva da matéria seca, da proteína bruta e da fibra em detergente neutro das tortas de mamona tratadas com diferentes soluções químicas alcalinas

	-----NaOH-----						-----CaO-----	
	-----90 g-----			-----60 g-----			-----90 g-----	
	3000 mL	2500 mL	1500 mL	3000 mL	2500 mL	1500 mL	3000 mL	2500 mL
	Degradação da Matéria Seca							
Kd	0,022 c	0,042 b	0,041 b	0,059 a	0,035 b	0,035 b	0,038 b	0,035 b
DE kp2	57,37 b	60,07 a	60,30 a	53,33 cd	54,93 c	53,57 cd	51,53 e	53,13 de
DE kp5	47,53 b	51,17 a	52,33 a	44,90 c	44,07 c	43,07 cd	41,47 de	41,00 e
DE kp8	43,47 b	46,70 a	48,33 a	40,17 c	38,90 cd	37,97 de	36,47 ef	35,30 f
	Degradação da Proteína Bruta							
Kd	0,022 c	0,052 ab	0,056 a	0,048 ab	0,035 bc	0,029 c	0,028 c	0,023 c
DE kp2	67,07 c	79,60 a	79,63 a	74,43 a	74,70 a	66,23 c	73,73 ab	67,67 bc
DE kp5	49,70 c	69,13 a	69,47 a	60,73 b	58,60 b	46,53 c	60,47 b	49,50 c
DE kp8	42,47 c	63,43 a	63,80 a	53,43 b	50,93 b	37,73 c	54,63 b	42,00 c
	Degradação da Fibra em Detergente Neutro							
Kd	0,029 bc	0,035 bc	0,025 c	0,070 a	0,047 b	0,041 bc	0,047 b	0,036 bc
DE kp2	26,90 b	28,40 ab	24,15 b	26,60 b	32,33 a	27,03 ab	26,43 b	29,23 ab
DE kp5	16,63 bc	18,40 abc	14,45 c	19,93 ab	22,33 a	18,10 abc	18,27 abc	18,93 abc
DE kp8	12,03 bc	13,60 abc	10,35 c	16,00 ab	17,07 a	13,60 abc	13,97 abc	14,00 abc

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente ($p < 0,05$);

NaOH: hidróxido de sódio; CaO: óxido de cálcio; kd: taxa de degradação; DE: degradação efetiva; kp2: taxa de passagem de 2%/h; kp5: taxa de passagem de 5%/h; kp8: taxa de passagem de 8%/h

No tocante aos valores de kd da fibra em detergente neutro nas tortas de mamona destoxificadas, foram observados maiores valores nas tortas de mamona tratadas com 60 g de NaOH/3000 mL de água por quilograma de torta de mamona (7,0%/h). Contudo, observamos os maiores valores de DE em um baixo nível de ingestão (kp 2%/h) nas tortas de mamona tratadas com 60 g de NaOH/2500 mL de H₂O (32,33%) por quilograma de torta de mamona, não diferindo expressivamente das tortas de mamona tratadas com 90 g de CaO/2500 mL de H₂O (29,23%), 90 g de NaOH/2500 mL de H₂O (28,40%) e 60 g de NaOH/1500 mL de H₂O (27,03%) por quilograma de torta de mamona, porém, diferindo significativamente das tortas de mamona destoxificadas com os demais tratamentos químicos. Em um nível de ingestão médio (kp 5%/h) e alto (Kp 8%/h), as maiores DE também foram observadas nas tortas de mamona tratadas com 60 g de NaOH/2500 mL de água por quilograma de torta de mamona (23,33 e 17,07%, respectivamente), diferindo apenas dos tratamentos que utilizaram 90 g de NaOH/3000 mL de água (16,63 e 12,03%, respectivamente) e 90 g de NaOH/1500 mL de água por quilograma de torta de mamona (14,45 e 10,35%, respectivamente).

Diante dos resultados apresentados, verificou-se que as tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH e 2500 mL de H₂O/kg de torta de mamona foram as que apresentaram, de maneira geral, as melhores médias, levando-se em consideração os parâmetros de degradação *in situ* da MS, da PB e da FDN.

Estimativa da degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína das diferentes tortas de mamona destoxificadas

Observou-se os maiores valores de PDR nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH/1500 mL de H₂O (54,61%), 90 g de NaOH/2500 mL H₂O (53,33%) e 90 g de CaO/3000 mL de H₂O (51,65%) (Tabela 3), constituindo uma boa fonte de nitrogênio para as bactérias ruminais sintetizarem proteína microbiana. Estudos *in vitro* desenvolvidos por (LONDOÑO HERNÁNDEZ et al., 2002) e *in situ* desenvolvidos por Cabral et al. (2001), apresentaram valores de PDR do farelo de soja semelhantes ao encontrado no presente estudo para a torta de mamona (50,78 e 50,86%, respectivamente). Por outro lado, estudos desenvolvidos por Marcondes et al. (2009), apresentaram valores de PDR do farelo de soja a um nível médio de consumo (kp 5%/h) de 79,08%. Outros subprodutos proteicos do biodiesel também bastante utilizados na alimentação de ruminantes apresentam elevados valores de PDR, tais como tortas de pinhão (95,92%), tremoço (93,41%), nabo (83,31%) e algodão (82,12%) (COUTO et al., 2012).

A fração da proteína dietética das tortas de mamona que escapam da fermentação ruminal, denominada de PNDR, sofre ações digestivas no intestino. Das tortas de mamona destoxificadas citadas acima, as que foram tratadas com 90 g de CaO/3000 mL de H₂O são as que forneceram uma maior quantidade de proteína digestível no intestino delgado (PNDRdi), com teores de 24,57% da PB, apresentando um total de PB disponível de 66,6%, seguidas pelas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH/2500 mL de H₂O (65,29%) e 90 g de NaOH/1500 mL de H₂O (64,46%).

Tabela 3. Teores de proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR), digestibilidade intestinal da PNDR (DIPNDR), proteína não degradável no rúmen digestível no intestino (PNDRdi) e proteína bruta disponível para o ruminante (PB disp.)

Tortas de mamona	PB (%MS)	PDR (%PB)	PNDR (%PB)	DIPNDR (%PNDR)	PNDRdi (%PB)	PB disp. (%PB)
NaOH (90 g/3000 ml H ₂ O)	24,75	34,88	65,12	37,73	24,57	59,45
NaOH (90 g/2500 ml H ₂ O)	25,09	53,33	46,67	25,64	11,96	65,29
NaOH (90 g/1500 ml H ₂ O)	25,10	54,61	45,39	21,70	9,85	64,46
NaOH (60 g/3000 ml H ₂ O)	26,56	42,70	57,30	32,41	18,57	61,27
NaOH (60 g/2500 ml H ₂ O)	26,86	43,80	56,20	32,71	18,38	61,18
NaOH (60 g/1500 ml H ₂ O)	24,69	38,01	61,99	38,89	24,11	62,12
CaO (90 g/3000 ml H ₂ O)	26,62	51,65	48,35	30,91	14,95	66,60
CaO (90 g/2500 ml H ₂ O)	25,46	44,93	55,07	35,66	19,64	64,57

NaOH: hidróxido de sódio; CaO: óxido de cálcio;

Os maiores valores de PNDR foram observados nas tortas de mamona tratadas com 90 g de NaOH/3000 mL de H₂O (65,12%), 60 g de NaOH/1500 mL de H₂O (61,99%) e 60 g de NaOH/3000 mL de H₂O (57,30%). Das tortas que apresentaram elevadas PNDR, as que possuem maior fração digestível no intestino (PNDRdi) foram as tratadas com 90 g de NaOH/3000 mL (24,57% PB), seguidas pelas tortas tratadas com 60 g de NaOH/1500 mL de H₂O (24,11% PB) e 60 g de NaOH/3000 mL de H₂O (18,57% PB), apresentando um total de PB digerida de 59,45; 62,12; 61,27, respectivamente. Entretanto, as tortas de mamona tratadas com 60 g de NaOH/3000 mL de H₂O mostram-se mais atrativas por fornecerem uma quantidade maior de PB, dentre aquelas que oferecem mais PNDR. Logo, por possuir o maior teor de PB e maior fornecimento de PDR associada à uma PNDR disponível aos animais ruminantes, as tortas de mamona tratadas com 90 g de CaO/3000 mL de H₂O são as que mais fornecem PB disponível aos ruminantes.

Desse modo, ressalta-se mais ainda a importância do uso da torta de mamona destoxificada como uma fonte de PNDR, necessitando, porém, de análises para caracterizar o perfil de aminoácidos desse produto.

CONCLUSÕES

Os tratamentos químicos de destoxificação influenciam diretamente no valor nutritivo e aproveitamento da proteína dietética pelo animal ruminante, havendo diminuição do valor nutritivo das tortas e proporcionando alimentos com diferentes características nutricionais.

Dentre os diferentes tratamentos químicos analisados, as tortas de mamona destoxificadas que apresentaram melhores características nutricionais foram as tratadas com 90 g de NaOH/2500 mL de água por quilograma de torta de mamona e 90 g de CaO/3000 mL de água por quilograma de torta de mamona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL – AFRC. Nutritive requirements of ruminants animals protein. **Nutrition Abstracts and Reviews (Series B)**. v. 62, n. 12, p. 787 – 835, 1992.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL (Londres, Inglaterra). **The nutrient requirements of ruminant livestock**. London: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1984. 45p.

ANANDAN, S. et al. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology**, v. 120, n. 1-2, p. 10, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 15th ed.; cap. 3-plants; vol. I, 1990.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 16th ed.; cap. 3-plants, vol. I; 1995.

CABRAL, L. DA S. et al. Estimação da digestibilidade intestinal da proteína de alimentos por intermédio da técnica de três estádios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 546–552, 2001.

COUTO, G. S. et al. Digestibilidade intestinal in vitro da proteína de coprodutos da indústria do biodiesel. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 1216–1222, 2012.

DHANOVA, M. S. On the analysis of dacron bag data for low degradability feeds. **Grass and Forage Science**, v. 43, n. 4, p. 441–444, 1988.

FAHEY, G.C., BOURQUIN, L.D., TITGEMEYER, E.C., ATWELL, D.G. Postharvest treatment of fibrous feedstuffs to improve their nutritive value. In: Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatifield, R.D., Ralf, J. (Eds.), **Forage Cell Wall Structure and Digestibility**. America Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, Madison, pp. 715–766. 1993.

FURTADO, R. N. et al. Valor nutritivo de dietas contendo torta de mamona submetida a métodos alternativos de destoxificação para ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 155–162, 2012.

HARLEY, S. M.; BEEVERS, H. Lectins in castor bean seedlings **Plant Physiology**, v. 80, n. 1, p. 6, 1986.

KLOPFENSTEIN, T. Increasing the nutritive value of crop residues by chemical treatments. In: HUBER, J.T. **Upgrading residues and products for animals**. Ed. CRC Press, 1980, p. 40-60.

KOSEOGLU, S. S.; ENGELGAU, D. E. Membrane Applications and Research in the Edible Oil Industry . An Assessment. **Journal of American Oil Chemists' Society**, **Champaign**, v. 67, n. 4, p. 239–249, 1990.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, n. 4, p. 347–358, 1996.

LONDOÑO HERNÁNDEZ, F. I. et al. Avaliação de Dois Métodos in vitro para Determinar a Cinética Ruminal e a Digestibilidade Intestinal da Proteína de Vários Alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 256–260, 2002.

MARCONDES, M. I. et al. Degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta de alimentos para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 2247–2257, 2009.

MELO, W. C. et al. Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e avaliação da letalidade da torta hidrolisada para camundongos. **Química Nova**, v. 31, p. 1104–1106, 2008.

MERTENS, D. R. 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.

MOTA, D. A. et al. Hidrólise da cana-de-açúcar com cal virgem ou cal hidratada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1186–1190, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington. D. C. National Academic Press. 2001. 381 p.

ØRSKOV, E. R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **The Journal of Agricultural Science**, v. 92, n. 02, p. 499–503, 1979.

PEREIRA FILHO, J. M. et al. Efeito do tratamento com hidróxido de sódio sobre a fração fibrosa, digestibilidade e tanino do feno de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* Wild). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 70–76, 2003.

PEREIRA, E. S. et al. Determinação das frações protéicas e de carboidratos e taxas de degradação in vitro da cana-de-açúcar, da cama de frango e do farelo de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1887–1893, 2000.

POMPEU, R. C. F. F. et al. Desempenho produtivo e características de carcaça de ovinos em confinamento alimentados com rações contendo torta de mamona destoxificada em substituição ao farelo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 726–733, 2012.

RAI, S. N.; MUDGAL, V. D. Effect of alkali and (or) steam treatment of wheat straw or

cellulase augmented concentrate mixture on rumen fermentation in goats. **Small Ruminant Research**, v. 19, n. 3, p. 219–225, 1996.

SILVA, A. M. et al. Valor nutricional de resíduos da agroindústria para alimentação de ruminantes. **Comunicata Scientiae**. v. 5, n. 4, p. 370–379, 2014.

SNIFFEN, C. J. 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.

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. 3583–97, out. 1991.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal of the A.O.A.C**, v. 51, n. 4, p. 780–785, 1968.

WEISS, W. P. Predicting Energy Values of Feeds. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 6, p. 1802–1811, 1993.

CAPÍTULO 3

**Estimativas do custo máximo de diferentes tortas de mamona
destoxificadas por tratamentos alcalinos e seu uso na formulação de
dietas para vacas leiteiras**

Estimativas do custo máximo de diferentes tortas de mamona destoxificadas por tratamentos alcalinos e seu uso na formulação de dietas para vacas leiteiras

RESUMO

O presente estudo foi desenvolvido com o intuito de verificar a viabilidade de uso de diferentes tortas de mamona destoxificadas por produtos alcalinos em substituição ao farelo de soja, em diferentes preços de mercado, bem como determinar o preço máximo de aquisição deste subproduto para que seu uso se torne viável. Foram realizadas diferentes simulações de dietas totais de menor custo para vacas leiteiras usando tortas de mamona destoxificadas por tratamentos alcalinos substituindo o farelo de soja como fonte proteica na ração concentrada. As tortas de mamona destoxificadas utilizadas foram tratadas com hidróxido de sódio e óxido de cálcio em diferentes proporções de reagentes e volumes de água por quilograma de torta. As simulações das dietas foram realizadas utilizando três diferentes preços de aquisição das tortas de mamona destoxificadas, sendo eles: o custo zero, o custo de oportunidade e o custo máximo de aquisição, momento em que o preço máximo da torta de mamona destoxificada tornaria o custo total da dieta similar ao custo da dieta formulada com o farelo de soja. De acordo com as simulações, foi possível a substituição parcial do farelo de soja pelas tortas de mamona destoxificadas por produtos alcalinos sem interferir no fornecimento dos nutrientes exigidos pelos animais. As tortas de mamona tratadas com óxido de cálcio permitiram um maior nível de substituição, aliado a um maior custo máximo de aquisição, quando comparadas às tortas de mamona tratadas com hidróxido de sódio, destacando-se as tortas tratadas com 90 g de CaO e 2500 mL de água/kg de torta de mamona.

Palavras-chave: subprodutos do biodiesel, hidróxido de sódio, ricina, *Ricinus communis*, óxido de cálcio

Estimates of maximum cost of different castor cakes detoxified by alkaline treatments and their use in the formulation of dairy cow diets

ABSTRACT

The present study was conducted to determine the viability of using castor cake detoxified by alkaline products to replace soybean meal, at different market prices, as well as to determine the maximum purchase price of this by-product so its use can be viable. Different simulations of total diets at lowest cost for dairy cows were performed using castor cakes detoxified by alkaline treatments to replace soybean meal as a protein source in the concentrate diet. The detoxified castor cakes tested here were treated with sodium hydroxide and calcium oxide at different reagent proportions and water volumes per kilogram of cake. Diet simulations were run using three different purchase prices of detoxified castor cakes, as follows: zero cost; opportunity cost; and maximum purchase cost (the moment at which the maximum price of the detoxified castor cake would make the total cost of the diet similar to that of the diet formulated with soybean meal). According to the simulation, it was possible to partially replace soybean meal by the castor cakes detoxified by alkaline products without interfering with the supply of nutrients required by the animals. Castor cakes treated with calcium oxide allowed a higher level of replacement coupled with a higher maximum purchase cost when compared with the castor cakes treated with sodium hydroxide. The best results were obtained from the cakes treated with 90 g CaO and 2500 mL water/kg castor cake.

Key words: biodiesel by-products, sodium hydroxide, ricin, *Ricinus communis*, calcium oxide

INTRODUÇÃO

O setor agropecuário brasileiro representa elevada importância para a economia nacional, com crescimento de 7% no ano de 2013, em relação a 2012, e um percentual superior ao de serviços (2%) e da indústria (1,3%), representando 4,85% do produto interno bruto (PIB) da economia brasileira, obtendo a maior taxa de crescimento desde 1995, somando um total de R\$ 234,6 bilhões (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2014).

Pode-se definir que a agropecuária brasileira é constituída, em sua minoria, por grandes e médios produtores, enquanto que os pequenos produtores constituem a grande maioria. Nesse contexto, muitos autores correlacionam os baixos índices de lucratividade ao tamanho da área da fazenda. Todavia, em muitos casos, esses baixos índices devem-se principalmente à falta de acompanhamento técnico, falta de planejamento das atividades produtivas e falta de avaliação dos índices econômicos desses sistemas de produção.

Hofer et al. (2006), afirmaram que frequentemente o agricultor paga mais pelos insumos necessários para a produção, recebendo menos pelos produtos colhidos. Logo, o empresário rural (seja pequeno, médio ou grande produtor), deve buscar meios alternativos para diminuir o custo de produção, evitar desperdícios e melhorar o planejamento e controle das atividades, possibilitando, assim, gerar informações precisas e oportunas sobre a situação real da produção e resultado das culturas de sua propriedade. Uma das soluções para diminuir os custos de produção seria o uso de produtos alternativos na alimentação animal, utilizando subprodutos da agroindústria produzidos em larga escala na região.

Dentre os diversos subprodutos existentes na região semiárida destaca-se a torta de mamona, que se caracteriza por ser um subproduto proteico, oriundo da extração do óleo de mamona pela indústria do biodiesel. Segundo Melo et al. (2008), para cada tonelada de óleo de mamona extraído pela indústria do biodiesel, cerca de 1,2 toneladas de torta de mamona são produzidas, valor que pode variar em função do teor de óleo das sementes e do processo industrial de extração de óleo. O grande entrave que impossibilita o uso da torta de mamona *in natura* para a alimentação animal são os compostos citotóxicos presentes na mesma, dentre os quais destacam-se duas lectinas, a ricina e a *ricinus aglutinina*, sendo necessários tratamentos químicos ou físicos para degradá-las ou desnaturá-las.

Devido às despesas oriundas do processo de destoxificação das tortas de mamona, torna-se importante avaliar a viabilidade econômica do uso desses subprodutos destoxificados em relação a outros alimentos protéicos, como o farelo de soja. Nesse contexto, o presente estudo foi desenvolvido com o intuito de verificar a viabilidade de uso de diferentes tortas de mamona destoxificada por produtos alcalinos em substituição ao farelo de soja, em diferentes preços de mercado, bem como determinar o preço máximo desse subproduto para que seu uso se torne viável.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e duração do experimento

O presente estudo foi conduzido de setembro de 2014 a março de 2015, no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, localizada no município de Fortaleza – CE.

Padrões de referência e software utilizado

Foram realizadas simulações de dietas totais de menor custo para vacas leiteiras utilizando diferentes tortas de mamona destoxificadas, substituindo totalmente o farelo de soja como fonte proteica na ração concentrada, através do software Super Crac Bovinos de Leite 4.7 da empresa TD Software®, baseado no NRC (2001).

Como referência para a formulação das diferentes dietas, adotou-se uma vaca leiteira com peso corporal médio de 550 kg, escore de condição corporal 3, peso à maturidade de 680 kg, com uma produção média diária de 20 kg de leite, estando na décima semana de lactação, sem está gestante e sem apresentar ganho de peso.

Formulação das dietas

Durante a formulação das dietas utilizou-se como volumoso padrão a silagem de capim-elefante pré-emurchecido. No tocante às rações concentradas, foram adotados diferentes ingredientes possíveis de serem utilizados, tais como: milho grão moído, farelo de soja, ureia (uso máximo de 100 gramas na dieta total), calcário calcítico, sal comum e fosfato bicálcico; podendo variar as suas quantidades, proporcionando uma ração que fornecesse todos os nutrientes exigidos pelos animais com o menor preço possível da dieta total. Como dieta padrão, utilizou-se aquela formulada com o farelo de soja como fonte proteica na ração concentrada. As demais dietas testes utilizaram oito

diferentes tortas de mamona destoxificadas por tratamentos alcalinos à base de hidróxido de sódio (NaOH) e óxido de cálcio (CaO), usando diferentes concentrações de reagentes (g/kg de torta de mamona) e volumes de água (mL/kg de torta de mamona) durante o processo, com destoxificação comprovada por eletroforeses e ensaios de hemaglutinação, substituindo o farelo de soja até a máxima quantidade permitida sem interferir no valor nutritivo da dieta final.

Os tratamentos químicos utilizados para destoxificação das tortas de mamona foram (reagente/água por quilograma de torta de mamona): 60 g de NaOH/1500 mL; 60 g de NaOH/2500 mL; 60 g de NaOH/3000 mL; 90 g de NaOH/1500 mL; 90 g de NaOH/2500 mL; 90 g de NaOH/3000 mL; 90 g de CaO/2500 mL e 90 g de CaO/3000 mL. Utilizou-se a composição química da silagem de capim-elefante pré-emurchecida determinada por Carvalho et al. (2008). As composições químicas dos ingredientes padrões das rações concentradas, obtidas pelo programa CQBAL 3.0, bem como os preços de custos dos mesmos, podem ser observados na Tabela 1. Adotou-se as quantidades de cálcio e fósforo das tortas de mamona destoxificadas similares às quantidades determinadas pelo CQBAL 3.0 para a torta de mamona *in natura*, em virtude da ausência desses dados. Os preços de custos dos ingredientes adotados nas diferentes simulações, foram orçados no município de Quixeramobim – CE, com exceção do custo de oportunidade da torta de mamona, que foi obtido no município de Quixadá – CE, caracterizado como um polo produtor.

Durante a formulação das diferentes dietas foram levadas em consideração as exigências em termos de energia líquida (EL), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), fibra em detergente neutro (FDN), cálcio (Ca) e fósforo (P), obedecendo a um teor máximo de 8% de extrato etéreo (EE), segundo o NRC (2001). Foram permitidas variações na relação volumoso:concentrado, desde que as exigências mínimas e máximas de FDN fossem supridas.

Para observar a possibilidade de substituição parcial do farelo de soja pelas diferentes tortas de mamona destoxificadas na composição centesimal das dietas totais, foram formuladas oito rações com as tortas de mamona destoxificadas, levando-se em consideração que o preço da torta de mamona apresentaria custo zero. Em seguida, foram simuladas oito novas dietas totais, levando-se em consideração que o preço das tortas de mamona destoxificadas seria igual ao preço de custo de oportunidade da torta de mamona, valor em que a mesma é vendida como adubo (R\$ 0,25/kg MN). Para determinar o custo máximo das tortas de mamona destoxificadas, foram realizadas

simulações no preço das mesmas, sendo o preço máximo determinado no momento em que o custo total das dietas fossem o mais próximo possível ao custo total da dieta que utilizou o farelo de soja na ração concentrada, pois acima desse valor o uso da torta de mamona seria inviável.

Tabela 1. Composição química e custo de mercado das diferentes matérias primas utilizadas na formulação das diferentes rações concentradas

	-----%MS-----								---%PB---			R\$/kg MN
	MS	Ca	P	Na	PB	EE	FDN	NDT	PB A	PB B	PB kd	
Capim-elefante sil.	27,8	0,38	0,08	0,02	8,6	1,8	68,6	57	50,7	38,7	3,72	0,03
Milho grão moído	89,8	0,03	0,25	0,03	10	5,91	16,2	89,3	21,93	74,21	4,03	0,73
Farelo de soja	88,9	0,33	0,58	0,17	48,1	1,8	13,3	80,3	18,21	78,59	9,9	1,44
NaOH(90 g/3000 mL)	86,1	0,30	0,62	4,05	24,75	2,64	36,68	57,58	16,43	60,37	2,2	-
NaOH (90 g/2500 mL)	88,4	0,22	0,52	4,04	25,09	2,21	37,14	57,19	23,71	58,11	5,2	-
NaOH (90 g/1500 mL)	89,4	0,17	0,39	3,95	25,1	2,08	35,61	56,76	27,61	51,12	5,6	-
NaOH (60 g/3000 mL)	87,4	0,40	0,62	3,48	26,56	3,38	46,15	59,78	8,13	70,59	4,8	-
NaOH (60 g/2500 mL)	89,2	0,21	0,40	3,09	26,86	3,34	37,61	61,71	18,36	61,79	3,5	-
NaOH (60 g/1500 mL)	90,7	0,20	0,44	2,83	24,69	3,71	39,27	61,41	12,95	68,28	2,93	-
CaO (90 g/3000 mL)	93,1	4,58	0,68	0,04	26,62	5,7	39,08	64,94	32,41	53,58	2,8	-
CaO (90 g/2500 mL)	93,0	3,13	0,60	0,04	25,46	6,26	40,43	65,12	26,71	57,85	2,3	-
Calcário Calcítico	100	38,5	-	0,01	-	-	-	-	-	-	-	0,19
Fosfato Bicálcico	100	23,7	18,33	-	-	-	-	-	-	-	-	3,00
Sal Comum	98,0	-	-	37,0	-	-	-	-	-	-	-	0,20
Ureia	100	-	-	-	280,0	-	1,00	-	100,0	-	-	1,92

MS: matéria seca; Ca: cálcio; P: fósforo; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; PB A: nitrogênio não proteico; PB B: fração proteica degradável no rúmen; PB kd: taxa de degradação da fração B; MN: matéria natural

Após as simulações, foram determinadas as relações volumoso:concentrado das dietas, o fornecimento de volumoso e de concentrado por dia para os animais, os custos com volumosos, concentrados e dietas totais/dia, custos com as fontes proteicas em R\$/kgMN, preço de custo do kg da ração concentrada, além da composição centesimal das diferentes dietas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As dietas formuladas seguiram o mesmo padrão, suprimindo todas as exigências dos animais, segundo as recomendações do NRC (2001), podendo ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2. Exigências nutricionais dos animais e valor nutritivo das dietas formuladas com farelo de soja e tortas de mamona destoxificadas com diferentes preços de mercado

Fonte Protéica	PB (kg)	PDR (kg)	EL (Mcal)	EE (%)	FDN (kg)	Ca (kg)	P (kg)	Na (kg)
Exig. Mínima	2,38	1,43	23,07	0,00	4,15	0,121	0,051	0,037
Exig. Máxima	2,62	1,66	24,22	8,00	7,15	0,181	0,077	0,056
Soja	2,38	1,64	23,07	2,45	4,15	0,121	0,051	0,037
Custo zero de aquisição								
NaOH _(90 g/3000 mL)	2,38	1,52	23,07	2,56	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(90 g/2500 mL)	2,38	1,57	23,07	2,52	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(90 g/1500 mL)	2,38	1,58	23,07	2,50	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(60 g/3000 mL)	2,38	1,53	23,07	2,64	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(60 g/2500 mL)	2,38	1,53	23,07	2,64	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(60 g/1500 mL)	2,38	1,50	23,07	2,69	7,15	0,121	0,051	0,056
CaO _(90 g/3000 mL)	2,38	1,52	23,07	3,16	7,15	0,181	0,051	0,037
CaO _(90 g/2500 mL)	2,45	1,43	23,07	3,65	7,15	0,181	0,051	0,037
Custo de oportunidade de aquisição								
NaOH _(90 g/3000 mL)	2,38	1,52	23,07	2,56	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(90 g/2500 mL)	2,38	1,57	23,07	2,52	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(90 g/1500 mL)	2,38	1,58	23,07	2,50	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(60 g/3000 mL)	2,38	1,53	23,07	2,64	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(60 g/2500 mL)	2,38	1,53	23,07	2,64	7,15	0,121	0,051	0,056
NaOH _(60 g/1500 mL)	2,38	1,50	23,07	2,69	7,15	0,121	0,051	0,056
CaO _(90 g/3000 mL)	2,38	1,52	23,07	3,16	7,15	0,181	0,051	0,037
CaO _(90 g/2500 mL)	2,45	1,43	23,07	3,65	7,15	0,181	0,051	0,037
Custo máximo de aquisição								
NaOH _(90 g/3000 mL)	2,38	1,57	23,07	2,52	7,15	0,121	0,051	0,037
NaOH _(90 g/2500 mL)	2,38	1,60	23,07	2,50	7,15	0,121	0,051	0,037
NaOH _(90 g/1500 mL)	2,38	1,60	23,07	2,49	7,15	0,121	0,051	0,037
NaOH _(60 g/3000 mL)	2,38	1,58	23,07	2,58	7,15	0,121	0,051	0,037
NaOH _(60 g/2500 mL)	2,38	1,57	23,07	2,58	7,15	0,121	0,051	0,037
NaOH _(60 g/1500 mL)	2,38	1,55	23,07	2,60	7,15	0,121	0,051	0,037
CaO _(90 g/3000 mL)	2,38	1,59	23,07	2,77	7,15	0,121	0,051	0,037
CaO _(90 g/2500 mL)	2,38	1,53	23,07	3,00	7,15	0,121	0,051	0,037

NaOH: hidróxido de sódio; CaO: óxido de cálcio; PB: proteína bruta; PDR: proteína degradável no rúmen; EL: energia líquida; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; Ca: cálcio; P: fósforo

Verificou-se que todas as dietas formuladas com as diferentes tortas de mamona destoxificadas não conseguiram substituir totalmente o farelo de soja nas rações concentradas sem interferir na composição química da dieta, utilizando os ingredientes adotados nas simulações.

Não houve diferenças elevadas no consumo de matéria seca total estimado para os animais em função das diferentes dietas formuladas com as tortas de mamona destoxificadas, quando comparada a dieta formulada com o farelo de soja (14,51 kg MS), variando em 0,16 kg a mais de consumo estimado de MS para os animais

alimentados com dietas totais formulada com torta de mamona destoxificada com 90 g de NaOH/1500 mL H₂O, quando adotou-se o custo zero e custo de oportunidade de aquisição; até 0,24 kg a menos de consumo estimado de MS para os animais alimentados com uma dieta total formulada com torta de mamona destoxificada com 90 g de CaO/3000 mL H₂O, quando adotaram-se o custo zero e custo de oportunidade de aquisição (Tabela 3).

O consumo de matéria seca estimado não foi drasticamente afetado, resultado esse bastante satisfatório, pois, segundo Van Soest (1994), quando da substituição de alimentos tradicionais, deve-se levar em consideração as mudanças provocadas no comportamento animal, sendo o consumo de alimentos uma das principais variáveis, pois o mesmo apresenta fundamental importância para a nutrição animal, configurando-se como fator determinante para estimar o consumo de nutrientes ingeridos.

Ao utilizar o farelo de soja como fonte proteica na ração concentrada, a dieta total foi balanceada obtendo um custo mínimo de R\$ 7,17/animal*dia (Tabela 3), apresentando uma relação volumoso:concentrado de 64,87:35,13; sendo o concentrado o componente de maior custo da dieta (R\$ 6,16/animal*dia), apresentando um valor médio de R\$ 1,21/kg MS do concentrado, sendo utilizado no mesmo uma quantidade de 43,00% de farelo de soja em sua composição centesimal (Tabela 4).

A relação volumoso:concentrado da dieta padrão que utilizou concentrado formulado com farelo de soja como fonte proteica principal foi um pouco acima do valor preconizado por Barbosa et al. (2002), os quais sugerem uma relação volumoso:concentrado de 60:40 para vacas leiteiras com a produção variando de 14 a 23 kg de leite/dia, tendo, assim, a capacidade de fornecimento de todos os nutrientes exigidos pelos animais em um sistema que observa a viabilidade financeira da atividade. Possivelmente, esse fato ocorreu devido à qualidade nutricional satisfatória e ao preço de custo da forrageira adotada (Tabela 01), não necessitando de um excedente de concentrado, o que iria tornar a dieta menos atrativa financeiramente.

No custo de produção de leite, a alimentação torna-se o componente de maior participação nos custos variáveis, sendo os alimentos concentrados aqueles de maior custo na alimentação, tornando-se assim o componente de maior relevância no custo de produção do leite (STELZER et al., 2009), como pode-se observar na dieta padrão. Nesse contexto, a utilização de alimentos alternativos que permitam a substituição de alimentos tradicionais, sem prejudicar o fornecimento dos nutrientes exigidos pelos animais, melhorando a viabilidade econômica da produção agropecuária é desejável.

Logo, a torta de mamona destoxificada apresenta-se como uma possível fonte proteica de baixo custo, com boa produção na região semiárida, agregando valor a um subproduto da agroindústria que, segundo Abdalla et al. (2008), é utilizado principalmente como adubo orgânico, apresentando um baixo valor agregado quando comparado à sua utilização como alimento animal.

Tabela 3. Relação volumoso:concentrado, custo total da dieta e da fonte proteica das rações formuladas com o farelo de soja e com as diferentes tortas de mamona destoxificadas nos diferentes preços de aquisição

	Relação V:C	MSt	MSv	MSc	Custo Vol.	Custo Conc.	Custo Dieta	Fonte Prot.	Conc.
Dieta		kgMS/animal*dia			R\$/animal*dia			R\$/kgMN	R\$/kgMS
Soja	64,87:35,13	14,51	9,41	5,10	1,02	6,16	7,17	1,44	1,21
Custo zero de aquisição									
NaOH _(90 g/3000 mL)	59,89:40,11	14,61	8,75	5,86	0,94	5,06	6,00	0,00	0,86
NaOH _(90 g/2500 mL)	59,07:40,93	14,64	8,65	5,99	0,93	4,97	5,91	0,00	0,83
NaOH _(90 g/1500 mL)	58,81:41,19	14,67	8,63	6,04	0,93	4,82	5,75	0,00	0,80
NaOH _(60 g/3000 mL)	59,38:40,62	14,39	8,55	5,85	0,92	5,03	5,96	0,00	0,86
NaOH _(60 g/2500 mL)	59,45:40,55	14,56	8,65	5,90	0,93	4,86	5,79	0,00	0,82
NaOH _(60 g/1500 mL)	58,69:41,31	14,55	8,54	6,01	0,92	4,83	5,75	0,00	0,80
CaO _(90 g/3000 mL)	56,88:43,12	14,31	8,14	6,17	0,88	3,73	4,60	0,00	0,60
CaO _(90 g/2500 mL)	51,39:48,61	14,27	7,33	6,93	0,79	2,72	3,51	0,00	0,39
Custo de oportunidade de aquisição									
NaOH _(90 g/3000 mL)	59,89:40,11	14,61	8,75	5,86	0,94	5,48	6,43	0,25	0,94
NaOH _(90 g/2500 mL)	59,07:40,93	14,64	8,65	5,99	0,93	5,44	6,37	0,25	0,91
NaOH _(90 g/1500 mL)	58,81:41,19	14,67	8,63	6,04	0,93	5,32	6,25	0,25	0,88
NaOH _(60 g/3000 mL)	59,38:40,62	14,39	8,55	5,85	0,92	5,45	6,37	0,25	0,93
NaOH _(60 g/2500 mL)	59,45:40,55	14,56	8,65	5,90	0,93	5,32	6,25	0,25	0,90
NaOH _(60 g/1500 mL)	58,69:41,31	14,55	8,54	6,01	0,92	5,33	6,25	0,25	0,89
CaO _(90 g/3000 mL)	56,88:43,12	14,31	8,14	6,17	0,88	4,47	5,35	0,25	0,72
CaO _(90 g/2500 mL)	51,39:48,61	14,27	7,33	6,93	0,79	3,89	4,68	0,25	0,56
Custo de máximo de aquisição									
NaOH _(90 g/3000 mL)	61,89:38,11	14,54	9,00	5,54	0,97	6,20	7,17	0,70	1,12
NaOH _(90 g/2500 mL)	61,37:38,63	14,56	8,94	5,62	0,96	6,21	7,17	0,69	1,10
NaOH _(90 g/1500 mL)	61,21:38,79	14,58	8,92	5,65	0,96	6,21	7,17	0,71	1,03
NaOH _(60 g/3000 mL)	61,59:38,41	14,41	8,87	5,53	0,96	6,22	7,17	0,74	1,12
NaOH _(60 g/2500 mL)	61,62:38,38	14,51	8,94	5,57	0,97	6,21	7,17	0,75	1,11
NaOH _(60 g/1500 mL)	61,15:38,85	14,50	8,87	5,63	0,96	6,21	7,17	0,72	1,10
CaO _(90 g/3000 mL)	61,76:38,24	14,35	8,87	5,49	0,96	6,21	7,17	0,87	1,13
CaO _(90 g/2500 mL)	59,40:40,60	14,34	8,52	5,82	0,92	6,25	7,17	0,82	1,07

NaOH: hidróxido de sódio; CaO: óxido de cálcio; Relação V:C: relação volumoso:concentrado; CMSt: Consumo de Matéria Seca Total; Volum.: volumoso; Conc.: concentrado; D.Total: dieta total Font. Prot.: fonte protéica

Dentre as dietas formuladas com as diferentes tortas de mamona destoxificadas, adotando o preço de custo zero para as mesmas, a dieta que apresentou o menor custo

total foi a que utilizou a torta de mamona destoxificada com 90 g CaO/2500 mL água por quilograma de torta de mamona, a qual apresentou um custo total de R\$ 3,51/animal*dia, sendo utilizada uma relação volumoso:concentrado de 51,39:48,61. O maior custo da dieta foi obtido com o fornecimento de concentrado (R\$ 2,72/animal*dia), com um preço de R\$ 0,39/kg MS do concentrado, enquanto que o volumoso apresentou um custo total de R\$ 0,79/animal*dia.

Diante desse comportamento foi observado em função que, para esse preço de custo da torta de mamona tratada com 90 g de CaO/2500 mL de água por quilograma de torta de mamona, torna-se possível formular uma dieta total utilizando como principal ingrediente da ração concentrada a torta de mamona destoxificada, totalizando 61,95% da ração, substituindo o farelo de soja em 82,02% (Tabela 4).

Apesar de estudos prévios, desenvolvidos por Pompeu et al. (2012), recomendarem a adoção da torta de mamona destoxificada por autoclavagem em níveis de adição que substituam o farelo de soja em, no máximo, 67%, a completa substituição do farelo de soja pela torta de mamona destoxificada torna-se possível, visto que estudos desenvolvidos por Oliveira et al. (2010) mostraram que a substituição total do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado com hidróxido de cálcio não ocasionou problemas fisiológicos em ovinos confinados. Todavia, em função da formulação de uma dieta de baixo custo, o máximo de substituição conseguido no presente estudo foi de 82,02%.

Dentre as dietas formuladas com as diferentes tortas de mamona destoxificadas com NaOH, levando-se em consideração o custo zero de aquisição da torta de mamona, as que apresentaram um menor custo total da dieta foram as que utilizaram as tortas de mamona destoxificadas com 90 e 60 g NaOH/1500 mL de água por quilograma de torta de mamona, apresentando um custo total de R\$ 5,75/animal*dia, com relações volumoso:concentrado de 58,81:41,19 e 58,69:41,31, respectivamente. A maior parte do custo das dietas foram obtidos com o concentrado: R\$ 4,82 e 4,83/animal*dia, para as dietas que utilizaram tortas de mamona destoxificadas com 90 e 60 g NaOH/1500 mL de água por quilograma de torta de mamona, respectivamente, com um custo de R\$ 0,80/kg MS do concentrado (Tabela 3), o qual foi formulado utilizando 30,05 e 29,88% de torta de mamona destoxificada, substituindo o farelo de soja em 47,21 e 44,84%, respectivamente, quando comparado à dieta padrão.

A dieta que apresentou um maior custo total (R\$ 6,00/animal*dia), quando adotou-se o preço de custo zero da torta de mamona, foi a que utilizou a torta de

mamona destoxificada com 90 g de NaOH/3000 mL de água por quilograma de torta de mamona, apresentando uma relação volumoso:concentrado de 59,89:40,11. Grande parte do custo foi oriundo da ração concentrada (R\$ 5,06/animal*dia), que apresentou um custo médio de R\$ 0,86/kg MS de concentrado, utilizando em sua composição centesimal 25,77% de torta de mamona destoxificada, apresentando o menor nível de substituição do farelo de soja (39,47%).

Tabela 4. Composição centesimal dos concentrados formulados com as diferentes tortas de mamonas destoxificadas adotando os diferentes preços de aquisição

Concentrado	Milho	Soja	Mamona	Ureia	Calcário	Fosfato	Sal	%Subst. Soja
Soja	49,23	43,00		1,77	2,18	2,32	1,51	
Custo zero de aquisição								
NaOH _(90 g/3000 mL)	43,01	26,03	25,77	1,52	2,09	1,59		39,47
NaOH _(90 g/2500 mL)	42,77	23,99	27,92	1,5	2,02	1,81		44,21
NaOH _(90 g/1500 mL)	41,98	22,7	30,05	1,49	2,06	1,73		47,21
NaOH _(60 g/3000 mL)	43,35	25,83	25,56	1,53	2,12	1,62		39,93
NaOH _(60 g/2500 mL)	42,89	23,47	28,21	1,52	2,04	1,87		45,42
NaOH _(60 g/1500 mL)	41,06	23,72	29,88	1,51	2,09	1,75		44,84
CaO _(90 g/3000 mL)	36,61	15,19	44,22	1,48		1,18	1,32	64,67
CaO _(90 g/2500 mL)	26,98	7,73	61,95	1,33		0,83	1,19	82,02
Custo de oportunidade de aquisição								
NaOH _(90 g/3000 mL)	43,01	26,03	25,77	1,52	2,09	1,59		39,47
NaOH _(90 g/2500 mL)	42,77	23,99	27,92	1,5	2,02	1,81		44,21
NaOH _(90 g/1500 mL)	41,98	22,7	30,05	1,49	2,06	1,73		47,21
NaOH _(60 g/3000 mL)	43,35	25,83	25,56	1,53	2,12	1,62		39,93
NaOH _(60 g/2500 mL)	42,89	23,47	28,21	1,52	2,04	1,87		45,42
NaOH _(60 g/1500 mL)	41,06	23,72	29,88	1,51	2,09	1,75		44,84
CaO _(90 g/3000 mL)	36,61	15,19	44,22	1,48		1,18	1,32	64,67
CaO _(90 g/2500 mL)	26,98	7,73	61,95	1,33		0,83	1,19	82,02
Custo de máximo de aquisição								
NaOH _(90 g/3000 mL)	45,37	31,98	17,07	1,61	2,13	1,84		25,63
NaOH _(90 g/2500 mL)	45,18	30,57	18,59	1,6	2,08	1,99		28,91
NaOH _(90 g/1500 mL)	44,65	29,68	20,04	1,59	2,11	1,94		30,98
NaOH _(60 g/3000 mL)	45,6	31,88	16,89	1,62	2,15	1,87		25,86
NaOH _(60 g/2500 mL)	45,29	30,3	18,67	1,62	2,1	2,03		29,53
NaOH _(60 g/1500 mL)	44,05	30,41	19,86	1,6	2,13	1,95		29,28
CaO _(90 g/3000 mL)	43,75	30,17	21,17	1,65		1,82	1,44	29,84
CaO _(90 g/2500 mL)	39,88	24,25	31,31	1,58		1,63	1,37	43,60

NaOH: hidróxido de sódio; CaO: óxido de cálcio.

Quando se adotou o custo de oportunidade da torta de mamona, preço pelo qual é vendida como adubo (R\$ 0,25/kg MN), como valor de custo das tortas de mamonas destoxificadas, as dietas formuladas com as tortas de mamona destoxificadas com 90 g

de CaO com 2500 e 3000 mL de água/kg de torta de mamona foram as que apresentaram o menor custo total, sendo o custo simulado em R\$ 4,68 e 5,35/animal*dia, respectivamente.

A dieta formulada com a torta de mamona destoxificada com 90 g CaO/2500 mL H₂O foi a que apresentou o menor custo no concentrado/animal*dia (R\$ 3,89), sendo o concentrado com o menor custo por quilograma de matéria seca (R\$ 0,56/kg MS). Na referida dieta, observou-se uma relação volumoso:concentrado de 51,39:48,61; sendo o concentrado formulado com 61,95% de torta de mamona, sem modificar a composição centesimal da dieta, quando comparado à dieta formulada com a mesma torta de mamona com o seu preço de custo reduzido a zero, substituindo o farelo de soja em 82,02%.

A baixa relação volumoso:concentrado observada na presente dieta, contendo a torta de mamona destoxificada com 90g de CaO/2500 mL de água por kg de torta de mamona, quando foi adotado o custo de oportunidade de aquisição, está relacionada diretamente ao baixo custo do concentrado, tornando-se mais viável utilizar concentrado do que alimentar com o volumoso nesses preços analisados. Todavia, é importante ressaltar que autores como Costa et al. (2011) afirmaram que alterações na relação volumoso:concentrado podem afetar o teor de gordura do leite, em razão da produção de ácido acético no rúmen (ZAMBOM et al., 2005). No entanto, esse efeito não foi observado em trabalhos desenvolvidos por Stelzer et al. (2009). Já, Alcade et al. (2005) relata que, quanto maior a inclusão de volumoso na dieta, menor é a produção de leite.

Avaliando as dietas que foram formuladas com tortas de mamona destoxificadas com NaOH, quando se adotou o custo de oportunidade de aquisição, as dietas que apresentaram um menor custo total foram as que utilizaram torta de mamona destoxificada com 90 g de NaOH/1500, 60 g de NaOH/2500 e 60 g de NaOH/1500 mL água por quilograma de torta de mamona, apresentando um custo total de R\$ 6,25/animal*dia.

Dentre as dietas que utilizaram NaOH anteriormente citadas, as que apresentaram um menor custo de concentrado por animal/dia foram as que utilizaram tortas de mamona tratadas com 90 e 60 g de NaOH/1500 mL água por quilograma de torta de mamona, apresentando um custo total de R\$ 5,32/animal*dia. A torta tratada com 90 g de NaOH/1500 mL água por quilograma de torta de mamona foi a que apresentou maior quantidade de torta de mamona na dieta (30,05%), dentre as que

utilizaram o hidróxido de sódio como agente destoxicante, em que a mesma substituiu 47,21% do farelo de soja.

No que diz respeito ao custo máximo das diferentes tortas de mamona, para que seja viável o uso das mesmas nas formulações dos concentrados (Tabela 03), as tortas de mamona destoxificadas com 90 g de CaO foram as que apresentaram a possibilidade de um maior custo final de uso do kg de torta de mamona destoxificada: R\$ 0,87 e 0,82/kg MN, para as tortas destoxificadas com 3000 e 2500 mL de H₂O/kg de torta de mamona, respectivamente. A torta de mamona tratada com 90 g de CaO/3000 mL representou 21,17% do concentrado, substituindo o farelo de soja em 29,84%; apresentando um custo final do concentrado total de R\$ 6,21/animal*dia, com um custo de R\$ 1,13/kg MS do concentrado. No tocante à torta de mamona tratada com 90 g de CaO/2500 mL, a mesma representou 31,31% do concentrado, substituindo o farelo de soja em 43,60%; apresentando um custo final do concentrado total de R\$ 6,25/animal*dia, com um custo de R\$ 1,07/kg MS do concentrado.

No que diz respeito às dietas formuladas com as tortas de mamona tratadas com NaOH, a torta de mamona destoxificada que possibilitou o maior custo de utilização foi a torta de mamona destoxificada com 60 g de NaOH/2500 mL água por quilograma de torta de mamona (R\$ 0,75/kg MN), a qual apresentou um custo total do concentrado/animal*dia de R\$ 6,21, com um custo de R\$ 1,11/kg de MS do concentrado, representando um total de 18,67% de torta de mamona na ração concentrada, substituindo o farelo de soja em 29,53%.

A torta de mamona tratada com hidróxido de sódio que proporcionou um maior nível de substituição do farelo de soja, quando se adotou o custo máximo, foi a torta tratada com 90 g de NaOH/1500 mL de água por quilograma de torta de mamona (30,98%). A mesma adicionada em até 20,04% da dieta, apresentando um custo máximo da torta de mamona destoxificada de R\$ 0,71/kg, representando um custo do concentrado de R\$ 1,03/kg MS.

O processo de destoxificação das diferentes tortas de mamona agrega grande valor ao produto final. Observando-se as diferentes dietas formuladas, verificou-se que até R\$ 0,62 e 0,50/kg MN pode ser agregado a cada kg de torta de mamona destoxificada com 90 g de CaO/3000 mL de H₂O e 60 g de NaOH/2500 mL de H₂O, respectivamente, o que agregaria valor ao subproduto do biodiesel.

CONCLUSÕES

O tratamento químico com óxido de cálcio permite uma maior variação no preço de venda das tortas de mamona destoxificadas quando comparado ao tratamento que utiliza hidróxido de sódio, sendo necessários maiores estudos de destoxificação com esses produtos em escala industrial para verificar as despesas totais do processo de destoxificação.

As tortas de mamona tratadas com óxido de cálcio são as que permitem um maior nível de substituição do farelo de soja, sem influenciar na composição química da dieta e minimizando seu custo, sendo a torta de mamona tratada com 90 g de óxido de cálcio e 2500 mL de água por quilograma de torta de mamona a que permite o maior nível de substituição (82,02%) do farelo de soja, quando adquirida a R\$ 0,25/kg (preço como adubo), ou 43,60% de substituição, quando adquirida por R\$ 0,82/kg (preço como ingrediente para dietas totais).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODOI, A. R.; CARMO, C. A.; EDUARDO, J. L. P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, suplemento especial p.260-258, 2008.

ALCADE, C. R.; ZAMBOM, M. A.; BORGHI, E. L.; MACEDO, F. A. F.; PEREIRA, M. F.; GARCIA, J. Variação de custo e da receita de produção de leite de cabras Saanen, recebendo rações com diferentes relações de volumoso:concentrado. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 27, n. 4, p. 547-553, 2005.

BARBOSA, P. F.; PEDROSO, A. F.; NOVO, A. L. M.; RODRIGUES, A. A.; CAMARGO, A. C.; POTT, E. B.; SCHIFFLER, E. A.; AFONSO, E.; OLIVEIRA, M. C. S.; TUPY, O.; BARBOSA, R. T.; LIMA, V. M. B

Produção de Leite no Sudeste do Brasil. Embrapa Gado de Leite. Sistemas de Produção, 4. 2002.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; PEREIRA, O. G.; FERNANDES, F. E. P.; CECON, P. R.; AZEVÊDO, J. A. G. Fracionamento de proteínas de silagem de capim-elefante emurchecido ou com farelo de cacau. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 648-656. 2008.

COSTA, L. T.; SILVA, F. F.; VELOSO, C. M.; PIRES, A. J. V.; NETO, A. L. R.; MENDES, F. B. L.; RODRIGUES, E. S. O.; SILVA, V. L. Análise econômica da adição de níveis crescentes de concentrado em dietas para vacas leiteiras mestiças alimentadas com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.5, p.1155-1162, 2011

HOFER, E.; RAUBER, A. J.; DIESEL, A.; WAGNER, M. Gestão de Custos Aplicada ao Agronegócio: culturas temporárias. **Contabilidade Vista & Revista**, v. 17, n. 1, p. 18, 2006.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014. <http://cod.ibge.gov.br/2a14i>. Acessado em 12 de outubro de 2014.

MELO, W.C.; SILVA, D.B.; PEREIRA JR, N.; ANNA, L.M.M.; SANTOS, A.S. Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e avaliação da letalidade da torta hidrolisada para camundongos. **Química Nova**, Vol. 31, No. 5, 1104-1106, 2008.

NRC - **Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition, 2001**. The National Academies Press, 2001. ISBN 9780309069977. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=9825>.

OLIVEIRA, A. S.; CAMPOS, J. M. S.; OLIVEIRA, M. R. C.; BRITO, A. F.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; SOUZA, S. M.; MACHADO, O. L. T. Nutrient digestibility, nitrogen metabolism and hepatic function of sheep fed diets containing solvent or expeller castorseed meal treated with calcium hydroxide. **Animal Feed Science and Technology**, 158, p.15–28. 2010.

POMPEU, R. C. F. F.; CÂNDIDO, M. J. D.; PEREIRA, E. S.; BOMFIM, M. A. D.; CARNEIRO, M. S. D. S.; ROGÉRIO, M. C. P.; SOMBRA, W. A.; LOPES, M. N. Desempenho produtivo e características de carcaça de ovinos em confinamento alimentados com rações contendo torta de mamona destoxificada em substituição ao farelo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 726-733, 2012.

STELZER, F. S.; LANA, R. P.; CAMPOS, J. M. S.; MANCIO, A. B.; PEREIRA, J. C.; LIMA, J. G. Desempenho de vacas leiteiras recebendo concentrado em diferentes

níveis, associado ou não a própolis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1381-1389, 2009

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. New York: Cornell University Press, 1994. 476p.

ZAMBOM, M. A.; ALCADE, C. R.; MARTINS, E. N.; SANTOS, G. T.; MACEDO, F. A. F.; HORST, J. A.; VEIGA, D. R. Curva de lactação e qualidade do leite de cabras Saanen recebendo rações com diferentes relações volumoso:concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2515-2521, 2005 (supl.).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível destoxificar torta de mamona com o uso de produtos químicos alternativos, proporcionando a ausência completa de atividade de lectinas nas tortas de mamonas tratadas com produtos alcalinos, como o óxido de cálcio e o hidróxido de sódio, sendo as concentrações do reagente e o volume de água utilizados na mistura os fatores limitantes para uma completa inativação das lectinas.

O uso de tratamentos químicos alcalinos no processo de destoxificação da torta de mamona afeta diretamente o valor nutritivo da torta de mamona, diminuindo o mesmo e alterando as características das diferentes frações nitrogenadas do alimento. Dependendo do interesse do produtor em um alimento com um maior ou menor fornecimento de nitrogênio não proteico, poderá optar por um determinado processo de destoxificação.

Em termos econômicos, verifica-se que as tortas tratadas com óxido de cálcio permitem um maior preço de venda das mesmas em relação às tortas tratadas com hidróxido de sódio, proporcionando níveis de substituição do farelo de soja em até 82%, levando-se em consideração uma dieta de baixo custo, enquanto que tortas tratadas com hidróxido de sódio permitem uma substituição do farelo de soja de, no máximo, 47,21%.