UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ROSELI SENGLING LACERDA

**Caracterização química, bioquímica e físico-química da torta de mamona
para seu aproveitamento na produção de material biodegradável e na
alimentação animal**

Pirassununga
2013

ROSELI SENGLING LACERDA

**Caracterização química, bioquímica e físico-química da torta de mamona
para seu aproveitamento na produção de material biodegradável e na
alimentação animal**

(Versão corrigida)

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da Universidade de
São Paulo como parte dos requisitos para a
obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral

**Pirassununga
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

Lacerda, Roseli Sengling

L131c Caracterização química, bioquímica e físico-química
da torta de mamona para seu aproveitamento na produção
de material biodegradável e na alimentação animal /

Roseli Sengling Lacerda. -- Pirassununga, 2013.

209f.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.

DEDICO

Ao meu esposo Hudson e ao

meu filho João Paulo, pelo

amor e carinho nesta caminhada.

AOS MEUS PAIS COM MUITO AMOR
VOCÊS SÃO MUITO QUERIDOS POR NÓS.
UM DIA VOCÊS SE CONHECERAM, E DENTRO DE VOCÊS, SURTIU UM
IMENSO AMOR QUE DUROU PARA VIDA TODA.
E DESTE AMOR, NASCERAM SEUS SEIS FILHOS.
E, NÓS SEUS FILHOS, LHE DEMOS NETOS.
A VIDA PASSOU RAPIDAMENTE...
VI SEMPRE O EXEMPLO QUE VOCÊS DERMAM A NÓS E AS PESSOAS QUE
OS CERCAVAM.
VOCÊS PERMANECERAM UNIDOS QUANDO GOLPES FORTES PARECIAM
FAZER ESTREMECER A FÉ QUE TINHAM NO MUNDO, PRINCIPALMENTE
QUANDO DEUS LEVOU UMA DE SUAS FILHAS.
MAS O AMOR DE VOCÊS FOI EDIFICADO EM BASE FIRME E NÃO RUIU.
HOJE, VOCÊS ESTÃO COM DEUS, MAS CONTINUAM SENDO PARA NÓS,
UM EXEMPLO DE VIDA, AMOR E FÉ
E SÓ NOS RESTA A SAUDADES.
FIQUEM COM DEUS.

SUA FILHA ROSELI

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por todas as oportunidades que Ele tem me proporcionado, durante todos os dias de minha vida e por mais esta conquista.

Ao Professor Dr. Paulo José do Amaral Sobral pela orientação, dedicação, paciência, pelos ensinamentos e apoio nessa jornada.

À Professora Dra. Catarina Abdalla Gomide pela “co-orientação”, dedicação e pela valiosa colaboração durante todo este trabalho.

Às Professoras Dras. Rosemary Aparecida de Carvalho e Izabel Cristina Freitas de Moraes, pelo apoio, contribuições e incentivo nesta caminhada.

Aos Chefes do Departamento de Zootecnia (ZAZ/FZEA) pela liberação para que pudéssemos cumprir os créditos e pela realização das análises laboratoriais.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP) e à Comissão de Pós-Graduação da FZEA pela oportunidade para a realização deste curso e por contribuir com o enriquecimento da minha formação pessoal e profissional.

Aos funcionários e amigos de laboratório, Marcos e Priscila, pela amizade.

Aos funcionários e amigos da Secretaria do ZAZ, Estela, Delaine, Paulo e Reginaldo, pela colaboração, incentivo e amizade.

Aos estagiários Victor e Patrícia, pelos momentos de descontração, pela amizade e auxílio nas análises laboratoriais.

Aos amigos de laboratório Cunha, Roberta, Raphael, Rosilda e Vanessa pela valiosa colaboração, pelo incentivo, dedicação e compreensão, para que este trabalho pudesse ser realizado.

Às amigas Noemi e Gisele que muito me ajudaram para que este trabalho se concretizasse.

À amiga Ednelí pelas correções do trabalho.

À amiga Ana Mônica, que esteve comigo todos os dias nos momentos difíceis desta caminhada, pelos momentos de descontração, pelos momentos de desabafo e pelas correções finais do trabalho, a quem serei eternamente grata.

Aos funcionários da pós-graduação pelo bom trabalho e disponibilidade em estar sempre à disposição para me ajudar.

Aos funcionários da Biblioteca pela disponibilidade em estar sempre à disposição para nos ajudar.

Ao Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos – LQFPP da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro (UENF), Rio de Janeiro, em nome da Professora Dra. Olga Lima Tavares Machado, aos pós-graduandos Keysson Vieira Fernandes e Natália Deus de Oliveira pela realização das análises de alérgenos e toxinas.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica/Universidade de São Paulo (São Carlos), em nome do Professor Dr. Emanuel Carrilho e aos alunos de doutorado Flávio Pereira Picheli e Adriano Aquino, pela realização das análises de eletroforese de proteínas.

Aos amigos Simi Luiza e Fabio, pelos momentos de descontração e pela amizade.

Ao meu querido esposo Hudson e meu querido filho João Paulo, pela compreensão e pelos momentos felizes que proporcionam em minha vida.

Aos meus irmãos e sobrinhos, pelo incentivo, compreensão e apoio nesta longa caminhada.

À minha querida irmã Estela, que não mediu esforços, sempre pronta em me ajudar, em todos os momentos que mais precisei.

À FAPESP, pelo financiamento do projeto: Desenvolvimento de materiais biodegradáveis à base de proteína da torta de mamona, subproduto da cadeia agroindustrial do biodiesel (Proc. FAPESP 2008/11341-5).

Por fim agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho chegasse ao fim.

Muito obrigada a todos!!!!!!!!!!

O MUNDO ESTÁ NAS MÃOS
DAQUELES QUE TEM CORAGEM
DE SONHAR, E CORRER O RISCO DE
VIVER SEUS SONHOS. CADA QUAL USA SUA
CRIATIVIDADE E SEU TALENTO.

(Albert Schweitzer)

“FOI PELA SABEDORIA QUE O SENHOR
CRIOU A TERRA, FOI COM INTELIGÊNCIA
QUE ELE FORMOU OS CÉUS FOI PELA CIÊNCIA
QUE SE FENDERAM OS ABISMOS, POR ELE AS
NUVENS DESTILAM O ORVALHO”

(Provérbios)

Resumo

LACERDA, R.S. **Caracterização química, bioquímica e físico-química da torta da mamona para seu aproveitamento na produção de material biodegradável e na alimentação animal.** 2013, 209f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

Atualmente, há um grande incentivo governamental para a produção de biodiesel a partir de óleo de mamona. O aumento na fabricação desse óleo irá aumentar a produção de torta de mamona, que tem grande potencial de emprego na tecnologia de material biodegradável e utilização na alimentação animal, se destoxificada. Os objetivos desta tese foram a caracterização química da torta de mamona, a extração de suas proteínas para desenvolvimento de material biodegradável, e a caracterização do resíduo sólido do processo de extração, visando seu uso na alimentação animal. A extração das proteínas da torta de mamona foi feita por solubilização em meio alcalino. Inicialmente, diversos parâmetros (velocidade de agitação, concentração da torta na solução extratora e temperatura de extração) foram testados no intuito de aumentar o rendimento de extração das proteínas, utilizando-se NaOH (pH = 9). Em seguida, diversos experimentos foram realizados para se avaliar os efeitos do pH (8-12) e/ou do tipo de agente alcalino (NaOH, KOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$) na extração das proteínas da torta de mamona, sempre à temperatura de 50°C, velocidade de agitação de 400rpm, e concentração da torta na solução extratora de 20%. Os extratos proteicos obtidos foram liofilizados (EPL), e os resíduos foram desidratados em estufa (40°C/24 horas). Análises para determinação da composição bromatológica, minerais, amido, compostos fenólicos totais, ácidos graxos, aminoácidos, fibra dietética, da microestrutura, atividade alergênica, eletroforese dimensional e identificação de ricina foram feitas na matéria prima, nas proteínas extraídas e nos resíduos. A composição de aminoácidos foi analisada no extrato proteico liofilizado (EPL) e nos resíduos somente nas amostras preparadas com NaOH. A composição bromatológica das matérias primas (semente, torta e farelo) mostrou elevados teores de óleo (43,6%) e fibras (29,5%) para as sementes; bem como altos teores de proteína (36-40%) e fibras (29-30%) para a torta e o farelo de mamona. A semente de mamona apresentou valores de minerais considerados razoáveis para oleaginosas, e a torta de mamona apresentou alta proporção de K; Ca e P, importantes para alimentação animal. Verificou-se

alto teor de ácido ricinoléico (79-90%) nas matérias primas avaliadas. A torta de mamona apresentou altos teores de ácido glutâmico (15%), arginina (11%) e triptofano (9%), sendo que os teores dos outros aminoácidos variaram entre 2 e 7%. Os resultados da caracterização química dos EPL e dos resíduos foram dependentes principalmente do pH de extração das proteínas. Observou-se aumento da concentração de proteína (64-68%) e de cinzas (13-19%), nos EPL, em função do aumento do pH (10 – 12), independente do tipo de agente alcalinizante. Os resíduos obtidos da extração dos EPL apresentaram teores de proteína, cinzas e fibras variando entre 20 e 34%, 12 e 17% e 39 e 42%, respectivamente. Em relação ao perfil de minerais dos EPL, verificou-se aumento nas concentrações de Na e Mn com o aumento do pH para ambos agentes alcalinizantes. O perfil de minerais dos resíduos mostrou aumento significativo nos teores de Na e K com aumento do pH de extração, ajustado com NaOH e KOH, respectivamente. O teor de ácido ricinoléico foi menor no resíduo, e maior no EPL, obtidos em pH 12 ajustado com NaOH. A composição de aminoácidos dos resíduos sofreu efeito do pH apenas para o pH 12. Os aminoácidos presentes em maior concentração nos EPL e nos resíduos foram ácido glutâmico, triptofano e arginina. Os EPL e os resíduos obtidos da extração das proteínas apresentaram menor poder alergênico avaliado pelo teste de desgranulação de mastócitos obtidos do lavado peritoneal de ratos. O perfil eletroforético dos EPL e dos resíduos mostrou maior proporção de proteínas com massa molecular entre 29-36kDa, seguidos por proteínas de massa molecular ao redor de 20kDa e menor proporção de proteínas de massa molecular entre 45-66kDa. Não foi observada a presença da ricina nos resíduos obtidos em pH 12. Os resultados de todos os experimentos de extração das proteínas da torta de mamona permitiram escolher os melhores parâmetros de extração: temperatura = 50°C, velocidade de agitação = 400rpm, concentração da torta na solução extratora = 20%, pH = 12 e agente alcalinizante = NaOH. Em conclusão, o processo de extração de proteínas por solubilização alcalina permitiu a produção de concentrado proteico com características interessantes para a produção de material biodegradável (agricultura e biofilmes), e de resíduos ainda com alto teor de proteínas e de fibras, isento de ricina, podendo, portanto ser utilizado na alimentação animal.

Palavras chave: resíduo, proteína, destoxificação, tratamento alcalino, *Ricinus communis*

Abstract

LACERDA, R.S. **Chemical, biochemical and physical-chemical characterization of castor seed pulp for utilization as biodegradable material and as animal feed.** 2013, 209p. Thesis (PhD) – School of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2013.

Presently, there is large government incentive for biodiesel production from castor seed oil. The increase of this oil fabrication will raise the production of castor seed pulp, which has great potential for utilization for biodegradable material technology and for animal feed, if detoxified. The objectives of this research were the chemical characterization of the castor seed pulp, the extraction of the proteins for biodegradable material developing, and the characterization of the solid residue of the extraction process, aiming its use for animal feed. The protein extraction from the castor seed pulp was made through solubilization in alkaline medium. Initially, several parameters (stirring speed, pulp concentration in the extraction solution and extraction temperature) were tested aiming the optimization of the protein extraction yield, using NaOH (pH 9). Subsequently, several experiments were realized to evaluate the effects of pH (8-12) and/or of the type of alkaline agent (NaOH, KOH and CaOH) on the castor seed pulp protein extraction, always at 50 °C, 400rpm stirring speed, and 20 % pulp concentration in the extraction solution. The obtained protein extracts were lyophilized (EPL), and the residues were dehydrated in stove (40 °C/24 h). The raw material, the extracted proteins and the residues were analyzed for bromatologic composition, minerals, starch, total phenolic compounds, fatty acids, amino acids, dietetic fiber, microstructure, allergenic activity, dimensional electrophoresis and ricin identification. The amino acids composition was analyzed on the lyophilized extract (EPL) and in the residues of the samples prepared with NaOH. The bromatologic composition of the raw materials (seed, pulp and meal) showed high content of oil (43.6 %) and fiber (29.5 %) for the seeds; as well as high amounts of protein (36-40 %) and fiber (29-30 %) for the pulp and the castor seed meal. The castor seed had average mineral values for oil seeds, and the castor seed pulp showed high percentage of K, Ca and P, valuable for animal feed. The evaluated raw materials had high percentage of ricinoleic acid (79-90 %). The castor seed pulp showed high percentage of glutamic acid (15 %), arginine (11 %) and triptophane (9 %). The percentage of the other

amino acids varied between 2 and 7 %. The results of the chemical characterization of the EPL and of the residues were mainly dependent on the pH during protein extraction. It was observed an increase of the protein concentration (64-68 %) and of the ash (13-19 %), within the EPL, due to the pH raise (10 – 12), independently of the type of alkaline agent. The residues of the EPL extraction showed protein, ash and fiber content varying between 20 and 34%, 12 and 17% e 39 and 42%, respectively. Concerning the mineral profile of the EPL, an increase of Na and of Mn was observed with the increase of pH for both alkaline agents. The mineral profile of the residues showed a significant increase of the Na and the K content with the increase of the pH of the extraction solution, adjusted with NaOH and KOH, respectively. The ricinoleic acid content was lower in the residue, and higher in the EPL, obtained at pH 12 using NaOH. The amino acid composition of the residues was affected by the pH only at pH 12. The higher content of amino acid in the EPL and in the residues was of glutamic acid, triptophane and arginine. The EPL and the residues of the protein extraction showed low allergenic capacity evaluated by the mastocyte degranulation test obtained from the peritoneal wash of rats. The electrophoresis profile of the EPL and of the residues showed higher content of proteins with molecular weight varying between 29-36 kDa, followed by proteins with molecular weight around 20 kDa and lower proportion of proteins with molecular weight between 45 and 66 kDa. Ricin was not observed in the residues obtain at pH 12. The results of all the experiments of protein extraction of the castor seed pulp allowed to select the best extraction parameters: temperature = 50 °C, stirring speed = 400rpm, castor seed pulp concentration in the extraction solution = 20 %, pH = 12 and alkaline agent = NaOH. In conclusion, through the alkaline protein extraction process it was possible to achieve a protein concentrate with interesting properties for biodegradable material production (agriculture and biofilms), and of ricinless residues which still have high content of proteins and fiber that can be used for animal feed.

Keywords: residue, protein, detoxification, alkaline treatment, *Ricinus communis*

SUMÁRIO

Resumo	8
Abstract.....	10
Índice de Tabelas	15
Índice de Figuras	18
1. Introdução	21
2. Objetivos.....	23
3. Revisão bibliográfica.....	24
3.1. Mamona: Produção Mundial	24
3.2. Mamona: Óleo e Biodiesel	25
3.3. Torta de mamona	34
3.3.1. Subprodutos do biodiesel na alimentação animal.....	34
3.3.2. Componentes tóxicos da torta de mamona	47
3.3.3. Destoxificação da torta de mamona.....	55
3.4. Extrações de proteínas de tortas	58
4. Material e Métodos	60
4.1. Preparo das sementes de mamona	60
4.2. Preparo da torta de mamona	61
4.2.1. Análises bromatológicas da torta de mamona não fracionada (TMNF).....	64
4.3. Caracterização do farelo de mamona.....	65
4.4. Extração de proteínas da torta de mamona	65
4.4.1. Torta de mamona utilizada nas extrações de proteínas	65
4.5. Caracterizações da torta de mamona fracionada (TMF) utilizada na extração de proteína, do extrato de proteína liofilizada (EPL) e dos resíduos de extração da torta de mamona	71
4.5.1. Análises bromatológicas.....	71
4.5.2. Análises de amido e compostos fenólicos da torta de mamona	73
4.5.3. Análises de ácidos graxos.....	74
4.5.4. Análises de aminoácidos	74
4.5.5. Análises de fibras alimentares.....	75
4.5.6. Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	76

4.5.7. Detecção da atividade tóxica e avaliação da atividade alergênica	76
4.5.7.1. Avaliação da atividade alergênica	77
4.5.7.2. Extração da Ricina e análise por eletroforese em gel com dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE).....	79
4.5.8. Análise da fração proteica por eletroforese em gel	80
4.5.9. Análise de eletroforese por fluorescência induzida a laser (LIF).....	82
4.6. Análises estatísticas.....	83
5. Resultados e Discussões	84
5.1. Caracterização química da matéria prima	84
5.1.1. Caracterização bromatológica das sementes de mamona.....	84
5.1.2. Composição dos teores de ácidos graxos da semente de mamona	88
5.1.3. Teores de fibras alimentares da semente de mamona.....	89
5.1.4. Microscopia eletrônica de varredura da semente de mamona (MEV)	91
5.2. Extração de proteínas da torta de mamona	95
5.2.1. Caracterização granulométrica da torta de mamona moída.....	95
5.2.2. Composição química das tortas de mamona não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF).....	98
5.2.3. Composição de minerais da torta não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF)	103
5.2.4. Teores de amido e compostos fenólicos totais da torta de mamona fracionada (TMF)	105
5.2.5. Composição em ácidos graxos da torta de mamona fracionada (TMF)	106
5.2.6. Perfil de Aminoácidos da torta de mamona fracionada (TMF).....	108
5.2.7. Teores de fibras alimentares da torta de mamona fracionada (TMF).....	111
5.2.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da torta de mamona fracionada (TMF)	112
5.3. Caracterização bromatológica do farelo de mamona	115
5.4. Extração de proteína da torta de mamona	119
5.4.1. Estudos para definição dos parâmetros dos processos de extração	119
5.4.2. Estudo do efeito de tipo do agente alcalinizante no processo de extração das proteínas, em pH 9.....	123

5.4.3. Estudo do efeito de pH sobre o processo de extração de proteína utilizando solução de NaOH	124
5.4.4. Estudo do efeito de agente (KOH e NaOH) e de pH (10, 11 e 12) no processo de extração de proteínas	131
5.4.4.1. Caracterização bromatológica dos extratos de proteína liofilizados (EPL) e dos resíduos obtidos	131
5.4.4.2. Composições de macro e microminerais dos EPL e dos resíduos.....	141
5.4.4.3. Composição dos teores de amido e compostos fenólicos dos extratos proteicos liofilizados (EPL) e dos resíduos	146
5.4.4.4. Composição dos teores de ácidos graxos dos extratos proteicos liofilizados (EPL) e dos resíduos de extração	149
5.4.4.5. Perfil de aminoácidos dos extratos proteicos liofilizados (EPL) e dos resíduos de extração.....	152
5.4.4.6. Teores de fibras alimentares do resíduo da extração da proteína da torta de mamona fracionada.....	158
5.4.4.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da proteína extraída da torta de mamona em KOH e NaOH em pH 11 e 12	160
5.4.4.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do resíduo de extração da proteína com KOH e NaOH em pH 11 e 12.....	166
5.5. Ensaio de alergenicidade	172
5.5.1. Detecção da ricina por eletroforese.....	175
6. Conclusões.....	183
7. Referências Bibliográficas.....	185

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição bromatológica da torta de mamona	37
Tabela 2: Composição bromatológica de algumas tortas	38
Tabela 3: Poder fertilizante de alguns adubos vegetais (kg/ton)	39
Tabela 4: Teor de aminoácidos de algumas tortas.....	42
Tabela 5: Classificação dos co-produtos da indústria do biodiesel que apresentam potencial de utilização na alimentação de ruminantes	46
Tabela 6: Composição em aminoácidos na torta de mamona destoxicada.....	51
Tabela 7: Composição de aminoácidos da fração C B-1A da torta de mamona	54
Tabela 8: Tratamentos físicos na torta de mamona para remoção da ricina.....	56
Tabela 9: Tratamentos químicos na torta de mamona para remoção da ricina	57
Tabela 10: Composição bromatológica da semente de mamona.....	86
Tabela 11: Composição de ácidos graxos da semente de mamona e pinhão-manso.....	89
Tabela 12: Teores de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel da semente de mamona	90
Tabela 13: Composição elementar encontrada em Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) na semente de mamona.....	95
Tabela 14: Granulometria da torta de mamona	96
Tabela 15: Composição bromatológica das frações da torta de mamona.....	97
Tabela 16: Composição centesimal da torta de mamona não fracionada (TMNF) e fracionada (TMF)	100
Tabela 17: Composição de macro e microminerais da torta de mamona não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF)	104
Tabela 18: Composição dos teores de ácidos graxos da torta de mamona fracionada (TMF)	107
Tabela 19: Perfil de aminoácidos da torta de mamona fracionada (TMF) e farelo de pinhão-manso destoxificado (FPMD) ¹	110
Tabela 20: Teores de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel da torta de mamona fracionada (TMF).	111
Tabela 21: Resultados dos elementos químicos encontrados em Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) da torta de mamona fracionada	115

Tabela 22: Composição bromatológica do farelo de mamona e farelo de soja.....	117
Tabela 23: Composição de macro e microminerais do farelo de mamona.....	118
Tabela 24: Composição centesimal da torta de mamona desengordurada.	120
Tabela 25: Composição das soluções proteicas obtidas por extração em pH 9 em diferentes condições de processamento.....	122
Tabela 26: Resultados de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e dos rendimentos de proteína dos extratos protéicos obtidos com diferentes agentes alcalinizantes	124
Tabela 27: Composição de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) dos extratos proteicos liofilizado (EPL) obtidos em diferentes condições de pH.	127
Tabela 28: Composição de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) dos resíduos obtidos após extração de proteína da torta de mamona em diferentes condições de pH.	128
Tabela 29: Composição do resíduo obtido após extração de proteína da torta de mamona e porcentagem de proteína retida no resíduo em diferentes condições de processamento.	130
Tabela 30: Composição bromatológica dos extratos de proteína liofilizado (EPL) da torta de mamona obtidos com os agentes alcalinos KOH e NaOH nos pH (10, 11 e 12)	132
Tabela 31 (continua): Composição bromatológica do resíduo da extração de proteína da torta de mamona em diferentes pH.	137
Tabela 32: Teores de macrominerais dos EPL extraídos da torta de mamona.....	142
Tabela 33: Teores de microminerais dos EPL extraídos da torta de mamona	143
Tabela 34: Composição de macrominerais dos resíduos da extração de proteína da torta de mamona	144
Tabela 35: Composição de microminerais dos resíduos da extração de proteína da torta de mamona	145
Tabela 36: Composição dos teores de amido e fenólicos dos EPL em diferentes pH.....	147
Tabela 37: Composição dos teores de amido e fenólicos dos resíduos extraídos em diferentes pH	148
Tabela 38: Composição dos teores de ácidos graxos dos EPL da torta de mamona	150
Tabela 39: Composição dos teores de ácidos graxos de resíduos extraídos da torta de mamona.	151
Tabela 40: Perfil de aminoácidos dos EPL da torta de mamona em diferentes pH.	154
Tabela 41: Perfil de aminoácidos dos resíduos gerados durante a extração de proteínas da torta de mamona em NaOH em diferentes pH.	156

Tabela 42: Teores de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em diferentes pH.....	159
Tabela 43: Resultados dos elementos químicos por Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína extraída da torta de mamona em KOH pH 12.	164
Tabela 44: Resultados dos elementos químicos por Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína extraída da torta de mamona em NaOH pH 12	165
Tabela 45: Resultados dos elementos químicos por Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 12	170
Tabela 46: Resultados dos elementos químicos em Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12	172
Tabela 47: Percentagem de células íntegras e desgranuladas na torta de mamona, resíduo e extrato da proteína de extração da torta de mamona com NaOH em diferentes pH.	173

Índice de Figuras

Figura 1: Produção Brasileira de mamona em bagas – Participação % (média) por UF – Safra 2011/2012	25
Figura 2: (a) Pé de mamoneira e seus frutos; (b) Sementes de mamona.....	26
Figura 3: Estrutura da semente de mamona.....	27
Figura 4: Estrutura molecular do componente principal do óleo de rícino: ácido ricinoléico. 28	
Figura 5: Produtos derivados do óleo de mamona	29
Figura 6: Fluxograma do processo de extração do óleo de mamona.....	31
Figura 7: Fluxograma do processo de produção de Biodiesel.....	32
Figura 8: Reação de transesterificação	33
Figura 9: Estimativa de produção de biodiesel para 2013.....	35
Figura 10: Estimativa para produção de biodiesel em 2012/ Participação de oleaginosas na produção de biodiesel/ Participação da cultura na produção de óleo nacional / Geração de resíduos.....	36
Figura 11: (A) Estrutura tridimensional da ricina: em verde, a cadeia B; em vermelho, as α -hélices da cadeia A; em laranja, as folhas- β da cadeia A; em cinza, as alças da cadeia A. (B) estrutura tridimensional da ricina: acima da cadeia A; abaixo a cadeia B; em vermelho, as galactoses; em verde, as pontes dissulfeto, (C) estrutura molecular da ricinina.....	49
Figura 12: Sementes de mamona cedida pela empresa A. Azevedo Óleos Indústria e Comércio de Óleos Ltda. (Itupeva/SP).	61
Figura 13: Torta de mamona cedida pela empresa A. Azevedo Óleos Indústria e Comércio de Óleos Ltda. (Itupeva/SP).	62
Figura 14: Moinho de rotor termostatizado (Marconi, MA-090CFT, Piracicaba/SP).	62
Figura 15: Torta de mamona após a moagem denominada de torta de mamona não fracionada (TMNF).....	63
Figura 16: Fluxograma do processo de extração da proteína e do resíduo de extração.	66
Figura 17: Ensaio de extração de proteínas da torta de mamona em becker.....	67
Figura 18: Centrífuga refrigerada contendo os frascos a serem centrifugados.	68
Figura 19: Recipientes contendo as soluções proteicas após centrifugação, contendo as duas fases (sobrenadante e resíduo).....	68
Figura 20: Liofilizador com os extratos protéicos.....	69

Figura 21: Resíduos de extração da proteína da torta de mamona moída.	71
Figura 22: Microscópio eletrônico de varredura (MEV).....	76
Figura 23: Aplicação das amostras (a) e desenvolvimento da eletroforese (b).....	81
Figura 24: Gel da eletroforese após coloração (a) e após descoloração (b).	82
Figura 25: (a) Aparelho Bioanalyzer (fluorescência induzida a laser - LIF); (b) chip utilizado no aparelho; (c) seringa de injeção para o chip.	83
Figura 26: Sementes de mamona obtidas de “A. Azevedo Indústria e Com. de Óleos Ltda.(Itupeva/SP)”: (a) sementes inteiras, (b) sementes trituradas.	84
Figura 27: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da semente de mamona: P (proteína) e L (lipídios) com aumento de 500x (a) e de 1000x (b).	93
Figura 28: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) da semente de mamona (L – lipídeos; P – Proteína; PC –parede celular e EM – embrião)	94
Figura 29: Espectro por Energia Dispersiva da semente de mamona	94
Figura 30: Distribuição das proteínas nas frações granulométricas da torta de mamona.....	98
Figura 31: Microscopia Eletrônica de Varredura da torta de mamona fracionada (1000x): lipídios (L) e proteína (P)	113
Figura 32: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva da torta de mamona fracionada (TMF); embrião (EM); proteína (P); lipídios (L) e fibras (F)	114
Figura 33: Espectroscopia por Energia Dispersiva da torta de mamona fracionada.....	115
Figura 34: Soluções protéicas obtidas em pH = 8, 9, 10 e 11, com NaOH.	125
Figura 35: Consumo de solução de NaOH (mL) em relação à porcentagem de proteína extraída em diferentes condições de pH.	126
Figura 36: Microscopia eletrônica de varredura da proteína extraída da torta de mamona em KOH pH 11 e pH 12 (1000x e 800x).	161
Figura 37: Microscopia eletrônica de varredura da proteína extraída da torta de mamona em NaOH pH 11 (800x) e pH 12 (800x e 500x).	162
Figura 38: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.....	163
Figura 39: Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.	163
Figura 40: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.	164
Figura 41: Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.	165

Figura 42: Microscopia eletrônica de varredura do resíduo da extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 11 e pH 12 (800x e 1000x).....	167
Figura 43: Microscopia eletrônica de varredura do resíduo da extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 11 (500 e 800x) e pH 12 (600x e 1000x).....	168
Figura 44: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.	169
Figura 45: Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.	169
Figura 46: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.	171
Figura 47: Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.	171
Figura 48: Resultados da análise de eletroforese para avaliação da semente de mamona e torta de mamona para verificar a presença das subunidades A e B (A com 35 KDa e B com 29 KDa)	176
Figura 49: Resultado das análises de detecção da proteína ricina da semente de mamona (a) e da torta de mamona (b) obtida por meio de fluorescência induzida a laser para identificação da ricina.	176
Figura 50: Gel de eletroforese a 12% de poliacrilamida	177
Figura 51: Resultados da análise de eletroforese (SDS-PAGE) das amostras obtidas da extração das proteínas da torta de mamona: extrato protéico tratado com NaOH pH 10; extrato protéico tratado com NaOH pH 11; extrato protéico tratado com NaOH pH 12; torta de mamona	178
Figura 52: Resultado da análise de eletroforese (SDS – PAGE) para avaliação da eficácia do tratamento do resíduo de extração da proteína da torta de mamona com agente alcalinizante KOH pH 10, 11 e 12 das subunidades A e B (A com 35 KDa e B com 29 KDa)	179
Figura 53: Resultado das análises de detecção da proteína ricina dos resíduos de extração da proteína da torta de mamona com agente alcalinizante KOH em pH 10 (a), 11 (b) e 12 (c) obtida por meio de fluorescência induzida a laser para identificação da ricina	180
Figura 54: Resultados das análises de eletroforese (SDS – PAGE) para avaliação da eficácia do tratamento do resíduo de extração da proteína da torta de mamona com agente alcalinizante NaOH pH 10, 11 e 12 das subunidades A e B (A com 35 KDa e B com 29 KDa)	181
Figura 55: Resultado das análises de detecção da proteína ricina dos resíduos extração da proteína da torta de mamona com agente alcalinizante NaOH em pH 10 (a), 11 (b) e 12 (c) obtida por meio de fluorescência induzida a laser (LIF)	181

1. Introdução

No Brasil, a principal matéria prima para a produção de óleo é a soja, responsável por mais de 70% do biodiesel produzido no país (BRASIL, 2009). Nesse sentido, há uma busca por novas oleaginosas que produzam óleos não comestíveis, para a produção de biodiesel dentro das normas internacionais de qualidade, com destaque para a mamona.

A partir de 2004, com a intensificação das pesquisas na transformação de óleos vegetais e animais em biodiesel e o lançamento do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNBP) pelo Governo Federal, a mamona começou a ser altamente cotada como uma das matérias primas de onde se extrai o óleo para produção de biodiesel, pois além de ser uma das espécies com maior teor de óleo, é cultura de grande apelo social, pelo emprego intensivo de mão-de-obra no campo e por permitir o consórcio com outras culturas, como feijão, amendoim ou milho (BELTRÃO; MELO, 2002; MADAIL; BELARMINO; NEUTZLING, 2007). Além disso, o cultivo da mamona é incentivado em regiões de baixa disponibilidade hídrica e está sendo melhorada geneticamente para a produção de biocombustível (SILVA; FREITAS, 2008). Em termos de potencial, o Nordeste pode produzir aproximadamente seis milhões de toneladas de torta (ÁVILA FILHO et al., 2006).

A semente de mamona é constituída, em média, por 75% de amêndoa e 25% de casca, (COSTA et al., 2004a). Sua composição química muda de acordo com a variedade e região de cultivo. O teor de óleo nas sementes situa, entre 25 e 55%. Assim, o óleo é o principal produto industrializado da mamona, sendo, portanto, excelente matéria prima da agroindústria do biodiesel. Um hectare de mamoneira pode gerar até 750 kg de óleo, podendo resultar em 800 litros de biodiesel (LEAL, 2007).

A produção de biodiesel, incluindo a extração do óleo da mamona, produz como subprodutos, a torta de mamona, que é rica em nitrogênio, fósforo e potássio e que pode ser utilizada na recuperação de solos desgastados (COSTA et al., 2004b). Assim, uma valorização desse subproduto poderia contribuir para a cadeia de produção do biodiesel como um todo, agregando valor via produção de material biodegradável e de alimentação animal com alto teor de proteína.

Levando em consideração a adição de 5% de biodiesel ao diesel no início de 2010, e se este percentual continuar a se manter até 2013, apesar de que os percentuais de mistura tem se antecipado aos prazos previstos na Lei, a redução na importação de diesel será ainda mais expressiva, o que vai demandar a produção de bilhões de litros de biodiesel nos anos seguintes e conseqüentemente aumentará a produção de resíduos, o que irá exigir um destino adequado para todo este resíduo produzido (GENTIL; SERRA; CASTRO, 2012).

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi extrair a proteína da torta de mamona para desenvolvimento de material biodegradável e aproveitamento do resíduo sólido desse processo de extração, visando-se a alimentação animal.

Os objetivos implicaram em:

- a) Caracterizar quimicamente da torta da mamona obtida após a prensagem e esgotamento com solvente, com principal interesse na quantidade e qualidade das proteínas dessas tortas;
- b) Conhecer o restante da composição química que é importante para a avaliação do uso posterior dos resíduos gerados e;
- c) Estudar, em escala laboratorial, o processo de extração das proteínas da torta de mamona, com especial interesse no rendimento e na qualidade das proteínas extraídas.
- d) Caracterizar quimicamente o resíduo do processo de extração de proteínas para verificação de seu potencial de uso na alimentação animal.

A hipótese envolvida nesta tese é que o processo de extração das proteínas da torta de mamona por meio de solubilização alcalina pode ser tratamento eficaz na destoxificação dos componentes tóxicos (ricina, ricinina e compostos alergênicos) presentes nos co-produtos de extração do óleo de mamona, para verificação de seu potencial de uso na alimentação animal.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Mamona: Produção Mundial

A produção mundial de oleaginosas é uma atividade econômica importante que envolve várias empresas em extensas cadeias alimentares. A maior área potencialmente agricultável do mundo é o Brasil, que possui quase duzentas espécies de plantas oleaginosas e palmáceas prontas para produção de óleo para biodiesel, sendo destaque a soja, amendoim, girassol, gergelim, nabo-forrageiro, mamona, dendê, macaúba e pinhão-manso entre outras (BELTRÃO; CARTAXO, 2006).

A produção de mamona no Brasil na safra de 2008/2009 foi de 92,5 mil toneladas. Na safra de 2009/2010, a colheita dessa matéria-prima em baga foi superior ao ciclo anterior (2008/2009), com uma produção de 174,1 mil toneladas conforme dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2010). A produção concentra-se principalmente na região do nordeste (Figura 1), que é responsável por cerca de 90% da produção nacional (CONAB, 2010).

Figura 1: Produção Brasileira de mamona em bagas – Participação % (média) por UF – Safra 2011/2012. Fonte: CONAB (2011)

Segundo dados divulgados pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), a safra mundial em 2011/12 poderá ser de 1,665 milhão de toneladas, representando um acréscimo de 1,7% comparado à safra de 2010/11. O crescimento da produção de mamona da Índia foi estimado em 3,1%, confirmando ser o maior produtor mundial, seguido da China, que diminuiu sua área em 3,8%. O Brasil deverá produzir entre 135,0 e 138,2 mil toneladas, representando uma redução de 3,3%, em relação à safra passada (CONAB, 2011).

3.2. Mamona: Óleo e Biodiesel

A mamona (*Ricinus communis* L.) tem sido cultivada desde a antiguidade, não apenas como um ornamento de jardim pela sua folhagem e flores, mas também porque suas sementes foram utilizadas como planta medicinal (Figura 2).

Figura 2: (a) Pé de mamoneira e seus frutos. Fonte: Scholz e Silva (2008); (b) Sementes de mamona. Fonte: BBC Brasil (2003).

A mamona é uma das culturas mais tradicionais cultivadas na região semi-árida do Brasil, com relevância econômica e social. A mamona tem várias aplicações industriais como: óleo na indústria de cosméticos, lubrificante na indústria automotiva para motores de alta velocidade e disponíveis para produção de biodiesel.

A mamona é uma matéria prima promissora para produção de biodiesel e pesquisadores brasileiros têm focado suas pesquisas no desenvolvimento de processo para produção de biodiesel a partir da mamona (GUTARRA et al., 2005).

A semente de mamona (Figura 3) tem dormência fisiológica, ou seja, fatores fisiológicos úteis para a preservação da planta que podem deixar o embrião em estado latente, impedindo seu crescimento (SEED BIOLOGY PLACE, 2000). As sementes da mamoneira são dicotiledôneas endospermicas (Figura 3), constituídas pela casca, um tecido de reserva energética intermediária chamada endosperma, e o embrião, composto por dois cotilédones. Os cotilédones são finos e extensos e o endosperma é o maior tecido de armazenamento (SEED BIOLOGY PLACE, 2000).

A semente de mamona pode ser conhecida como "higuerilla", "ricina" ou "mamona" (ALI; ELFEKY; ABBAS, 2008; SCHOLZ; SILVA, 2008). É uma espécie considerada venenosa para seres humanos e animais, por conter a ricina, que é uma proteína com atividade citotóxica, que inibe a síntese protéica em níveis de ribossomos (BRADBERRY, 2007; PITA; ANADÓN; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, 2004).

A maior parte dos cultivares de mamona plantadas no Brasil possuem teor de óleo variando entre 45% e 50% (FREIRE; SEVERINO; MACHADO, 2006), em geral o teor de óleo das sementes de mamona pode variar de 35 a 60% (DRUMMOND et al., 2006; WANG et al., 2011). A extração do óleo é realizada pela prensagem das sementes da mamona.

Figura 3: Estrutura da semente de mamona. Fonte: Seed Biology Place (2000).

O óleo de mamona, ou óleo de rícino, é caracterizado pela sua biodegradabilidade, alta viscosidade e aderência até mesmo em altas temperaturas (SAVY FILHO, 1999; CONCEIÇÃO et al., 2007), fatores este importante para o funcionamento de motores.

O óleo de mamona tem uma demanda mundial/ano, que é estimada em cerca de 220.000 toneladas (BABITA et al., 2010). Quando comparado à maioria dos óleos vegetais possui características atípicas (CANGEMI; SANTOS; CLARO NETO, 2010). A diferença principal está em sua composição química, pois, o óleo de mamona é composto por uma concentração elevada de ácido ricinoléico (Figura 4) (SCHOLZ; SILVA, 2008). Esse ácido apresenta uma estrutura química particular onde estão presentes três grupos funcionais altamente reativos, permitindo que o óleo seja submetido a diversos processos químicos que acarretam em uma gama de diversos produtos (CANGEMI; SANTOS; CLARO NETO, 2010).

Figura 4: Estrutura molecular do componente principal do óleo de rícino: ácido ricinoléico. Fonte: Scholz e Silva (2008).

O ácido ricinoléico tem múltiplas aplicações, não alimentares, na produção de diferentes produtos (Figura 5) (CHEN et al., 2007; OGUNNIYI, 2006).

Figura 5: Produtos derivados do óleo de mamona. Fonte: Savy Filho (2005).

O óleo extraído a partir das sementes da mamona representa boa alternativa para produção de biodiesel, pois não irá competir com as culturas alimentares, podendo tornar-se cultura rentável e sustentável em áreas não utilizadas para a produção de alimentos em todos os países com climas tropicais e subtropicais (BALAT, 2011).

A extração do óleo da semente de mamona completa (sem descascar) ou da amêndoa (baga, semente descascada por meio de máquinas apropriadas) pode ser feita por prensagem a frio ou a quente, ou com o emprego de solventes (COSTA et al., 2004) (Figura 6). A prensagem a frio fornece óleo de elevada pureza, muito utilizado para fins medicinais, enquanto a prensagem das bagas a quente fornece um óleo menos puro, que geralmente é passado por processo de purificação para a remoção de substâncias corantes. A extração com solvente, como o hexano, é normalmente aplicada às tortas residuais de prensagem para esgotamento do produto (COSTA et al., 2004a; DRUMMOND et al., 2006).

Beerens (2007) argumenta que umidade inicial elevada nos grãos reduz a eficiência de extração do óleo, pois, eleva a capacidade de deformação do material (o que reduz a ruptura), além de aumentar a emulsificação e plasticidade da massa, que reduz a sua viscosidade e facilitam a passagem pela prensa.

Figura 6: Fluxograma do processo de extração do óleo de mamona. Fonte: Freire, Severino e Machado (2006).

Pode-se observar no diagrama apresentado na Figura 7, que após a primeira extração (mecânica) obtém-se a torta como resíduo, e após a segunda extração (por solventes), obtém-se o farelo como resíduo. O óleo assim produzido é utilizado na produção de biodiesel (Figura 8).

Figura 7: Fluxograma do processo de produção de Biodiesel. Fonte: adaptado de Silva e Freitas (2008).

O biodiesel é um combustível similar ao diesel obtido do petróleo e, teoricamente, pode ser produzido a partir de qualquer óleo de origem animal ou vegetal, inclusive sebos, banha, gordura de esgoto, óleo de fritura, etc. Entretanto, ele é prioritariamente produzido a partir de óleos vegetais, pois é a única matéria prima encontrada em quantidade suficiente e preço adequado. O biodiesel é produzido por transesterificação (Figura 8), que consiste na reação de um triglicerídeo com um álcool (metanol), utilizando-se substância alcalina como catalisador, formando ésteres e glicerol (LEUNG; WU; LEUNG, 2010). A transesterificação não é a única rota para produção de biodiesel, mas é a mais utilizada em todo o mundo. A reação de transesterificação gera dois produtos: o biodiesel e a glicerina, e um sub-produto que é a torta de mamona.

Figura 8: Reação de transesterificação. Fonte: Leung, Wu e Leung (2010)

O álcool utilizado na produção de biodiesel pode ser o metanol ou o etanol, de acordo com a disponibilidade. O álcool mais empregado, em termos internacionais, é o metanol, mas no Brasil, o biodiesel está sendo produzido prioritariamente utilizando-se o etanol, por motivos óbvios, isto é, devido à grande produção de etanol no país, e também porque o

metanol é um derivado do petróleo, e dessa forma o biodiesel não seria de fonte 100% renovável (ALMEIDA et al., 2006).

Ainda, consegue-se obter para cada 100 litros de biodiesel, 10 ou 15 litros de glicerina, utilizando-se metanol ou etanol, respectivamente. A glicerina é uma substância de baixo peso molecular largamente empregada como matéria-prima para a indústria farmacêutica e de cosméticos (ALMEIDA et al., 2006; ANANDAN et al., 2005; OGUNNIYI, 2006; SEVERINO, 2005), mas que não pode ser utilizada como combustível devido à produção de uma substância tóxica, a acroleína, na sua queima (ALMEIDA et al., 2006).

3.3. Torta de mamona

3.3.1. Subprodutos do biodiesel na alimentação animal

Considerando a necessidade da adição de 5% de biodiesel ao diesel no início de 2010, o Brasil teve uma demanda de 2,2 a 2,4 bilhões de litros de biodiesel. Se este percentual se mantiver até 2013, haverá uma demanda prevista de 2,8 bilhões de litros (Figura 9) (GOES; ARAUJO; MARRA, 2009). Com o aumento desta proporção, aumentará a demanda de óleos vegetais, o que acarretará em grande quantidade de resíduos (Figura 10).

Figura 9: Estimativa de produção de biodiesel para 2013. Fonte: Adaptado EPE (2011).

A quantidade de resíduo gerado pela mamona (*Ricinus communis L.*) é bastante significativa, incluindo o descarte da casca das bagas e a torta de mamona. Segundo Rangel, Peres e Castelletti (2004), a existência e o destino destes resíduos devem ser levados em consideração como importante etapa do processo de extração de óleo para o biodiesel em relação às indústrias de beneficiamento destes produtos, pois, as legislações ambientais tem sido cada vez mais rigorosa em relação ao destino destes resíduos.

No Brasil, grande quantidade de coprodutos da agricultura e da agroindústria tem potencial para uso na alimentação de animais, como os oriundos da cadeia do biodiesel (tortas e farelos) (VAN CLEEF, 2008), que podem ser empregados como fontes de nutrientes para animais por serem prontamente degradados no rúmen (KRISHNA, 1985).

Figura 10: Estimativa para produção de biodiesel em 2012/ Participação de oleaginosas na produção de biodiesel/ Participação da cultura na produção de óleo nacional/Geração de resíduos na cultura. Fonte: Adaptado da ANP (2009).

Anualmente milhares de toneladas de torta ou farelo de mamona são produzidos como coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel. Um percentual significativo deste resíduo sólido é composto por amido, fonte potencial de açúcares que podem ser transformados em etanol através de processo fermentativo convencional (MACEDO et al., 2009). Adicionalmente, esta cultura cria grande oportunidade para produtores de animais, através do fornecimento da torta e farinha de mamona.

Embora pesquisas realizadas em vários países forneçam algumas informações sobre a torta de mamona como alimento animal, e sobre o método de destoxicação da ricina encontrado no farelo mamona, são necessárias mais pesquisas para entender suas propriedades nutricionais, para que possam ser utilizados na alimentação animal (ALBIN;

DAVIS; ZINN, 1969; SANTANA; CALDAS; ARAÚJO, 1971; BANDEIRA et al., 2004; SEVERINO, 2005; ANANDAN et al., 2005; OLIVEIRA, 2008).

A torta de mamona é um produto com elevado teor de proteínas (Tabela 1), produzida na proporção de 1,2 toneladas para cada tonelada de óleo extraído (SEVERINO, 2005). Apesar disso, ela não tem sido utilizada como alimento animal, devido à presença de toxinas (ricina e ricinina) e alergênico (CB-1A, castor bean allergen-1) (COSTA et al., 2004a).

Tabela 1: Composição bromatológica da torta de mamona.

Fração	Teor ¹ (%)	Teor ² (%)	Teor ³ (%)	Teor ⁴ (%)
Matéria-seca	91,50	91,17	92,52	93,3
Umidade	8,50	8,13	7,48	6,7
Proteína bruta	42,50	28,74	41,50	36,5
Fibra bruta	20,04	_____	32,84	_____
Extrato etéreo	4,23	13,10	2,62	2,62
Cinzas	_____	12,11	7,65	9,96
Carboidratos	_____	_____	_____	44,9
Extrato não nitrogenado	_____	_____	7,91	_____
Cálcio	0,68	_____	_____	_____
Fósforo	0,78	3,00	_____	_____
Potássio	_____	0,96	_____	_____
Nitrogênio	_____	4,60	_____	_____

Fonte: ¹ Severino (2005), ² Costa et al. (2004a), ³ Beltrão (2002) e ⁴ Ascheri et al. (2007).

Devido ao seu alto valor nutricional, a torta tem grande potencial para ser utilizada na alimentação animal, por isso, muitos processos de inativação da toxidade e dos alergênicos estão sendo desenvolvidos para tornar a torta apropriada ao uso em rações animais. Segundo Tokarnia e Döbereiner (1997), uma vez destoxicada, este resíduo pode ser direcionado para

uso rotineiro na alimentação de ruminantes e de outras criações como a piscicultura e avicultura.

A transformação da torta de mamona em um produto atóxico que possa ser usado para alimentação animal despertou a atenção de diversos pesquisadores no mundo, tendo-se obtido alguns resultados satisfatórios (GARDNER et al., 1960; CÂNDIDO et al., 2008; VIEIRA et al., 2011), porém algumas técnicas ainda necessitam de desenvolvimento para que o produto possa se tornar economicamente viável.

A torta de mamona, devido ao seu elevado teor de fibras e alto valor protéico, pode ser considerada uma torta de boa qualidade para substituir a torta de algodão e amendoim (Tabela 2) bem como em substituição ao farelo de soja; porém de acordo com Severino (2005), o teor de aminoácidos lisina e triptofano é menor na torta de mamona que na torta de soja, fazendo com que a torta de mamona não possa ser utilizada como única fonte protéica na alimentação de animais monogástricos (cavalo, suíno, aves, peixes). Portanto, é necessário verificar a disponibilidade de aminoácidos para cada espécie animal.

Tabela 2: Composição bromatológica de algumas tortas.

	Algodão	Amendoim	Mamona
Umidade	10,46	10,35	7,48
Proteína	37,91	50,87	41,50
Gordura	1,44	1,39	2,62
Fibra	16,60	9,36	32,84
Matéria mineral	9,82	5,19	7,65
Ext. não nitrogenado	23,77	22,84	7,91

Fonte: Assis et al. (1962).

A torta residual da extração do óleo de mamona é usada principalmente como adubo orgânico, sendo excelente fertilizante, devido ao seu teor de carbono e solubilidade intermediária de nitrogênio. As indústrias processadoras preferem comercializar a torta como fertilizante orgânico para o solo, devido ao alto custo do processo de destoxificação (SEVERINO, 2005).

Além da torta de mamona ser excelente fonte de nitrogênio, de liberação não tão rápida quanto à de fertilizantes químicos, mas nem tão lenta quanto à de esterco animal. Alguns estudos têm demonstrado a velocidade com que a torta de mamona se mineraliza, disponibilizando seus nutrientes. Severino et al. (2004) demonstraram que a velocidade de mineralização da torta de mamona, medida pela respiração microbiana, é cerca de seis vezes mais rápida que a de esterco bovino e quatorze vezes mais rápida que o bagaço de cana. Beltrão (2002) relata o emprego da torta de mamona como sendo um dos melhores fertilizantes, pois contém um elevado conteúdo de nitrogênio, fósforo e cálcio quando comparada a outros adubos orgânicos, conforme pode ser observado na Tabela 3, elaborada por Bayma (1933).

Tabela 3: Poder fertilizante de alguns adubos vegetais (kg/ton).

Fonte	Nitrogênio (N)	Fósforo (P)	Potássio (K)	Cálcio (Ca)
Torta de mamona	37,70	16,20	11,20	64,10
Esterco bovino	3,40	1,30	3,50	8,20
Esterco misto	5,00	2,60	0,53	8,13
Torta de algodão	31,30	12,70	11,70	55,70

Fonte: Bayma (1933).

A adição de torta de mamona no solo, com dosagens variando de acordo com a cultura e o tipo de solo e da riqueza ou não de nutrientes, além de suprir as necessidades nutricionais das plantas aumenta o pH, reduz a acidez total, eleva o conteúdo de carbono e promove melhoria geral na parte física do solo, elevar o poder tampão e a capacidade de troca de cátions do solo (PRIMAVESI, 1980), reduz a densidade aparente do ambiente edáfico em todos os tipos de solos (KIEHL, 1979), o que interfere positivamente no crescimento e no desenvolvimento radicular, devido a melhor porosidade do solo, com mais rápida renovação adequada do oxigênio. Outro uso da torta da mamona natural, sem ser destoxificada, é para o controle de nematóides no solo em diversas culturas; a torta de mamona apresenta ainda propriedades inseticida e nematicida (DIRECTORATE OF OILSEEDS RESEARCH, 2004).

Akhtar e Mahmood (1996) obtiveram efeito da adubação com torta de mamona sobre a redução da população de nematóides fitoparasitas e ainda o aumento da população de nematóides predadores de vida livre, o que propiciou melhor desenvolvimento das plantas de *Cajanus cajan*. A eficácia de sementes de mamona na supressão do crescimento do nematóide *Meloidogyne incognita*, em tomateiros, também foi demonstrada por Mashela e Nthangeni (2002). Outros autores confirmaram esse mesmo efeito da torta de mamona (ANVER; ALAM, 2001; BERTRAND; LIZOT, 2000; SIDDIQUI; ALAM, 1999).

Algumas proteínas vegetais possuem efeitos inseticidas os quais poderiam ser utilizadas como produtos naturais para controle de doenças (CARLINI; SÁ, 2002). A ricina, encontrada na mamona, foi relacionada como tóxica a insetos da ordem dos Coleópteros e dos Lepidópteros. A toxidez foi obtida pela inserção da ricina da dieta oferecida aos insetos, portanto, não sendo tóxica para todos os insetos, mas algumas espécies podem ingerir a proteína, e não manifestar sintomas de toxidez, apesar de que não se tenha investigado se a proteína é degradada no trato digestivo ou se ela não consegue atingir as células do animal.

Assim, outra forma de contribuir para o sucesso da cadeia da produção do biodiesel à base de óleo de mamona pode ser a utilização da proteína extraída da torta na tecnologia de filmes biodegradáveis, empregando-se como plastificante o glicerol, outro subproduto abundante do processo de biodiesel. Considerando-se a composição de frações da proteína da torta de mamona, que é composta por 60% de globulinas, 16% de albuminas, 4% de prolaminas e 20% de glutelinas, proteínas conjugadas e compostos nitrogenados não-protéicos (SEVERINO, 2005), pode-se considerar que se trata de boa matéria prima para produção de material biodegradável a base de proteínas, pois vários desses materiais têm sido desenvolvidos com proteínas de frações similares (THARANATHAN, 2003).

Além disso, a composição de aminoácidos dessa proteína (Tabela 4), relativamente rica em arginina (11%), histidina (2,5%), lisina (3,1%), metionina (1,5%), permite prever certas modificações químicas nas proteínas, como reticulação com aldeídos bifuncionais, possibilitando-se assim, a produção de material com melhores propriedades mecânicas. Mas, para isso, é necessário se conhecer a disponibilidade dos mesmos (MARQUIÉ et al., 1997; MARQUIÉ, 2001). Para os animais ruminantes a arginina tem importante participação no ciclo da uréia. Loureiro (1962) comparou as concentrações de aminoácidos de algumas tortas, incluindo a torta de mamona (Tabela 4).

Tabela 4: Teor de aminoácidos de algumas tortas.

Aminoácidos (%)	Mamona	Algodão	Amendoim	Soja
Arginina	11,0	7,4	9,9	7,0
Cistina	3,5	2,0	1,6	1,9
Fenilalanina	4,2	6,8	5,4	5,7
Glicina	-	5,3	5,6	-
Histina	2,5	2,6	2,1	2,3
Isoleucina	5,3	3,4	3,0	4,7
Leucina	7,2	5,0	7,0	9,6
Lisina	3,1	2,7	3,0	5,8
Metionina	1,5	2,1	1,2	2,0
Tirosina	1,0	3,2	4,4	4,1
Treonina	3,6	3,0	1,5	3,0
Triptofano	0,6	1,3	1,0	1,6
Valina	6,6	3,7	8,0	2,4

Fonte: Loureiro (1962)

O farelo de mamona é um dos co-produtos do biodiesel com maior teor de proteína, cerca de 40% de proteína bruta, ficando atrás apenas do farelo de amendoim. Além disto, o teor de fibra é alto o suficiente para ser classificado como alimento volumoso e isto compromete o seu potencial de fornecimento de energia (BOMFIM; SILVA; SANTOS, 2009). No caso da torta, o teor de óleo aumenta a energia, mas pode limitar o seu uso, porque 89% dos seus ácidos graxos é o ácido ricinoléico. Aparentemente, pode haver depressão da gordura e influência na aceitação do leite de cabras, dependendo do nível deste ácido graxo presente na dieta (BOMFIM; SILVA; SANTOS, 2009).

Recentemente um grupo de pesquisadores brasileiros estudou o efeito da substituição da torta de soja pela torta de mamona, com ou sem suplemento com óxido de cálcio, e sem

descrever nenhum tratamento para eliminar ou reduzir a toxicidade do material, na digestibilidade *in vivo* e em outros aspectos nutricionais relevantes para ruminantes e concluíram que a ração suplementada com 60 g/kg de óxido de cálcio, pode substituir inteiramente o farelo de soja em dietas de bovino em fase de acabamento (DINIZ et al, 2011). Muito possivelmente, o óxido de cálcio tenha sido suficiente para reduzir a toxicidade do material a níveis muito baixos (ANANDAN et al., 2005).

No trabalho de Oliveira et al. (2006), a substituição de 100% do farelo de soja pelo farelo de mamona tratado com a cal (fonte de hidróxido de cálcio), e não tratado, não afetaram o consumo ou a digestibilidade do animal. Ocorreu na verdade, maior aproveitamento do farelo de mamona tratado em função da hidrólise alcalina. No entanto, o uso de animais (ovinos) com peso inicial de 53 kg, e de um período experimental de apenas 21 dias limitam a inferência destes dados. A substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxicado promoveu melhor conversão alimentar no nível de 46%, onde a mamona nas formas de farelo ou torta destoxicadas podem ser utilizadas na alimentação de ruminantes em substituição ao farelo de soja sem comprometer o consumo e digestibilidade dos nutrientes, sendo que o tratamento com Ca(OH)_2 aumentou o valor nutritivo do farelo e da torta de mamona (CÂNDIDO et al., 2008).

Barros et al. (2011) avaliaram a substituição (0, 33, 67 e 100%) do farelo de soja pelo farelo mamona tratada (FMT) com óxido de cálcio em suplementos múltiplos (25% de PB) sobre o desempenho de novilhas nelore em pastos de *Brachiaria decumbens* (8,74% de PB/MS). O nível máximo de inclusão do FMT no suplemento foi de 50% na matéria natural. O ganho de peso corporal foi em média de 500 g/dia sendo que os animais não apresentaram problemas em relação à substituição.

Em geral, a torta ou farelo gerado na extração do óleo não passa por processo de agregação de valor porque são desconhecidas as suas potencialidades nutricionais e econômicas, com algumas exceções como soja, algodão e girassol. Associado a esse fato, são desconhecidas também as possibilidades de obtenção de receitas advindas do mercado de crédito de carbono, relacionadas à redução da emissão de gás metano passíveis de ocorrer quando se utilizam rações contendo essas oleaginosas (ABDALLA et al., 2008).

Segundo Grainger (2008), em estudos recentes realizados na Austrália e Canadá, para cada 1% de acréscimo de gordura na dieta de ruminantes, pode se reduzir em até 6% a quantidade de metano produzido por kg de matéria seca consumida.

Outro co-produto da mamona no processo de biodiesel é a casca. Para cada tonelada de semente de mamona processada são gerados 620 kg de casca. Em 2005, a produção estimada desse co-produto ficou em torno de 130 mil toneladas (SEVERINO, 2005). Este co-produto se apresenta com grande potencial no aspecto social, a casca não apresenta problemas de toxidez, como a torta da mamona, e quando o agricultor comercializa a semente descascada, esta fica disponível na propriedade. Podendo, desta forma, ser utilizada como fonte de alimento alternativo para os rebanhos predominantes na região Nordeste. A casca de mamona é um alimento volumoso apresentando 72% de fibra em detergente neutro (FDN), mas sua composição é bastante variada, principalmente em função da participação de fragmentos de sementes, que pode chegar a 13% (BOMFIM et al., 2006). Neste caso o conteúdo de óleo pode chegar a 15,48% o que muda completamente a composição deste alimento, não apenas do ponto de vista nutricional porque passa a ser classificando como concentrado energético, mas também do risco de intoxicação pela presença da ricina nos fragmentos de amêndoa. O teor de proteína bruta da casca de mamona pode variar entre 5 e 8% (BOMFIM et al., 2006).

A inclusão da casca de mamona em substituição ao milho na dieta de marrãs nos níveis de 0, 33, 66 e 100% reduziu o consumo de matéria seca com o aumento nos níveis de casca de mamona, provavelmente por causa da influência negativa do teor de fibra sobre a digestibilidade, mas o ganho de peso estimado para o maior nível de participação de casca poderia chegar a 115 g/dia provavelmente relacionado ao alto nível de extrato etéreo deste subproduto (BOMFIM et al., 2006).

A glicerina produzida na cadeia do biodiesel pode também ser utilizada na alimentação animal; entretanto o produto é bastante valorizado no mercado de sabões. Trabalho recente vem sendo desenvolvido para avaliar a adição de níveis crescentes de glicerina na dieta de suínos em crescimento e os resultados iniciais indicam que a glicerina pode ser utilizada como ingrediente energético nas rações de suínos em crescimento e terminação, até o nível de 9%, sem afetar o desempenho e as características de carcaça dos animais estudados (BERENCHTEIN et al., 2010). Em aves, o glicerol pode ser utilizado como fonte de energia, em dietas de alta produção, no entanto, devem ser tomados alguns cuidados em relação a possíveis concentrações residuais de metanol (CERRATE; YAN; WANG, 2006). Schröder e Südekum (1999) utilizaram o glicerol em ruminantes, como substância glicogênica, em dieta para vacas com alta produção de leite. Esses autores concluíram que o glicerol melhorou o suprimento de energia e auxiliou na prevenção de problemas relacionados à cetose.

Os alimentos podem ser classificados como volumosos ou concentrados de acordo com o teor de fibra em detergente neutro (FDN) que apresentam. Alimentos com uma concentração de fibra (FDN) maior que 50% são classificados como volumosos. Os alimentos concentrados são os que apresentam níveis baixos de fibra e podem ser subdivididos em protéicos (teor maior que 20% de proteína bruta) ou energéticos (teor menor que 20% de

proteína bruta) (LANA, 2007). Na Tabela 5 estão apresentados alguns co-produtos disponíveis no Brasil e sua adequação aos conceitos de classificação de alimentos. Observa-se que a maior parte dos co-produtos do biodiesel são ricos em proteínas, sendo que alguns também se apresentam com um alto teor de fibra, como é o caso da torta de mamona.

Tabela 5: Classificação dos co-produtos da indústria do biodiesel que apresentam potencial de utilização na alimentação de ruminantes.

Alimento	Classificação	
	Alimento protéico (>20% PB)*	Alimento volumoso (>50% FDN)**
Torta de mamona	X	X
Farelo de mamona	X	
Torta de algodão	X	
Farelo de algodão	X	
Torta de amendoim	X	
Farelo de amendoim	X	
Torta de babaçu		X
Farelo de babaçu		X
Torta de dendê		X
Farelo de girassol	X	
Farelo de canola	X	
Farelo de coco	X	X
Casca de soja		X

* PB = Proteína bruta; **FDN = Fibra em detergente neutro

Fonte: adaptado de Bomfim, Silva e Santos (2009).

Apesar da grande disponibilidade de co-produtos que serão gerados a partir do aumento da produção de biodiesel, é importante atentar aos níveis ideais de sua utilização na alimentação animal, destacando principalmente os teores de óleo residual e a presença de

fatores antinutricionais que podem prejudicar a saúde e o desempenho animal (AZEVEDO; BELTRÃO, 2007).

A utilização dos subprodutos da mamona diminui os custos com a dieta animal, uma vez que substitui com eficiência a torta de soja, além de dar nova destinação ao resíduo evitando seu descarte no ambiente e diminuir casos de fitotoxicidade. Porém, devido à inexistência de tecnologia viável em nível industrial para o processo da destoxicação sua utilização na alimentação animal torna-se restrita (RIBEIRO; ÁVILA, 2006).

3.3.2. Componentes tóxicos da torta de mamona

Há vários relatos sobre princípios tóxicos e alergênicos presentes nas partes vegetativas (folhas, caule e raízes), sementes e pólen de mamona. Os principais componentes tóxicos da torta são ricina (1,50%); ricinina (alcalóide, 0,23%); alérgenos da mamona (0,09 a 4,20%) (THE INTERNATIONAL CASTOR OIL ASSOCIATION, 1989).

A ricina (Figura 11) é uma proteína encontrada exclusivamente no endosperma das sementes de mamona e é o componente mais letal presente na torta de mamona (MOSHKIN, 1986; FREIRE, 2001). A concentração da proteína ricina na torta é de 1,5%, e sua ingestão implica em problemas gastrointestinais e distúrbios neuromusculares podendo levar ao óbito (FREIRE, 2001; LIMA, 2007; MENDES, 2008).

Em vista disso, a destoxificação, seja por processos químicos, físicos ou químicos-físicos é um procedimento indispensável para a viabilização da torta de mamona como ração, haja vista que a toxicidade da ricina é bastante alta. Por via oral, a toxicidade da proteína é menor, quando comparada a outras vias de administração de drogas, provavelmente, devido à

pobre adsorção e digestão enzimática no trato digestivo (FRANZ; JAAX, 1997). Por via parenteral, a toxicidade é cerca de cem vezes maior.

Considerando a importância da destoxificação completa da torta de mamona para a segurança no seu consumo por animais, recomenda-se análise rápida quanto à presença de ricina que ateste a atoxicidade da torta a cada processo de destoxificação, visto que o procedimento pode não ter sido satisfatoriamente realizado e quantidades mínimas da proteína são suficientes para conduzir animais a óbito. O método imunoenzimático ELISA apresenta características como alta sensibilidade e baixo custo (BESERRA JÚNIOR et al., 2009) que o torna adequado para detecção de ricina em torta de mamona submetida a processo de destoxificação. Neste sentido, anticorpos antiricina devem ser produzidos para utilização no método de ELISA e futuras aplicações em *kits* comerciais.

A ricina tem capacidade de induzir imunidade quando administrada repetidas vezes em doses subletais com algum intervalo de tempo (BRITO; TOKARNIA, 1996). Os principais sintomas de envenenamento observados em ruminantes intoxicados por sementes de mamona foram: anorexia, fraqueza muscular, diarreia, desidratação, midríase, hipotermia, recumbência, elevação dos níveis séricos de nitrogênio-uréico, creatinina, creatinina kinase e aspartato aminotransferase após 24-30 horas de ingestão e morte em até 03 dias (ARMIÉN; D'ANGELIS; TOKARNIA, 1996; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1997; ASLANI et al., 2007).

A ricina é constituída por duas cadeias peptídicas ligadas entre si por uma ponte dissulfeto (LORD; ROBERTS; ROBERTUS, 1994; OLSNES; KOZLOV, 2001). A ricina se classifica como uma lectina, ou seja, uma proteína que tem um sítio receptor específico para um açúcar ou uma unidade de oligossacarídeo. A molécula de ricina é composta por duas subunidades de 29 e 35 kDa, que biologicamente possuem diferentes funções (OLSNES;

KOZLOV, 2001; NARANG et al., 1997): a cadeia A, citotóxica, e a cadeia B, receptor-ligação (lectina), unidas por uma única ligação covalente de dissulfeto (-S-S-) (JACKSON; TOLLESON; CHIRTE, 2006; OSTIN et al., 2007) (Figura 11). A cadeia A possui atividade enzimática e a cadeia B um sítio de ligação específica ao açúcar galactose (OLSNES; KOZLOV, 2001; NARANG et al., 1997).

Figura 11: (A) Estrutura tridimensional da ricina: em verde, a cadeia B; em vermelho, as α -hélices da cadeia A; em laranja, as folhas- β da cadeia A; em cinza, as alças da cadeia A. (B) estrutura tridimensional da ricina: acima da cadeia A; abaixo a cadeia B; em vermelho, as galactoses; em verde, as pontes dissulfeto, (C) estrutura molecular da ricinina. Fonte: Lima (2007).

A subunidade A da ricina pertence a uma classe de enzimas conhecida como proteínas inativadoras do ribossomo (PIR). Essas proteínas normalmente não apresentam toxidez, pois elas têm incapacidade de penetrar na célula e atingir os ribossomos, e estão presentes em produtos ingeridos na alimentação humana, como gérmen de trigo e cevada. Entretanto, na ricina, esta subunidade A se encontra ligada à subunidade B, que se liga à parede celular e permite à entrada da subunidade A por endocitose para o citossol, promovendo a morte da célula por inibição da síntese protéica (LORD; ROBERTS; ROBERTUS, 1994). De acordo

com Audi et al. (2005), se as ligações entre as duas subunidades forem quebradas as partes resultantes não serão tóxicas em células eucarióticas.

A torta de mamona como alimento para animais, depois de eliminada sua toxidez, pode ser usada em substituição à torta de algodão e da soja, em especial para bovinos, podendo ser utilizada para pintos, com até 12 dias de idade e com limite de 15% da ração (LOUREIRO, 1962; NAUFEL et al., 1962). Desta forma, a torta de mamona destoxicada, em especial a ricina, pode ser usada plenamente na alimentação animal, ruminantes e alguns monogástricos, entrando na composição de rações balanceadas, em quantidades segundo a espécie, raça e idade dos animais (porco, galinhas, boi, carneiro, caprinos, etc).

Na Tabela 6 estão apresentados teores de aminoácidos na torta de mamona destoxicada, segundo Benesi (1979) e Beltrão (2002).

Foram descritos, por alguns autores, que a ingestão de sementes de mamona por animais não-ruminantes e ruminantes provocou sintomas tóxicos e mortes (ARMIÉN; D'ANGELIS; TOKARNIA, 1996; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1997; KUMAR; SUGENDRAN; VIJAYARAGHAVAN, 2003; ASLANI et al., 2007). Porém, em outros estudos, foram observados a tolerância de animais ruminantes que receberam dietas contendo entre 10 a 15% de farelo ou torta de mamona não destoxificados (ALBIN; DAVIS; ZINN, 1969; SANTANA; CALDAS; ARAÚJO, 1971; OLIVEIRA et al., 2010b). Em razão da intensa atividade proteolítica microbiana ruminal (WALLACE; ONODERA; COTTA, 1997) especulou-se que a ricina seja total ou parcialmente hidrolisada no rúmen, reduzindo seu efeito tóxico no animal hospedeiro quando ingerida (OLIVEIRA et al., 2010b).

Tabela 6: **Composição em aminoácidos na torta de mamona destoxicada.**

Aminoácido	Teor (%) ¹	Teor (%) ²
Arginina	3,5	1,1
Cistina	0,4	3,5
Fenilalanina	1,8	4,2
Histidina	0,6	11
Isoleucina	1,9	5,3
Leucina	2,8	7,2
Lisina	0,7	3,1
Metionina	0,6	1,5
Tirosina	-----	1,0
Treonina	1,2	3,6
Triptofano	0,1	0,6
Valina	2,4	6,6

Fonte: ¹ Benesi (1979), ² Beltrão (2002)

Mesmo tendo alta toxidez, é possível desenvolver imunidade contra a ricina, como foi comprovado em estudos por Tokarnia e Döbereiner (1997), no qual bovinos que receberam pequena dose de ricina (por ingestão) criaram certa imunidade e puderam suportar dose mais alta, apresentando sintomas de intoxicação, mas ficando vivos, enquanto que animais que receberam dose mais alta diretamente, não resistiram à intoxicação. Hewetson et al. (1993) induziram imunidade em ratos, os quais resistiram a doses muito altas de ricina por inalação (DL99), confirmando a capacidade de imunização.

Os principais sintomas da intoxicação por ricina em coelhos foram descritos por Brito e Tokarnia (1996) como: perturbações digestivas, inapetência ou anorexia, fezes escassas, escuras e, às vezes, pastosas e cólicas. Na necropsia, verificou-se que os principais efeitos da intoxicação foram observados no intestino delgado e ceco. O período entre a administração da

ricina e morte dos coelhos variou entre 12 e 68 horas, percebidos os primeiros sintomas após 8 horas. Em animais, a dose letal de ricina é de 1 mg/kg, enquanto a dose letal em um homem de 60 kg, é de 0,06 a 0,18 mg/kg.

A toxicidade da ricina é conhecida há mais de um século, mas somente no final da década de 1980 seu mecanismo de ação em células eucarióticas foi melhor elucidado (ENDO; TSUGURI, 1987; ENDO; TSUGURI, 1988).

Outro componente tóxico encontrado na torta da mamona é a ricinina, que é um alcalóide ($C_8H_8O_2N_2$) e que pode ser encontrado em todas as partes da planta (HOLFELDER et al., 1998), apresentando baixa toxicidade e concentração de 87 a 150 mg/100 g de sementes. Segundo Leite et al. (2005), a contribuição da ricinina à toxicidade da torta é muito pequena por apresentar baixa atividade tóxica e estar presente em baixa concentração (CARVALHO, 1978). No fruto, o teor de ricinina é alto na cápsula externa, médio na casca e pequeno no endosperma, com teor médio de 0,03% (SEVERINO; MILANI; BELTRÃO, 2006). O teor desse alcalóide nas sementes é influenciado tanto por características genéticas como por estresses ambientais e se correlaciona negativamente com o teor de ricina nas sementes. A ricinina representa 0,23% da torta, não apresentando tanto perigo quanto a ricina.

A torta de mamona contém ainda uma fração alergênica. Trata-se de um complexo de proteínas e polissacarídeos denominado de CB-1A (“Albuminas 2S”), presente na semente, pólen e partes vegetativas da planta, sendo responsável por reações alérgicas no homem, mas não constatada a ocorrência em animais (TÁVORA, 1982). O complexo alergênico, apesar de poder resistir à desnaturação térmica só causa problemas pelo contato cutâneo e respiratório de pessoas susceptíveis que manipulam grandes quantidades da torta de mamona em ambiente fechado, não representando risco de intoxicação na ingestão. A fração alergênica (CB-1A) da torta de mamona é um composto não tóxico, mas apresenta elevada ação alergogênica. O

CB1-A é um conjunto de glicoproteínas e está presente no fruto (3 a 6%) (CANGEMI; SANTOS; CLARO NETO, 2010).

Existem três tipos de alergia: atópica, retardada e anafilática, sendo que as reações causadas pela torta de mamona se caracterizam como atópica, na qual os sintomas aparecem em no máximo 60 minutos após a exposição (TRUGO, 1979). Por via oral, apenas 0,01% do CB-1A é absorvido pelo sistema digestivo, de forma que para provocar alergia através da alimentação é preciso ingestão de grande quantidade de torta de mamona (TRUGO, 1979).

O teor de CB-1A nas sementes decorticadas e delipidadas (sem óleo) de mamona variou entre 6,1% e 9,0% e em seis amostras de tortas de mamona comerciais oscilou entre 0,92 e 4,2% (International Castor Oil Association, 1989). A composição de aminoácidos das proteínas que compõe este complexo alergênico está apresentada na Tabela 7.

Maciel e Machado (2007), em um estudo de avaliação da alergenicidade de sementes de pinhão-mansão, verificaram a presença de uma fração alergênica capaz de promover a desgranulação dos mastócitos *in vitro*, um processo que mimetiza o desenvolvimento da alergia *in vivo*. Tais proteínas apresentam uma fração de baixa massa molecular (~14 kDa) próximas as proteínas alergênicas da mamona, que são as albuminas 2S. Esses autores observaram que as proteínas de pinhão-mansão foram capazes de iniciar a liberação de histaminas pelos mastócitos quando estas células do sistema imune foram incubadas juntamente com soro contendo IgE anti-albumina 2S de mamona.

Tabela 7: Composição de aminoácidos da fração CB-1A da torta de mamona.

Aminoácido	%
Alanina	2,2
Arginina	17,9
Asparagina	3,6
Cistina	6,4
Fenilalanina	1,5
Glicina	3,0
Glutamina	34,9
Histidina	1,4
Isoleucina	3,5
Leucina	4,7
Lisina	5,3
Metionina	1,4
Prolina	2,0
Serina	6,4
Tirosina	1,7
Treonina	1,1
Valina	3,1

Fonte: Trugo (1979).

Segundo Anandan et al. (2005), a ricina é o principal empecilho para uso alimentar da torta de mamona para animais, pois a ricinina e o CB-1A são de pouca relevância por estarem presentes em baixa concentração e apresentarem toxicidade relativamente baixa, e o alérgeno não afeta animais, apenas seres humanos.

3.3.3. Destoxificação da torta de mamona

Desde a década de 1940, tem-se estudado formas de tratamentos que possibilitem transformar o farelo de mamona num produto destoxificado, utilizando vapor, etanol e hidróxidos. Embora tenham sido obtidos alguns resultados, esses não foram conclusivos (OLIVEIRA et al., 2010b).

A transformação da torta de mamona em um produto atóxico que possa ser usado para alimentação animal já vem há muito tempo despertando a atenção de diversos pesquisadores no mundo, tendo-se obtido alguns resultados satisfatórios embora alguns passos tecnológicos ainda necessitem ser desenvolvido para que o produto possa tornar-se economicamente viável.

Uma torta de mamona desintoxicada chamada Lex Protéico foi comercializada no Brasil na década de 60 pela empresa SANBRA. No entanto, o processo de produção foi suspenso pela dificuldade no controle da eficiência do processo de desintoxicação, que ocasionava a liberação de lotes do produto ainda tóxico, que poderiam causar a morte de animais (SEVERINO, 2005).

Existem diversos métodos incluindo tratamentos físicos, químicos e biológicos (*Penicillium simplicissimum*; *Paecilomyces variotii*, *Pseudomonas aeruginosa*) para a destoxicação da torta da mamona (BARNES; BALDWIN; BRAASCH, 2009; OLIVEIRA et al., 2010a), mas os processos de destoxificação nem sempre têm sido efetivo (ROELS et al., 2010; HONG et al., 2011). Os tratamentos com agentes químicos são mais eficientes que aqueles que empregam aquecimento para destoxicação da torta de mamona. Existem poucos dados sobre o uso combinado dos agentes físicos (calor) e químicos (bases).

Anandan et al. (2005) avaliaram o efeito de diferentes métodos físicos e químicos de desintoxicação da torta da mamona, analisando a eficácia dos tratamentos com base nas alterações quantitativas e qualitativas do conteúdo da ricina. Esses autores observaram que foi possível a eliminação total da ricina com a autoclavagem por 60 minutos (Tabela 8) e por tratamento químico com hidróxido de cálcio (Tabela 9).

Tabela 8: Tratamentos físicos na torta de mamona para remoção da ricina.

Condições de extração	Tempo	Eliminação (%)
Imersão em água	3 horas	65
	6 horas	86
	12 horas	84
Aquecimento a vapor	30 minutos	73
	60 minutos	85
Ebulição em água a 100°C	30 minutos	90
	60 minutos	91
Autoclavagem	30 minutos	85
	60 minutos	100
Aquecimento		
(100°C)	30 minutos	52
(120°C)	25 minutos	50

Fonte: adaptado de Anandan et al. (2005).

Tabela 9: Tratamentos químicos na torta de mamona para remoção da ricina.

Condições de extração	Concentração	Eliminação (%)
Solução de hidróxido de sódio (3 g/mL) em temperatura ambiente por uma noite	0,18 M	82
	0,38 M	86
	0,75 M	91
Solução de cloreto de sódio (3g/mL) em temperatura ambiente por uma noite	0,25 M	82
	0,5 M	86
	1,0 M	91
Solução de óxido de cálcio (3 g/mL) em temperatura ambiente por uma noite	10 g/kg	67
	20 g/kg	63
	40 g/kg	100
Formaldeído (5 e 10 mL) em recipiente hermético por 7 dias	5 g/kg	39
	10 g/kg	81
Solução de amônia (30 e 50 mL) em recipiente hermético por 7 dias	7,50 g/kg	51
	12,50 g/kg	59
Solução de ácido tânico (3 g/mL) em temperatura ambiente por uma noite	5 g/kg	54
	10 g/kg	27

Fonte: adaptado de Anandan et al. (2005).

Pode-se citar outros métodos mais antigos para promover a destoxicação da torta de mamona, tais como: dispersão alcalina, HCl a 1,5 M, uso de enzimas proteolíticas e leveduras (fermentação) (PERRONE et al., 1966). Para eliminar o complexo alergênico e a ricina (KHAVASTOVA, 1986), existem outros métodos descritos por Gardner et al. (1960), tais como: aquecimento da torta a 205°C, cozimento com hidróxido de sódio a 2% em presença de 10% de formaldeído, cozimento com 0,9% de ácido clorídrico e 3% de formaldeído,

cozimento com hidróxido de sódio sob pressão de 20 psi e cozimento com hidróxido de sódio a 1%. Como se pode observar, todos esses processos gastam muita energia e/ou utilizam substâncias mais ou menos tóxicas.

De acordo com Oliveira et al. (2010b), o principal foco das linhas de pesquisa tem se concentrado nas estratégias de autoclavagem 15 psi, 60 min, e no uso do hidróxido de cálcio (40 g/kg), tendo como referência o trabalho de Anandan et al. (2005). Além destes, merece destaque o uso do cloreto de sódio (20 g/kg) que segundo aquele autor elimina 91% da ricina.

3.4. Extrações de proteínas de tortas

Não se encontraram na literatura, valores referentes à extração de proteína a partir de torta de mamona.

Tavasolian, Nikpour e Makanvad (1981) produziram isolado protéico a partir da semente de mamona. Para isto, a semente desengordurada foi submetida a tratamento alcalino com NaOH 0,2% durante duas horas. As proteínas no extrato líquido foram precipitadas em pH 4.

Vários métodos de preparação para isolar proteína têm sido relatados para diferentes fontes de proteínas, incluindo leguminosas, oleoginosas, cereais, leite e proteínas de músculo, baseados no comportamento da solubilidade de suas proteínas (AGBOOLA; NG; MILLS, 2005; HORAX et al, 2004; JU, HETTIARACHCHY; RATH, 2001; PARAMAN et al., 2007). A extração alcalina é um procedimento comum e simples para se obter uma proteína relativamente pura com alto rendimento. Esta extração é normalmente realizada sob leve condições alcalinas (pH 8,0 – 10,0) pelo ajuste de pH com hidróxido de sódio para solubilizar a proteína a partir da farinha desengordurada. O resíduo insolúvel contendo principalmente

carboidratos e outros componentes são separados por solubilização e centrifugação da proteína. A proteína solúvel é então separada dos outros componentes pela precipitação do ponto isoelétrico com solução diluída de HCl, seguida de centrifugação. O precipitado é lavado para remover os componentes residuais solúveis e aumentar a pureza da proteína.

Para a extração de proteína de torta de origem vegetal, produzidas em processos de extração de óleo, existem diversos estudos. Estes estudos foram realizados em escala laboratorial, ou seja, não se trataram de proteínas extraídas em grande escala, nem produzidas industrialmente. Por exemplo, para a torta de girassol, encontra-se na literatura relatos de extração alcalina, seguida de precipitação da proteína no ponto isoelétrico para obtenção do isolado protéico (SALGADO et al., 2010; ORLIAC et al., 2003; ROUILLY et al., 2006). Da mesma forma, Cho e Rhee (2004) e Denavi et al. (2009) trabalharam com torta de soja desengordurada para a extração alcalina respectivamente, NaOH 1M/pH 10/25°C/1h e NaOH 2M/pH 8/25°C/2h, seguida de precipitação da proteína no ponto isoelétrico para obtenção do isolado protéico.

Normalmente os métodos de extração consistem na solubilização das proteínas, o que geralmente é feito com a adição da torta em meio alcalino, que na maioria dos casos é solução de hidróxido de sódio. A agitação dessa dispersão favorece a extração das proteínas solubilizadas, ocorrendo migração do interior das partículas da torta para a fase líquida. A separação da solução protéica (sobrenadante) do resíduo sólido (decantado) é feita por centrifugação. Os extratos assim obtidos são desidratados por liofilização, atomização, etc., ou precipitados com abaixamento do pH até o ponto isoelétrico. Após a centrifugação dos extratos são produzidos os isolados protéicos.

Muitos outros trabalhos encontrados na literatura poderiam ser citados relativos a diferentes tortas (colza, algodão, sorgo), entretanto não se encontra trabalhos envolvendo proteína de torta de mamona.

4. Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Bromatologia, do Departamento de Zootecnia (ZAZ), da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), localizado na cidade de Pirassununga/SP.

As sementes de mamona e torta de mamona utilizadas neste trabalho foram gentilmente cedidas pela empresa “A. Azevedo Ind. Com. De Óleos Ltda.”, situada no município de Itupeva/SP.

4.1. Preparo das Sementes de mamona

As sementes de mamona (Figura 12) foram submetidas à moagem utilizando moinho de rotor termostatzado (Marconi, modelo MA-090CFT), mantendo a temperatura constante em 20°C, para diminuir as perdas de gordura durante o processo. Antes de se fazer a determinação da composição bromatológica, a semente de mamona foi desengordura em um extrator de Soxhlet com éter de petróleo (Synth) por 6 horas e seca em estufa de circulação de ar (Quimis), a uma temperatura de 60°C.

Figura 12: Sementes de mamona cedida pela empresa A. Azevedo Óleos Indústria e Comércio de Óleos Ltda (Itupeva/SP).

Dessa forma a caracterização bromatológica da semente, incluindo os minerais, foi realizada na semente moída por TM. A análise de fibra em detergente ácido (FDA) das sementes moídas foi realizada sequencialmente à análise de fibra em detergente neutro (FDN) para digerir a fibra solúvel (provavelmente pectina), uma vez que esse componente interfere na determinação de FDA superestimando o seu valor (SILVA; QUEIROZ, 2002).

As análises de ácidos graxos, fibra alimentar total, fibra insolúvel pelo método enzimático, amido e compostos fenólicos foram realizadas segundo metodologias descritas no item 4.5.

4.2. Preparo da torta de mamona

Inicialmente, a torta de mamona (Figura 13) foi submetida a um processo de moagem a 20°C, em moinho de rotor termostatizado (Marconi, MA-090CFT, Piracicaba/SP) (Figura 14).

Figura 13: Torta de mamona cedida pela empresa A. Azevedo Óleos Indústria e Comércio de Óleos Ltda. (Itupeva/SP).

Figura 14: Moinho de rotor termostatizado (Marconi, MA-090CFT, Piracicaba/SP).

Após a moagem, esta torta de mamona foi denominada de torta de mamona não fracionada (TMNF) (Figura 15). E, em seguida, esta torta de mamona (TMNF) passou pelo processo de caracterização granulométrica sendo utilizado para tanto as peneiras

granulométricas de 12, 16, 20, 28, 35 e 48 “mesh”, acopladas a um agitador eletromagnético para peneiras (Bertel In Metalúrgica, tipo magnético-1669, Série 0401, Caieiras/SP).

Figura 15: Torta de mamona após a moagem, denominada de torta de mamona não fracionada (TMNF).

As partículas que permaneceram retidas nas peneiras de 12, 16 e 20 mesh; 28, 35 e 48 mesh e, na base da peneira, foram denominadas respectivamente de fração grossa, fração média e fração fina.

Para as extrações das proteínas utilizaram-se as frações médias e finas as quais foram denominadas de torta de mamona fracionada (TMF). A fração grossa foi descartada, neste experimento, por permanecer na superfície da solução durante o processo de extração. Isto ocorreu provavelmente devido a presença de partículas fibrosas (casca).

4.2.1. Análises bromatológicas da torta de mamona não fracionada (TMNF)

A caracterização bromatológica da torta de mamona não fracionada foi realizada por meio das análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra bruta (FB) segundo Silva e Queiroz (2002); os minerais: cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), potássio (K), magnésio (Mg), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu) e ferro (Fe), e nitrogênio não proteico (NNP) foram determinados de acordo com a AOAC (1995); fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose (Cel), hemicelulose (Hem) e lignina em detergente ácido (LDA) pela metodologia de Goering e Van Soest (1970), cuja metodologias estão descritas no item 4.5.1.

4.3. Caracterização do Farelo de mamona

O farelo de mamona foi obtido após o esgotamento do óleo da torta de mamona fracionada (TMF) utilizando-se éter de petróleo. O processo foi realizado em aparelho de Soxhlet, por 6 horas, seco em estufa de circulação e ventilação forçada de ar (55°C) e processado em gral de porcelana; este resíduo foi denominado de farelo de mamona. Após este processo foram realizadas as seguintes análises bromatológicas: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra bruta (FB) segundo Silva e Queiroz (2002); minerais [cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), potássio (K), magnésio (Mg), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu) e ferro (Fe)] e nitrogênio não protéico (NNP) de acordo com a AOAC (1995); fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose (Cel), hemicelulose (Hem) e lignina em detergente ácido (LDA) pela metodologia de Goering e Van Soest (1970), descritas no item 4.5.1.

4.4. Extração de proteínas da torta de mamona

4.4.1. Torta de mamona utilizada nas extrações de proteínas

As proteínas foram extraídas da torta de mamona, por solubilização em meio alcalino, em temperatura moderada, e a separação foi realizada por centrifugação (MARQUIÉ et.al., 1995). As extrações foram realizadas de acordo com o fluxograma abaixo (Figura 16).

Figura 16: Fluxograma do processo de extração da proteína e do resíduo de extração.

O estudo da extração das proteínas foi feito em becker de 1.000 mL, com temperatura controlada a 50°C com um banho-maria termostatizado (Marconi, modelo MA 184/BX), mantido sob agitação constante (400 a 600rpm), com auxílio de agitador mecânico

(TECNAL, TE-039, série 00169), por 30 minutos (Figura 17). Em seguida, a dispersão foi centrifugada em centrífuga refrigerada (Thermo IEC, Modelo centra GP&R 31250525, USA), a 3.430xg, temperatura de 50°C por 20 minutos (Figura 18). O sobrenadante (extrato líquido protéico) foi separado (Figura 19), submetido ao processo de liofilização em um liofilizador (Heto, modelo FD 1,0-60) (Figura 20), após congelamento em nitrogênio líquido e direcionado para as pesquisas sobre desenvolvimento de material biodegradável, o decantado de interesse à alimentação animal, foi desidratado em estufa de secagem, com circulação de ar (Fanem, Modelo 320-SE), a uma temperatura a 40°C, por 24 horas.

Figura 17: Ensaio de extração de proteínas da torta de mamona em becker.

Figura 18: Centrífuga refrigerada contendo os frascos a serem centrifugados.

Figura 19: Recipientes contendo as soluções proteicas após centrifugação, contendo as duas fases (sobrenadante e resíduo).

Figura 20: Liofilizador com os extratos protéicos.

Inicialmente, foram feitos testes para estudar os parâmetros de operação do processo de extração das proteínas, utilizando-se apenas soluções de NaOH (20%) para ajuste do pH para 9.

Na sequência foram realizados testes com três álcalis [hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2), hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH)], para se estudar o efeito desses agentes no rendimento da extração, sempre com pH 9.

Os testes com hidróxido de cálcio não se mostraram muito promissores, pois este álcali é pouco solúvel em água, portanto para se atingir os valores desejados de pH, foi necessário um volume muito grande de solução. Desta forma, decidiu-se excluir esta base dos experimentos posteriores.

Para aprofundar o estudo de extração de proteínas, utilizando hidróxido de sódio, foi avaliada, a influência dos seguintes fatores no processo de extração de proteínas mantendo-se o pH fixado em 9: concentração da torta na solução de extração (10 e 20%); velocidade de agitação (400 e 600rpm), a temperatura e o tempo de extração foram fixados em 50°C e 30

minutos, respectivamente. Além disso, verificou-se o efeito da lavagem do resíduo sólido da extração com água destilada e o desengorduramento da torta antes de realizar a extração de proteína. Todas as extrações foram realizadas em triplicatas.

Anteriormente, foi feito outro estudo do efeito do pH (8, 9, 10 e 11), obtido com NaOH, sobre a extração das proteínas.

Finalmente, foi feito ainda, um estudo do efeito do agente (KOH e NaOH) em três diferentes pH (10, 11 e 12) no processo de extração das proteínas.

O sobrenadante foi direcionado para as pesquisas sobre desenvolvimento de material biodegradável. Entretanto, para as análises no contexto deste trabalho, o extrato (sobrenadante) foi liofilizado para posterior caracterização, e o resíduo (decantado) (Figura 21) foi desidratado em estufa de secagem, com circulação do ar (Fanem, Modelo 320-SE), a uma temperatura a 40°C, por 24 horas e moído em moinho (TM) de rotor termostatizado (Marconi, modelo MA-090CFT), mantendo a temperatura constante em 20°C, para diminuir as perdas de gordura durante o processo.

Figura 21: Resíduos de extração da proteína da torta de mamona moídos.

4.5. Caracterizações da torta de mamona fracionada (TMF) utilizada na extração de proteína, do extrato de proteína liofilizada (EPL) e dos resíduos de extração da torta de mamona

4.5.1. Análises bromatológicas

Todas as análises descritas abaixo foram realizadas em triplicata.

- a) Matéria seca foi pesada e mantida em estufa a 105°C até peso constante (SILVA; QUEIROZ, 2002).

- b) Proteína bruta foi determinada com base no conteúdo de nitrogênio total, dosado pelo método Kjeldahl, que consiste em aquecer a substância nitrogenada em ácido sulfúrico concentrado, em presença de catalizador, de maneira que o nitrogênio e hidrogênio presentes sejam convertidos em sal amoniacal. O nitrogênio é deslocado sob a forma de amônia, na etapa de destilação. O destilado é então titulado e é conhecido o teor de nitrogênio da amostra analisada. O fator de conversão para proteína utilizado foi de 6,25 (SILVA; QUEIROZ, 2002).
- c) Fibra bruta é a porção dos carboidratos totais que resiste a uma hidrólise ácida e alcalina, utilizando o aparelho de Sebelin. A amostra seca é submetida a digestão ácida, com ácido sulfúrico a 1,25% e hidróxido de sódio a 1,25%, durante 30 minutos em cada digestão. Após a secagem do material, em estufa a 105°C e queima em mufla a 550°C, o teor de fibra bruta foi determinado por diferença (SILVA; QUEIROZ, 2002).
- d) Extrato etéreo foi baseado na extração de substâncias solúveis em éter de petróleo, utilizando-se o extrator contínuo tipo Soxhlet. Após a evaporação do solvente, o teor de extrato etéreo foi determinado por diferença (SILVA; QUEIROZ, 2002).
- e) Cinzas foram determinadas por incineração do material em mufla a 550°C, até a combustão total da matéria orgânica (SILVA; QUEIROZ, 2002).
- f) O extrativo não nitrogenado foi calculado por diferença: $ENN = 100 - (\text{proteína bruta} + \text{extrato etéreo} + \text{cinzas} + \text{fibra bruta})$ (SILVA; QUEIROZ, 2002).
- g) Os minerais cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu) e ferro (Fe) por espectrometria de absorção atômica; nitrogênio não protéico (NNP); sódio (Na) e potássio (K) por fotometria de chama (AOAC, 1995).

h) As fibras em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose (Hem), celulose (Cel) e lignina em detergente ácido (LDA). A fibra em detergente neutro e ácido baseia-se no resíduo da amostra após a dissolução das proteínas, gorduras e carboidratos solúveis em detergente neutro e em detergente ácido. A hemicelulose foi calculada por diferença entre o FDN e FDA. A celulose foi calculada por diferença após a hidrólise ácida da FDA. A lignina em detergente ácido foi quantificada por digestão com ácido sulfúrico a 72% (GOERING; VAN SOEST, 1970).

4.5.2. Análises de amido e compostos fenólicos da torta de mamona

A determinação do teor de amido foi realizada após hidrólise com a utilização da α -amilase (de *Bacillus licheniformis*, Sigma P3910, diluída 1:250), a 95°C, seguido do uso da amiloglucosidase (de *Aspergillus niger*, 300 unidades min⁻¹A7095), a 50°C (WALTER; SILVA; PERDOMO, 2005). A glicose produzida nessa hidrólise foi quantificada por espectrofotometria, medindo-se a absorbância a 505 nm, em espectrofotômetro (PerkinElmer Lambda 35 UV/VIS Spectrometer), utilizando o utilizado o Kit de glicose.

Os compostos fenólicos foram determinados pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Woisky e Salatino (1998), utilizando-se ácido gálico como padrão. A leitura da absorbância foi feita a 740nm em espectrofotômetro (PerkinElmer Lambda 35 UV/VIS Spectrometer).

4.5.3. Análises de ácidos graxos

A composição de ácidos graxos do óleo extraído da semente de mamona e do resíduo de extração da proteína da torta de mamona foi determinada no Laboratório de Engenharia de Separações, do Departamento de Engenharia de Alimentos (ZEA) da FZEA, por meio de cromatografia gasosa de acordo com o método oficial 1-62 da AOCS (1998). Inicialmente as amostras foram esterificadas com complexo de trifluoreto de boro-metanol (BF_3) para derivatização dos ácidos carboxílicos aos seus ésteres metílicos correspondentes. Foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo GC 2010 AF, Japão) equipado com detector de ionização de chama, coluna capilar Crossbond-PEG com espessura de filme de $0,25\mu\text{m}$, 30m de comprimento e 0,25mm de diâmetro interno (RTx-Wax, Restek, Bellefonte, PA, USA) e módulo de injeção automático com razão de divisão (Split) de 1:50. Hélio foi utilizado como gás de arraste na vazão de $0,74\text{mL min}^{-1}$. A programação de temperatura da coluna (forno) foi um isoterma inicial a 160°C , seguida de taxa de aquecimento de 3°C min^{-1} até 245°C , e mantido um novo isoterma de 15 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250°C e 280°C , respectivamente. Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões Supelco 37 (PA, EUA) e a quantificação foram realizadas por normalização interna.

4.5.4. Análises de aminoácidos

Os teores de aminoácidos da torta de mamona fracionada (TMF), das proteínas liofilizadas (EPL) e dos resíduos de extração de proteína da torta de mamona, com agente alcalinizante NaOH, foram determinados no Laboratório de Análises Químicas Ltda. (LAB

TEC), Hortolândia/SP, com derivatização de aminoácidos em pré-coluna de fenilisotiocianato e cromatografia líquida de alta performance (JAOAC, 1989). Foi utilizada uma coluna C18 com 250mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, detector UV-Visível, ajustado em comprimento de onda de 254nm, fase móvel composta por dois eluentes diferentes, um contendo acetato de sódio, trietilamina, acetonitrila, EDTA, ácido acético glacial, e outro contendo acetonitrila e água. Como derivatizante foi utilizado o fenilisotiocianato (PITC).

4.5.5. Análises de fibras alimentares

Para a determinação das fibras alimentares das amostras, semente de mamona, torta de mamona fracionada (TMF) e resíduos de extração de proteína da torta de mamona, foi realizada a digestão enzimática utilizando-se a solução-tampão MÊS-TRIS, α -amilase termorresistente e solução de protease. Após a digestão enzimática, as amostras foram secas em estufa de 105°C, pesadas e por diferença obteve-se a fibra insolúvel. Ao filtrado foram adicionados etanol, deixando em repouso por 1 hora para precipitação da fibra solúvel, depois o precipitado foi recolhido, lavado com etanol e acetona, representando a fibra solúvel. Os cadinhos contendo as fibras foram secos em estufa de 105°C, por 12 horas e, a quantidade de fibras solúvel e insolúvel determinadas por diferença de peso. As análises de fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar solúvel (FAS) e fibra alimentar insolúvel (FAI) foram realizadas, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.5.6. Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a análise por microscopia eletrônica de varredura, as amostras de torta de mamona e os resíduos de extração de proteína da torta de mamona foram secas em estufa a 40°C, por 24 horas, moídas e acondicionadas em dessecador, a vácuo, por 12 horas. A seguir, as amostras foram inseridas em um porta amostra de alumínio, com fita adesiva dupla face de carbono e diretamente analisadas, utilizando-se microscópio eletrônico de varredura (MEV) com feixe a 15 kV (Marca Hitachi, TM 3000 (Tokyo, Japão) (Figura 22).

Figura 22: Microscópio eletrônico de varredura (MEV).

4.5.7. Detecção da atividade tóxica e avaliação da atividade alergênica

As detecções da atividade tóxica e avaliação da atividade alergênica foram realizadas na torta de mamona fracionada (TMF), extratos de proteína liofilizados (EPL) e nos resíduos de extração de proteína da torta de mamona com agente alcalinizante NaOH.

A detecção da atividade tóxica e a atividade alergênica foram realizadas no Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos – LQFPP da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro (UENF), Rio de Janeiro. As metodologias envolvendo essas análises estão descritas a seguir:

4.5.7.1. Avaliação da atividade alergênica

Para analisar as propriedades alergênicas das amostras, empregou-se ensaio de desgranulação de mastócitos obtidos de lavado peritoneal de rato, o qual foi avaliado por análise da morfologia celular por microscopia óptica.

Para a obtenção do extrato rico em albuminas 2S empregou-se a metodologia descrita por Thorpe et al. (1988), com adaptações propostas por Maciel et al. (2009). Resumidamente, a torta foi macerada com gral e pistilo e as proteínas foram solubilizadas em tampão fosfato de sódio 0,2M (pH 7,0) na proporção de 1:4. Os resíduos insolúveis foram eliminados por centrifugação a 30.000xg durante 15 minutos a 4°C. As proteínas do sobrenadante foram precipitadas com sulfato de amônio a 90% de saturação durante 18 horas sob agitação. Após a precipitação, a amostra foi centrifugada a 15.000xg durante 15 minutos e o precipitado, contendo as proteínas, foi recolhido e o sobrenadante descartado. O material recolhido foi fervido durante 15 minutos, em banho-maria, visando flocular a ricina e, subsequentemente, submetido a uma nova centrifugação e, o sobrenadante recolhido. Para separar a albumina 2S das outras proteínas presentes na amostra, a mesma foi submetida à filtração em gel utilizando resina Sephadex-G-50 previamente equilibrada em TFA (ácido trifluoracético) 0,1%. A amostra foi eluída com TFA 0,1% sob um fluxo de 1,0 mL/min e, frações de 1 mL foram

coletadas e detectadas a 280nm. As frações correspondentes às albuminas 2S foram acumuladas, liofilizadas e guardadas a 4°C.

Para a obtenção dos mastócitos, ratos da linhagem Wistar (não imunizados), de aproximadamente 250g foram empregados como fonte de mastócitos. Três ratos eram sacrificados, um de cada vez, por asfixia em CO₂ e, posteriormente submetidos a uma incisão na cavidade peritoneal, de aproximadamente 5cm. Nesta abertura, foram inseridos 20mL de meio de cultura DMEM (meio mínimo essencial de Eagle modificado por Dulbecco) contendo 12 UI/mL de heparina para realizar a lavagem. O conteúdo recolhido do primeiro rato foi utilizado para realizar a lavagem do segundo e assim sucessivamente, objetivando enriquecer o conteúdo do lavado com mastócitos. O lavado obtido dos animais foi retirado da cavidade peritoneal com o auxílio de uma pipeta Pasteur e armazenado em tubo cônico tipo Falcon.

O conteúdo final recolhido do peritônio dos ratos, aproximadamente 15mL, foi transferido para uma placa de Petri, permanecendo por 30 minutos em estufa à 37°C, visando separar os mastócitos dos macrófagos. Após esse período de tempo, 2/3 do meio de cultura foi retirado cuidadosamente da superfície da placa com auxílio da pipeta Pasteur e descartado. O líquido remanescente (cerca de 4 - 5 mL) contendo os mastócitos foi transferido para um tubo cônico tipo Falcon e essa suspensão final de células, dividida em alíquotas de 100 µL, para posterior sensibilização.

Para a realização dos ensaios de desgranulação, avaliou-se a ativação dos mastócitos, mediada ou não por imunoglobulinas. As alíquotas de 100µL da preparação enriquecida em mastócitos foram submetidas ao tratamento com 1µL de soro total anti-albumina 2S obtido em ratos Ra Thor conforme descrito por Deus-de-Oliveira et. al (2011) e com 10µL da amostra a ser testada (10µg/mL). A mistura foi incubada por 1 hora a 37°C. Nos controles de

ativação inespecífica, o soro foi omitido do ensaio. Para a avaliação da desgranulação, uma alíquota de 10µL foi utilizada para a contagem de mastócitos por microscopia óptica. Para a detecção do percentual de desgranulação em todos os testes realizados, o “pool” de IgE anti-albumina 2S obtido após imunização de ratos RA/Thor foi diluído a uma proporção de 1:100 na suspensão de células. As amostras foram preparadas para que se tivesse 1 µg/mL na mesma solução. Esta mistura foi incubada por 1 hora na estufa de cultura de células a 37°C. A desgranulação dos mastócitos foi avaliada por microscopia.

Para a avaliação do percentual de desgranulação por microscopia óptica, as amostras foram preparadas para se obter uma concentração de 10µg min⁻¹. Em cada ensaio 10µL da amostra (100ng) era incubado com 100µL da suspensão de células, por 1 hora à 37°C. Alíquotas de 10µL foram misturadas com 10µL de solução aquosa contendo 0,1% de azul de toluidina, 10% de formaldeído e 1% de ácido acético, pH 2,8 e mantidas por 15 minutos para evidenciar a desgranulação. A contagem diferencial das células íntegras e desgranuladas coradas foram feitas em câmara de Neubauer através da observação em microscópio óptico Zeiss Axioplan utilizando objetiva de 20x.

4.5.7.2. Extração da Ricina e análise por eletroforese em gel com dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE)

Amostras de torta de mamona (500g) foram extraídas com 2,5L de água acidificada com HCl pH 3,8 sob agitação por 6 horas. Após os sólidos se sedimentarem, o sobrenadante foi filtrado em papel de filtro. O precipitado foi tratado com 1,5L de água destilada, sob agitação por 3 horas e filtrado em papel de filtro. Um segundo tratamento com água foi dado ao resíduo, e este foi novamente filtrado.

Este filtrado, contendo toda a ricina, foi concentrado por centrifugação a vácuo (Speed Vac). O filtrado foi então saturado com cloreto de sódio e centrifugado à 2.000xg por 20 minutos para separar o precipitado contendo somente ricina.

O precipitado foi dissolvido em água deionizada. Foi então re-precipitado por saturação com sulfato de amônio. Após duas outras precipitações com o mesmo sal, o precipitado foi diluído em água deionizada e dialisado a 4°C por um período de 72 horas, contra tampão tris-pH 6,8 (tampão para dissolução da amostra para eletroforese). O tampão foi trocado uma vez a cada 2 horas, nas primeiras 12 horas, e subsequentemente uma vez a cada 6 horas no tempo restante.

Após 72 horas, o dialisado foi centrifugado a 2.000xg, por 10 minutos, para separar a matéria insolúvel do sobrenadante contendo a ricina. A solução foi concentrada a vácuo. A quantidade de ricina no dialisado foi estimada pelo método de Bradford (1976). O extrato, contendo cerca de 50µg de proteína, foi aplicado no gel para o fracionamento das proteínas por SDS-PAGE (LAEMMLI, 1970) e posterior identificação da ricina.

4.5.8. Análise da fração proteica por eletroforese em gel

A fração proteica de eletroforese em gel (Figura 23) foi realizada apenas na proteína liofilizada extraída com agente alcalinizante de hidróxido de sódio (NaOH) pH 9), como teste inicial para realização desta pesquisa. A análise foi realizada no “Departamento de Ciencia y Tecnología de Carnes y Productos Cárnicos y del Pescado y Productos de la Pesca (DCP)”, do “Instituto del Frío de Madrid”.

O perfil eletroforético da proteína presente no extrato obtido em pH 9, previamente liofilizado, segundo o procedimento de Laemmli (1970), utilizando-se o sistema vertical

Protean II – Bio Rad em voltagem constante. As amostras foram submetidas à desnaturação à temperatura de 100°C (5 min) em solução tampão com pH 6,8 (β -mercaptoetanol, Tris-HCl 0,5M, glicina, SDS (10 %) e azul de bromofenol). Tampão com pH 8,3 foi utilizado na corrida (Tris (0,0025 M), glicina (0,192 M) e SDS (0,1 %)). Os géis consistiram em: gel de empilhamento 4,0 % (acrilamida, Tris-HCl pH 8,8; água e TEMED) e gel de corrida 6,0 % (acrilamida, Tris-HCl pH 6,8; água e TEMED).

Figura 23: Aplicação das amostras (a) e desenvolvimento da eletroforese (b).

A coloração do gel foi realizada utilizando-se Azul Brilhante Comassie G-250 (BLAKESLEY; BOEZI, 1977) (Figura 24). O padrão utilizado foi da marca BIO-RAD contendo oito proteínas de pesos moleculares variando entre 6,66 e 202,82 kDa, contendo as seguintes proteínas: Miosina (202.816 kDa), β -Galactosidase (115,556 kDa), Albumina Sérica Bovina (98,223 kDa), Ovalbumina (51,366 kDa), Anidrase Carbonica (37,240 kDa), Inibidor de Tripsina de soja (29,003 kDa), Lisozima (19,748 kDa) e Aprotinina (6,658 kDa).

Figura 24: Gel da eletroforese após coloração (a) e após descoloração (b).

4.5.9. Análise de eletroforese por fluorescência induzida a laser (LIF)

A eletroforese foi realizada nas amostras de semente, torta de mamona fracionada (TMF) e nos resíduos de extração de proteína da torta de mamona.

A composição da fração protéica por eletroforese e a identificação da ricina foi realizada no Laboratório de Bioanalítica, Microfabricação e Separações BioMicS - IQSC – USP da Universidade de São Paulo – Campus de São Carlos.

Nas amostras de torta, semente e resíduos da extração de proteínas da torta de mamona resultantes (pós-processo de remoção da ricina) foram adicionados em solução tampão Tris (3,8), que em seguida foi centrifugado a $3.430 \times g/30\text{min}$ e o sobrenadante separado. Para a avaliação da eficiência da extração da ricina presente na torta, semente e resíduo da mamona foram realizadas análises do sobrenadante, após precipitação das proteínas presentes, empregando-se solução de ácido tricloroacético (TCA)/acetona com 10% TCA. O *pellet* obtido foi ressuscendido em 300 μL de solução de reidratação contendo uréia (7M), tiourea

(2M) e 2% CHAPS [3 - ((3-colamidopropil) dimetilamônio)-1-propanossulfonato - surfactante] e analisado em aparelho de Bioanalyzer (Figura 25).

Figura 205: (a) Aparelho Bioanalyzer (fluorescência induzida a laser (LIF)); (b) chip utilizado no aparelho; (c) seringa de injeção para o chip.

4.6. Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa computacional SAS (SAS, 2003). As diferenças estatísticas entre as médias foram identificadas através dos testes de Tukey ($p < 0,05$).

5. Resultados e Discussões

5.1. Caracterização química da matéria prima

5.1.1. Caracterização bromatológica das sementes de mamona

Do ponto de vista analítico, as sementes de mamona (Figura 26a) constituem-se em um sistema bastante heterogêneo, sendo necessária a cominuição desse produto para a realização das análises. A moagem dessas sementes expôs o endosperma (Figura 26b), porção rica em proteínas e, portanto, produto de interesse deste trabalho.

Figura 26: Sementes de mamona obtidas de “A. Azevedo Indústria e Com. de Óleos Ltda.(Itupeva/SP)”: (a) sementes inteiras, (b) sementes trituradas.

A umidade de 4,29% (MS = 95,71%) observada nas sementes de mamona pode ser considerada abaixo da faixa de umidade ótima para armazenamento de oleaginosas, que segundo Brooker, Bakker-Arkema e Hall (1992), está entre 6 e 10% .

Foi observado que na composição bromatológica das sementes de mamona (Tabela 10), os valores de proteína bruta (PB) foram de 19,91%, valores estes próximos aos observados por Freire et al. (1997), quando estudaram diversos genótipos de semente de amendoim, relatando valores de PB de 17,94%. Observou-se que as concentrações de cinzas (CZ) (2,37%) foram inferiores às encontradas por Penha et al. (2007), quando trabalharam com grãos integrais de pinhão-manso (3,7%) e com o albúmen de pinhão-manso (3,61%).

Para o extrato etéreo (EE) foram determinados valores de 43,63%, estando superiores aos encontrados por Souza et al. (2009), na semente de pinhão-manso (40,33%) e nabo-forrageiro (36,85%) e por Freire et al. (1997), quando estudaram diversos genótipos de sementes de amendoim (37,63%). Segundo Freire, Severino e Machado (2006), o teor de óleo nas sementes de mamona pode variar de 35 – 55%.

A semente de mamona apresentou elevados teores de fibras (FB = 29,48%; FDN = 44,26%; FDA = 35,38%) (Tabela 10). Evangelista, Abreu e Per (2004), trabalhando com dois cultivares de semente de mamona, quantificaram os teores de fibra utilizando três tipos de extração: etanol, hexano e prensagem a frio, observando valores de 45,03 a 58,34% para a FDN e de 30,03 a 46,32% para a FDA, valores estes bem próximos aos obtidos neste trabalho (Tabela 10), onde a extração de lipídeos foi realizada com éter de petróleo. A composição química da semente de mamona muda de acordo com a variedade e região de cultivo. Ainda em uma mesma região, fatores agronômicos, como crescimento, floração, solo, além de pluviometria e altitude podem afetar a qualidade da semente e, consequentemente, o teor de óleo. A semente de mamona, em termos médios é constituída por 65% de amêndoa e 35% de casca (MENDES, 2005), que é tipicamente rico em fibras.

Tabela 10: Composição bromatológica da semente de mamona.

Componentes (%)	Teores¹	Componentes (%)	Teores
Matéria seca (MS)	95,71±0,13	Ferro (Fe)	0,0094±0,0002
Proteína bruta (PB)	19,91±0,74	Zinco (Zn)	0,0050±0,0002
Extrato etéreo (EE)	43,63±0,68	Cobre (Cu)	0,0019±0,00004
Cinzas (CZ)	2,37±0,17	Manganês (Mn)	0,0019±0,00002
Fibra bruta (FB) ²	29,48±0,54	Sódio (Na)	0,0073±0,0006
Extrato não nitrogenado (ENN)	4,25±0,61	Magnésio (Mg)	0,21±0,00
Fibra detergente neutro (FDN) ²	44,26±0,91	Potássio (K)	0,50±0,02
Fibra detergente ácido (FDA) ²	35,32±0,56	Cálcio (Ca)	0,35±0,03
Lignina detergente ácido (LDA) ²	25,30±0,27	Fósforo (P)	0,12±0,01
Celulose ²	6,75±0,44	Nitrogênio (N)	3,19±0,12
Hemicelulose ²	9,70±2,27		
Nitrogênio na FDN	0,29±0,12		
Nitrogênio na FDA	3,31±0,96		
Nitrogênio não protéico (NNP)	1,77±0,51		
Amido	1,95±0,37		
Fenólicos Totais ³	7,90±0,40		

¹ Valores expressos em base seca.² Análises determinadas na semente desengordurada.³ Valor expresso em mg/100g ácido gálico

A composição de minerais, macro e microelementos, foram diferentes da observada por Lucena et al. (2006). Mais uma vez, essa diferença se deve aos vários parâmetros já discutidos.

Dentre os macro minerais encontrados nas sementes de mamona (Tabela 10), observou-se que os mais abundantes foram o K e o N, apresentando concentrações

semelhantes às obtidas por Lucena et al. (2006), que observaram teores de K entre 0,27 e 1,30% e de N entre 2,35 e 3,31%, ao avaliarem a composição em minerais das sementes de mamona dos cultivares BRS Nordestina e BRS Paraguaçu separadas por classes de acordo com a cor do tegumento. Esses autores obtiveram valores de P que variaram de 0,49 a 0,69%, sendo estes superiores ao obtido neste trabalho. Para o Ca e o Mg, os valores determinados foram superiores aos encontrados por Souza et al. (2009), trabalhando com semente de pinhão-manso, que foi de 0,44% para Ca e de 0,45%, para Mg. O Na foi o macro-mineral que se apresentou em menor concentração.

Entre os micros minerais, o mais abundante foi o Fe, seguido do Zn, Cu e Mn. Estes minerais determinados foram semelhantes aos observados por Souza et al. (2009) em semente de pinhão-manso (0,0068 e 0,01%) e em nabo-forrageiro (0,01 e 0,0063%).

A semente de mamona apresentou na sua composição, 1,95% de amido (Tabela 10). Este teor está abaixo do encontrado por Souza et al. (2009), quando trabalharam com sementes de pinhão-manso, nabo-forrageiro e cambre (9,85; 14,05 e 14,75%), respectivamente.

Os teores dos compostos fenólicos totais (Tabela 10) encontrados na semente de mamona foram de 7,9 mg de EAG 100g⁻¹. Os dados de compostos fenólicos para alimentação animal não são encontrados na literatura.

5.1.2. Composição dos teores de ácidos graxos da semente de mamona

O principal ácido graxo encontrado no óleo de mamona foi o ácido ricinoléico (Tabela 11), correspondendo a cerca de 90% da composição. Esta predominância era esperada e típica da semente de mamona (SALIMON et al., 2010). O ácido graxo ricinoléico difere dos demais ácidos graxos presentes no óleo das sementes de mamona, devido a presença de uma hidroxila no C12, o que o torna mais denso e viscoso que os demais óleos vegetais (LIMA, 2007).

A concentração do ácido linoléico (Tabela 11) foi similar a encontrada por Martín et al. (2010), trabalhando com semente de mamona e inferior a semente de pinhão-mansão observada pelos mesmos autores (Tabela 11).

Os valores encontrados para os ácidos oleico e linoléico na semente de mamona foram cerca de 10 vezes menores que os observados por Vieira, Cabral e Paula (1999) em cultivares de soja, cujos resultados de ácidos graxos oleico variaram entre 21,15 e 39,93% e linoléico entre 42,46 e 57,19%.

A semente de mamona apresentou em sua composição um total de ácidos graxos saturados de 2,07% e insaturados de 8,07%, excluindo-se o ácido ricinoleico.

Tabela 11: Composição de ácidos graxos da semente de mamona e pinhão-manso.

Teores (%MS)				
Ácidos Graxos	SM	SM ¹	SPM ¹	SM ²
Palmítico (C16:0)	0,95±0,02	1,3	16,9	0,8-1,1
Esteárico (C18:0)	0,68±0,05	1,2	6,7	0,7-1,0
Oléico (C18:1)	3,15±0,11	3,6	35,3	2,2-3,0
Linoléico (C18:2)	4,52±0,08	5,5	39,0	4,1-4,7
Linolênico (C18:3)	0,40±0,03	0,5	-	0,5-0,7
Araquídico (C20:0)	0,44±0,00	-	-	-
Ricinoleico (C18:1OH)	89,86±0,22	86,0	-	87,7-90,4

SM – semente de mamona;

SM¹ – semente de mamona; SPM – semente de pinhão-manso (MARTÍN et al., 2010);SM² – semente de mamona (BINDER et al., 1962).

5.1.3. Teores de fibras alimentares da semente de mamona

Raramente são encontrados dados na literatura para fibra alimentar total (FAT) na alimentação de animais ruminantes. Para estes, o mais comum é utilizar as fibras insolúveis, como FDN e FDA. Para animais monogástricos, como cães e gatos, existem alguns resultados, porém na prática ainda prevalece o conceito de FB, FDN ou FDA. Neste trabalho,

estas análises foram realizadas com o objetivo de suprir a pouca ou nenhuma informação a respeito das fibras alimentares presentes na semente da mamona e em seus subprodutos.

Pode-se observar que o teor de FAT da semente de mamona (Tabela12) foi próximo ao da FDN na semente de mamona (Tabela 10), e que a de fibra insolúvel (FIN) da semente de mamona (Tabela12) apresentou dados considerados próximos aos da FDA da semente de mamona (Tabela10). Estes dados confirmam que a análise de fibra (FAT - FIN) realizada pelo método enzimático (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985) ou pelo método de Goering e Van Soest (1970) (FDN-FDA) mantém a mesma relação, ou seja, valores superiores para FAT e FDN e inferiores para FIN e FDA.

Souza et al. (2009) trabalharam com sementes de pinhão-mansão, nabo-forrageiro e crambe e encontraram valores de FAT inferiores ao encontrados na semente de mamona (Tabela 12). Os grãos de pinhão-mansão e crambe são envoltos por uma casca externa rica em fibras (CARLSON; TOOKEY, 1983; HELLER, 1996). Isto também acontece com a semente de mamona, com quantidades de cascas superiores as sementes citadas acima, justificando tal valor encontrado na FAT da semente de mamona.

Tabela 12: Teores de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel da semente de mamona.

Teores (%)	SM	SPM ¹	SNF ¹	SC ¹
Fibra alimentar total (FAT)	45,71±2,34	20,45	9,98	13,32
Fibra insolúvel (FIN)	44,38±0,12		-	-
Fibra solúvel (FS)	3,29±1,08		-	-

FAT – fibra alimentar total; FIN – fibra insolúvel e FS – fibra solúvel;

¹SM - Semente de mamona; ¹SPM - semente de pinhão-mansão; ¹SNF - semente de nabo-forrageiro e

¹SC - semente de crambe (SOUZA et al., 2009).

Normalmente as frações de fibras insolúveis e solúveis são encontradas nas dietas convencionais, porém os efeitos dos processos digestivos e metabólicos não dependerão da variação nos seus teores individuais bem como da predominância de uma fração em relação à outra, de sua composição bromatológica e de sua organização estrutural. Estes fatores determinam as propriedades físico-químicas da fibra e os efeitos sobre os processos digestivos e metabólicos (MONGEAU et al., 1990; JORGENSEN et al., 1996; JORGENSEN; ZHAO; EGGUM, 1996; JOHANSEN; KNUDSEN, 1997; MORRE; PARK; TSUDA, 1998). As propriedades físico-químicas da fibra podem modificar mais efetivamente a resposta biológica do que apenas as variações nas suas respectivas frações insolúveis e solúveis (MORRE; PARK; TSUDA, 1998; VARDERHOFF, 1998). Segundo Peterson (1992), a fibra alimentar é formada pela soma de polissacarídeos não-amiláceos (PNA) e lignina de (PNA) e lignina de vegetais que não são digeridos por enzimas digestivas dos seres humanos. De acordo com Walker (1993), as fibras podem ser classificadas quanto a sua solubilidade em água, em fibras solúveis e insolúveis, sendo que a fração solúvel é composta por pectinas, beta-glicanas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses. Os componentes insolúveis são lignina, pectinas insolúveis, celulose e hemicelulose. Desta forma, esta classificação apresenta importância quanto a sua ação, visto que os efeitos fisiológicos das fibras solúveis são diferentes dos efeitos das fibras insolúveis.

5.1.4. Microscopia eletrônica de varredura da semente de mamona (MEV)

Diferentes estudos têm sido realizados para conhecer as características morfológicas das matérias-primas, incluindo as sementes de oleaginosas (AMONSOU; TAYLOR; MINNAAR, 2011; PASCUAL-ALBERTO; PEREZ-MUNUERA; LLUCH, 1998; VARELA;

AGUILERA; FISZMAN, 2008; YOUNG et al., 2004) com ou sem tratamento, mostrando que a estrutura (macro ou micro) destas matérias-primas é um parâmetro chave para se entender o efeito do processamento e a qualidade final dos produtos. Em particular, o conhecimento da microestrutura da semente pode ser importante no processamento industrial e na utilização das oleaginosas não-comestíveis, como nas indústrias energéticas.

Os resultados das análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV) permitiram observar que a semente de mamona se apresenta como um tecido bastante heterogêneo (Figura 27), notando-se a presença de parede celular e de corpúsculos de proteínas e de lipídios. Ou seja, pode-se constatar que esses dois componentes encontraram-se compartimentalizados dentro da semente.

Figura 27: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da semente de mamona; P (proteína) e L (lipídios) com aumento de 500x (a) e de 1000x (b). Fonte: Perea-Flores et al. (2011).

O MEV foi também utilizado para o estudo da composição elementar dos tecidos da semente de mamona. Assim, uma superfície da amostra (Figura 28) foi submetida à análise por Espectroscopia por Energia Dispersiva, que verifica a composição química semi-quantitativa da amostra em questão e a proporção de cada espécie. A dispersão dos elementos químicos da semente de mamona está apresentada na Figura 29 e a composição elementar está apresentada na Tabela 13.

Figura 28: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) da semente de mamona (L – lipídeos; P – Proteína; PC – parede celular e EM – embrião).

Figura 29: Espectro por Energia Dispersiva da semente de mamona.

Tabela 13: Composição elementar encontrada em Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) na semente de mamona.

Elemento	Peso (%)	Massa Atômica
Carbono (C)	59,251	69,841
Oxigênio (O)	28,510	25,229
Magnésio (Mg)	0,572	0,333
Alumínio (Al)	1,135	0,595
Silício (Si)	0,479	0,241
Fósforo (P)	0,526	0,240
Enxofre (S)	1,173	0,518
Potássio (K)	5,873	2,126
Cálcio (Ca)	2,482	0,877

Os resultados dos espectros dos elementos químicos da semente de mamona indicaram a presença de C, O, Mg, Al, Si, P, S, K e Ca. O macromineral K foi encontrado com maior disponibilidade. Vários minerais de reserva encontrado nas sementes de mamona (LOTT; GREENWOOD; VOLLMER, 1982; PREGO; MALDONADO; OTEGUI, 1998) são contidos dentro das proteínas.

5.2. Extração de proteínas da torta de mamona

5.2.1. Caracterização granulométrica da torta de mamona moída

Para preparar a torta de mamona para os ensaios de extração da proteína, foi feito um estudo da granulometria da torta moída, cujos resultados estão apresentados na Tabela 14. Observou-se que, o processo de moagem produziu um produto com características muito finas, com predominância (~71%) de partículas com dimensões menores que 0,4 mm.

Certamente o produto moído apresentou este comportamento por ter sido previamente moído, isto é, as sementes tiveram suas estruturas destruídas durante o processo de prensagem para a extração do óleo, produzindo assim, uma torta de certa maneira, frágil e de fácil moagem.

Tabela 14: Granulometria da torta de mamona.

Abertura (mm/ μ m)	ABNT/ASTM	Mesh	Retido (%)
1,4	14	12	1,03 $\pm$ 0,10 ^e
1	18	16	1,49 $\pm$ 0,09 ^e
0,85	20	20	2,46 $\pm$ 0,08 ^d
0,6	30	28	11,84 $\pm$ 0,46 ^c
0,425	40	35	11,75 $\pm$ 0,19 ^c
0,3	50	48	19,30 $\pm$ 0,81 ^b
		Base	52,13 $\pm$ 0,19 ^a

^{a-e}, letras diferentes indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

Com base nestes resultados (Tabela 14), para a continuação dos estudos de extração de proteínas, a torta de mamona moída foi separada em três frações, descritas a seguir:

- Fração grossa: material retido nas peneiras com mesh 12, 16 e 20;
- Fração intermediária: material retido nas peneiras com mesh 28, 35 e 48;
- Fração fina: material retido na base.

A moagem da torta resultou, assim, em 52,13%, 42,89% e 4,98% de material fino, intermediário e grosso, respectivamente.

Ainda interessados no estudo de extração de proteínas, cada uma dessas frações foi caracterizada quanto a sua composição bromatológica (Tabela 15). Variações (P<0,05) foram observadas nos valores de cinza, proteína e fibra bruta. Observou-se que o teor de proteínas

aumentou com a redução da dimensão das partículas, comportamento esse diferente do observado em relação à fibra bruta, que aumentou com o aumento da dimensão da partícula. Assim, pode-se sugerir que as partículas mais grossas são ricas em material da casca, com elevada quantidade de fibras e proteínas, podendo ser utilizado como adubo orgânico.

Tabela 15: Composição bromatológica das frações da torta de mamona.

Componentes	FF (52,13%)	FI (42,89%)	FG (4,98%)
MS	92,85±0,04 ^a	92,75±0,06 ^a	92,83±0,01 ^a
CZ	14,82±0,18 ^a	7,22±0,13 ^b	7,38±0,44 ^b
EE	3,11±0,10 ^a	2,48±0,29 ^b	2,63±0,50 ^b
PB	49,26±0,80 ^a	22,92±0,45 ^b	19,44±0,49 ^c
FB	11,57±0,91 ^c	28,41±0,31 ^b	33,07±1,57 ^a

^{a-c}, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes ($p < 0,05$).

FF – Fração Fina (Base); FI – Fração Intermediária (Mesh 28, 35, 48); FG – Fração Grossa (Mesh 12,16, 20).

De alguma maneira, o teor de cinzas está correlacionado ao de proteínas, isto é, os minerais devem se encontrar associados nas estruturas mais ricas em proteínas, e menos nas cascas e outras estruturas ricas em fibras, de forma que o teor de cinzas também aumentou com a redução da dimensão das partículas, similarmente ao observado com as proteínas.

Assim, considerando-se que as proteínas se distribuem diferentemente nas frações granulométricas e que apenas 3% das proteínas se encontrariam na fração mais grossa (Figura 30), decidiu-se selecionar, para os ensaios de extração de proteínas, as frações fina e intermediária, descartando-se a fração grossa, pelo seu baixo teor de proteína. A mistura das duas frações escolhidas (torta de mamona fracionada) apresentaram valores de matéria seca

(MS), diferentes entre si, enquanto as cinzas (CZ), proteína (PB) e extrato etéreo (EE) semelhantes à torta não fracionada (Tabelas 16).

Figura 30: Distribuição das proteínas nas frações granulométricas da torta de mamona.

5.2.2. Composição química das tortas de mamona não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF)

Após o fracionamento, foi motivo de estudos a caracterização bromatológica da torta de mamona não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF), justamente por haver divergências importantes em relação à composição dessa matéria prima, conforme se pode-se observar na Tabela 1. Portanto, decidiu-se avaliar a sua composição por ser a principal matéria prima desta pesquisa visando quantificar o teor proteico e as fibras. Além de fatores intrínsecos, como variedade, região e estação de produção da mamona, pode-se considerar que os tratamentos industriais para a extração do óleo também podem contribuir para essa divergência de composição.

Como se pode observar na Tabela 16, verificou-se que o teor de matéria seca (MS) da torta de mamona não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF) diferiram entre si, porém considerados bons para o armazenamento destas tortas cujos teores de matéria seca foram de 90,76 e 91,24%, e umidade de 9,24 e 8,76%, respectivamente para as amostras citadas. Valores estes semelhantes aos observados por Severino (2005); Costa et al. (2004a) e por Oliveira et. al. (2010b) para a torta de mamona. Segundo Athié et al. (1998) e Custodio et al. (2005), o limite de umidade recomendado para o armazenamento de farelos de oleoginosas é de 11% (MS = 89%), podendo ser possível sua conservação por um período longo de tempo, uma vez que o baixo teor de umidade diminui a atividade microbiana. O teor de cinzas (CZ) na TMNF e TMF foi de 10-11%, similar aos observados por Severino (2005) e Costa et al. (2007) e superiores aos obtidos por Oliveira et al. (2010b).

Tabela 16: Composição centesimal da torta de mamona não fracionada (TMNF) e fracionada (TMF).

Componentes (%MS)	TMNF	TMF ¹
MS	90,76±0,04 ^b	91,24±0,13 ^a
PB	38,17±0,56 ^a	39,77±1,07 ^a
EE	2,87±0,12 ^a	3,17±0,12 ^a
CZ	11,01±0,07 ^a	10,33±0,08 ^a
FB	28,84±0,83 ^a	19,69±1,15 ^b
ENN	28,26±0,48 ^a	17,89±0,48 ^b
FDN	54,55±0,61 ^a	49,44±1,09 ^b
FDA	42,04±0,58 ^a	40,58±0,43 ^a
LDA	31,66±0,85 ^a	23,54±0,38 ^b
Cel	8,30±0,61 ^b	10,45±0,25 ^a
Hemicel	12,48±0,48 ^a	9,51±1,06 ^b
NFDN	1,00±0,14 ^a	0,86±0,13 ^a
NFDA	1,32±0,06 ^a	1,40±0,10 ^a
NNP	1,55±0,36 ^a	1,97±0,19 ^a

¹Torta de mamona utilizada nas extrações de proteína.

^{a,b} Letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

Observou-se um baixo valor de extrato etéreo (EE) nas tortas (Tabela 16) indicando tratar-se de uma torta de boa qualidade, sendo que a presença de óleo em teor elevado pode ser considerada um fator antinutricional na torta (AZEVEDO; BELTRÃO, 2007). Por outro lado, essa baixa concentração de EE facilita a absorção pelo solo quando utilizada como fertilizante (SEVERINO, 2005). Moreira et al. (2003) encontraram valores de cinzas na ordem de 6,6% e de EE de 14,4%, enquanto que Oliveira et al. (2010b) observaram valores de EE, para a torta de mamona, de 7,98%. Os teores de EE obtidos nesta pesquisa foram inferiores aos verificados pelos autores acima citados.

O teor médio de óleo na torta pode variar de acordo com o método de extração, por exemplo, quando o óleo de mamona é obtido por extração mecânica, um conteúdo de aproximadamente 6-13% de óleo pode ser obtido nesse resíduo, já para o processo de extração por prensagem seguida por tratamento com solventes, esse resíduo apresenta baixa concentração de óleo (1-1,5%) (SEVERINO, 2005).

Não houve diferença significativa para as proteínas bruta (PB) observadas nas tortas de mamona (Tabela 16). A torta apresenta alto valor proteico, podendo chegar a 36% nas tortas de amendoim e quase a 40% na proveniente de mamona (MOTA; PESTANA, 2011). Mizubuti et al. (2011) encontraram para a torta de soja valores de proteínas (41,27%) próximos ao encontrado para a torta de mamona.

Vários trabalhos de investigação da qualidade nutricional das tortas e farelos tem mostrado o potencial de utilização deste material na alimentação dos animais (ABDALLA et al., 2008). O valor protéico destas tortas é relativamente alto (35%) com variação de 14 a 60%, sugerindo a utilização como fonte de proteína para os animais (JARDIM, 1976). O teor (EE) também varia razoavelmente, de 3 a 24%, podendo ser outro benefício para animais ruminantes, cuja inclusão do óleo na dieta pode auxiliar na mitigação de metano entérico (GRAINGER, 2008).

A torta de mamona trata-se de um produto rico em fibras (fibra bruta (FB); fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA)) (Tabela 16), podendo, em princípio, ter boa indicação para emprego como alimentação animal, se não houvesse problema de toxicidade. Os valores de FB, FDN, LDA e hemicelulose foram maiores para a TMNF quando comparado aos da TMF, porém para a FDA e celulose os dados observados foram menores para a TMNF (Tabela 16). Entre as tortas estudadas não houve efeito significativo para NFDN, NFDA e NNP. Moshkin (1986) observou teores de proteína e fibra

bruta de 42,5% e 20%, respectivamente, para a torta de mamona. Furtado et al. (2012) encontraram valores de FDN (49,8%) e FDA (40,10%) similares ao deste trabalho. Martín et al. (2010) trabalharam com torta de mamona e relataram valores de PB (56,80%), CZ (6,70%), FDN (47,0%), FDA (40,30%), LDA (33,80%), celulose (6,50%) e hemicelulose (6,80%) diferentes dos valores da torta de mamona estudada neste trabalho, sugerindo que o tipo de extração e variedade da mamona podem interferir nos resultados das análises. A parede celular (FDN = 10,10%; FDA = 7,80%; LDA = 1,70%; celulose = 6,10% e hemicelulose = 2,30%) da torta de pinhão-manso apresentou valores inferiores aos da torta de mamona de acordo com Martín et al. (2010). As diferenças observadas na parede celular se devem provavelmente às características da semente de mamona e também ao tipo de extração de óleo, como citado acima.

Os resultados de lignina foram maiores para a torta de mamona não fracionada, havendo diferença ($p < 0,05$) em relação à torta fracionada.

Os valores de FDA e lignina detergente ácido (LDA) das tortas de mamona (Tabela 16) foram superiores aos observados por Moreira et al. (2003), que foram de 38,7% e 24,6%, respectivamente. Entretanto o teor de FDN dessa pesquisa foi inferior ao valor reportado pelo mesmo autor (FDN = 77,0%). Embora a torta de mamona seja rica em nutrientes, neste trabalho observou-se diferenças ($p < 0,05$) para a LDA com elevados teores, respectivamente de 23,54% para a TMF e de 31,7% para TMNF. Tais valores estão próximos aos obtidos por Assmann (2009), que foi de 23,2%. Fengel e Wegener (1989) descrevem teores médios de lignina de 30% na parede celular das plantas. Segundo Beltrão e Cartaxo (2006), apesar da torta de mamona ser rica em nutrientes, ela apresenta elevado teor de lignina, em média 14,25% com relação ao peso da semente, sendo uma substância de difícil digestão, mesmo por ruminantes. O valor de LDA apresentado por Beltrão e Cartaxo (2006) é inferior ao verificado

neste trabalho. Esta diferença nos sugere que a casca foi influenciada pelo aumento da LDA encontrada na TMNF.

5.2.3. Composição de minerais da torta não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF)

As quantidades de minerais encontradas nas tortas (Tabela 17) podem ser consideradas adequadas para uso na alimentação animal. Segundo Andriguetto et al. (1982), os níveis de minerais da torta de mamona são comparáveis aos níveis encontrados na soja.

Os macro minerais Na, Mg e P, (Tabela 17) apresentaram valores menores em relação aos demais (0,029; 0,46 e 0,55%, respectivamente).

O teor de Na observado na torta de mamona (Tabela 17) foi similar ao encontrado por Oliveira et al. (2010b) (0,05%) e similar a torta de pinhão-manso(0,03%). Silva Filho, Aguirre e Silva (1999) detectaram valores de Na para o farelo de canola de 0,013% e de 0,006% para o farelo de soja, valores estes inferiores aos encontrados na torta de mamona. O magnésio (Mg=0,46%) (Tabela 19) teve resultado semelhante ao encontrado na torta de mamona por Oliveira et al. (2010b) (0,53%) e por Souza et al. (2009) (0,50%). As tortas de mamona estudadas mostraram-se bastante rica em potássio (K = 0,75%), em comparação aos farelos de arroz e cevada, que apresentaram valores em torno de 0,54 e 0,03%, segundo Silva Filho, Aguirre e Silva (1999), respectivamente, mas inferior ao encontrado por Oliveira et al. (2010b) (1,11%) e inferior a torta de pinhão-manso encontrada por Souza et al. (2009) (0,53%). O K é um dos elementos mais exigidos por ruminantes para o ganho de peso, e sua alta concentração na ração reduz o custo de suplementação mineral (SOUZA et al., 2009). O teor de Ca (1,54%) da torta de mamona foi superior ao da torta de mamona encontrados por

Oliveira et al. (2010b) (0,72%) e a torta de pinhão-manso encontrados por Souza et al. (2009) (0,50%).

Moshkin (1986) trabalhando com torta de mamona encontrou teor de 0,78% de P, valor próximo aos observados neste trabalho (0,55%) para ambas as tortas. As diferenças observadas se devem provavelmente às características da semente de mamona e também ao tipo de extração de óleo. Para o nitrogênio foram observados valores semelhantes para as tortas estudadas (Tabela 17).

Não foram observadas diferenças para os microminerais das TMNF e TMF (Tabela 17). Dentre os microminerais determinados, o Fe foi o que apresentou valor mais elevado que os demais micro minerais (Zn, Cu e Mn). Os valores de micro minerais da torta de mamona foram superiores aos da torta de pinhão-manso (Fe = 3,52mg/g; Zn = 2,18mg/g, Mn = 1,23mg/g e Cu = 0,86mg/g) encontrados por Souza et al. (2009).

Tabela 17: Composição de macro e microminerais da torta de mamona não fracionada (TMNF) e torta de mamona fracionada (TMF).

Composição de macrominerais da TMNF e TMF		
Componentes (%)	TMNF	TMF
Sódio (Na)	0,029±0,004	0,029±0,004
Magnésio (Mg)	0,46±0,01	0,46±0,01
Potássio (K)	0,75±0,04	0,75±0,04
Cálcio (Ca)	1,54±0,06	1,54±0,06
Fósforo (P)	0,55±0,02	0,55±0,02
Composição de microminerais da TMNF e TMF		
Componentes (mg/g)	TMNF	TMF
Ferro (Fe)	190,0±0,0004	190,0±0,0004
Zinco (Zn)	120,0±0,0003	120,0±0,0003
Manganês (Mn)	80,0±0,0005	80,0±0,0005
Cobre (Cu)	40,0±0,0006	40,0±0,0006

Para a torta de mamona não fracionada foram realizadas apenas as análises de composição centesimal. Porém, como a torta de mamona fracionada foi utilizada para as extrações de proteína, decidiu-se por avaliar outros parâmetros analíticos que não foram contemplados na torta de mamona não fracionada. Desta forma, foram realizadas as análises de amido, compostos fenólicos, ácidos graxos, aminoácidos, fibra alimentar total, solúvel e insolúvel, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia por energia dispersiva, toxicidade e eletroforese.

5.2.4. Teores de amido e compostos fenólicos totais da torta de mamona fracionada (TMF)

Foi determinado na composição da torta de mamona, 4% de amido, este teor representa praticamente o dobro do encontrado na semente de mamona (Tabela 10). Essa concentração na torta de mamona deve ter sido consequência da extração do óleo da semente, o que consequentemente alterou a base de cálculo da matéria seca da torta de mamona em relação à semente. O teor de amido determinado neste trabalho correspondeu a menos de 10% do encontrado por Melo et al. (2008b) em torta de mamona, sendo considerado abaixo do esperado (48%MS) pelo autores. Entretanto, o resultado determinado na torta neste trabalho é condizente com o que foi determinado na semente. Este resultado está 50% menor do encontrado por Macedo et al. (2009), que foi de 8,19% de amido na torta de mamona de uma variedade nativa de mamona selvagem. Valores superiores foram encontrados por Souza et al. (2009), trabalhando com torta de pinhão-manso e nabo-forrageiro 12,0 e 14,69%, respectivamente. Assman (2009) encontrou para a torta de mamona valor de amido de 23,5%,

superior ao desta pesquisa (4%). Esta variação pode estar relacionada a erro metodológico, variabilidade na cultura, fatores climáticos e/ou de cultivo do material (ASSMAN, 2009).

A torta de mamona apresentou resultados de amido superiores ao da semente de mamona, isto pode ser devido à extração do óleo que foi realizado por prensagem, liberando o amido mais facilmente. Por isso, na determinação foi utilizado protease, não observando variação no teor de amido permanecendo em 4,1%. De acordo com Assman (2009) a torta de mamona é composta quimicamente por 25% de amido.

Compostos fenólicos também foram determinados na TMF, apenas como mais um dado para este tipo de material, pois estes compostos raramente são encontrados na literatura, ou não são estudados para este tipo de material. Este tipo de compostos é mais avaliado em resíduos de frutas para utilização na alimentação humana. Os valores de compostos fenólicos encontrados na torta de mamona (2,58mg EAG/100g⁻¹) foram menores que os obtidos na semente (Tabela 10). Muito possivelmente a redução desses componentes na torta se deve ao tratamento térmico, relativamente drástico durante a extração do óleo. Berenchtein (2012) encontrou para o farelo de pinhão manso destoxicado o teor de 26,08 (equivalente grama de ácido tânico) para os compostos fenólicos totais.

5.2.5. Composição em ácidos graxos da torta de mamona fracionada (TMF)

A torta de mamona fracionada apresentou ácidos graxos (Tabela 18) superiores aos da semente de mamona para o palmítico, esteárico, oléico e linoléico (Tabela 11), valores estes que variaram de 2,38 a 10,07% e de 0,68 a 4,52%, respectivamente.

Tabela 18: Composição dos teores de ácidos graxos da torta de mamona fracionada (TMF).

Ácidos graxos (%)	Teores (%)
Palmítico (C16:0)	3,78±0,16
Esteárico (C18:0)	2,38±0,21
Oléico (C18:1)	5,23±0,33
Linoléico (C18:2)	10,07±0,26
Linolênico (C18:3)	ND
Araquídico (C20:0)	ND
Ricínoléico (C18:1OH)	78,55±0,30

ND: Não detectado

O ácido ricínoléico é um ácido característico da mamona e apresentou valores na torta inferior ao da semente de mamona (89,86%). Muito possivelmente, essa diferença de concentração do ácido ricínoléico pode ter sido consequência de alguma reação durante as diversas etapas do processamento, uma vez que a hidroxila pode ser oxidada. A torta de mamona não apresentou em sua composição os ácidos graxos linolênico e araquídico, sendo este ácido encontrado apenas na semente de mamona. De toda maneira, a concentração desses ácidos graxos era muito baixa na semente de mamona.

A torta de mamona fracionada apresentou valores superiores de ácidos graxos comparados à semente de mamona, sendo que o linoléico apresentou o valor mais alto (10,07%) para torta e de (4,52%) para a semente de mamona, mas para o ácido ricínoléico os resultados foram inferiores ao da semente de mamona. A torta de mamona apresentou em sua

composição um total de ácidos graxos saturados de 6,16% e insaturados de 93,85%, incluindo o ácido ricinoléico (Tabela 18).

5.2.6. Perfil de Aminoácidos da torta de mamona fracionada (TMF)

Analisando os teores de aminoácidos da torta de mamona (Tabela 19), observou-se que os teores de lisina e triptofano foram superiores ao encontrados por outros autores, sendo que Benesi (1979) encontrou para a lisina e triptofano valores de 0,669 e 0,086g/100g, respectivamente. Segundo Severino (2005), os teores dos aminoácidos lisina e triptofano obtidos na torta de mamona são menores que na torta de soja. Rostagno et al. (2005) encontraram para o farelo de mamona valores de lisina (0,78g/100g) e de triptofano (0,58g/100g), inferiores ao encontrado neste trabalho. No caso de animais ruminantes (bovinos, ovinos e caprinos) os baixos teores destes aminoácidos exibidos pela torta de mamona, não constituem fatores limitantes para sua utilização, uma vez que os microrganismos do rúmen são capazes de sintetizar esses aminoácidos. Isso torna a torta um alimento promissor para a alimentação de ruminantes (CÂNDIDO et al., 2008). De acordo com Severino (2005), a torta de mamona não pode ser utilizada como única fonte protéica na alimentação de animais monogástricos (equinos, suínos, aves, peixes), devido à baixa concentração dos aminoácidos lisina e triptofano.

Makkar, Aderibigbe e Becker (1998) determinaram no farelo de pinhão-manso valores de arginina (12,9%), cistina (1,58%), fenilalanina (4,89%), histidina (3,08%), isoleucina (4,85%), leucina (7,5%), lisina (3,4%), metionina (1,76%), tirosina (3,78%), treonina (3,59%) e valina (5,3%), superiores aos encontrados na torta de mamona deste trabalho (Tabela 19).

Observou-se na torta de mamona que os aminoácidos arginina, triptofano e ácido glutâmico se apresentaram em maiores concentrações (10,97; 9,25 e 14,93g/100g proteína), e que metionina, tirosina e histidina foram encontradas em menores teores que os demais (1,52; 2,08 e 2,26g/100g proteína), respectivamente. Os aminoácidos alanina, glicina, isoleucina, ácido aspártico, cistina, leucina, cistina, fenilalanina, prolina, valina e serina tiveram as concentrações variando de 3,52 a 4,43g/100g proteína (Tabela 19). Os valores para arginina, triptofano e lisina foram considerados adequados para utilização na alimentação animal, porém é necessário conhecer a exigência nutricional de cada espécie animal (Tabela 19).

Vieira, Cabral e Paula (1999), trabalhando com diferentes cultivares de soja, encontraram valores de lisina (5,6 a 6,9g/100g) superiores aos obtidos na torta de mamona e de triptofano (1,5 a 1,7g/100g) inferiores aos da torta de mamona (Tabela 19).

Tabela 19: Perfil de aminoácidos da torta de mamona fracionada (TMF) e farelo de pinhão-manso destoxificado (FPMD).

Aminoácidos (g/100g proteína)	TM	FPMD ¹ (%MS)
Alanina	3,52±0,04	2,19-4,28
Arginina	10,97±0,06	5,94-11,62
Ácido Aspártico	7,25±0,28	4,16-8,14
Glicina	3,52±0,04	1,98-3,87
Isoleucina	3,32±0,08	1,93-3,78
Leucina	5,07±0,11	2,93-5,73
Ácido Glutâmico	14,93±0,09	7,44-14,56
Lisina	2,94±0,13	1,24-2,43
Cistina	2,74±0,51	0,71-1,39
Metionina	1,52±0,08	0,76-1,49
Fenilalanina	3,07±0,06	1,81-3,54
Tirosina	2,08±0,01	1,28-2,50
Treonina	2,58±0,05	1,53-2,99
Triptofano	9,25±0,14	0,50-0,98
Prolina	2,94±0,06	1,83-3,58
Valina	3,83±0,10	2,30-4,50
Histidina	2,26±0,08	1,09-2,13
Serina	4,43±0,09	2,14-4,19

¹FPMD (farelo de pinhão-manso destoxificado). (BERENCHTEIN, 2012)

A composição de aminoácidos da torta de mamona (Tabela 19) se mostrou similar quando comparada com o farelo de pinhão-manso destoxicado (FPMD) encontrada por Berenchtein (2012), com exceção do aminoácido triptofano, que se mostrou superior quando comparado ao FPMD (Tabela 19) e a lisina foi semelhante. Portanto, por ocasião da formulação de ração se deve verificar o atendimento da exigência desses aminoácidos, principalmente para lisina e triptofano que estão entre os primeiros aminoácidos limitantes, principalmente para aves. Tanto a lisina quanto o triptofano são encontrados na forma sintética e podem ser incorporados na ração para corrigir eventuais deficiências (FARIA FILHO et al., 2010).

5.2.7. Teores de fibras alimentares da torta de mamona fracionada (TMF)

Estas análises foram realizadas com o objetivo de suprir a pouca ou nenhuma informação encontrada na literatura a respeito das fibras da mamona e seus resíduos. Os teores de fibra pelo método enzimático-gravimétrico alimentar total da torta de mamona estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20: Teores de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel da torta de mamona fracionada (TMF).

Teores (%)	TM	TPM ¹	TNF ¹
FAT	53,33±1,23	36,68	13,70
FIN	46,81±2,10	-	-
FS	2,70±1,05	-	-

FAT – fibra alimentar total; FIN – fibra insolúvel e FS – fibra solúvel

TM – Torta de mamona;

¹TPM – torta de pinhão-manso e TNF – torta de nabo-forrageiro (SOUZA et al., 2009).

Pode-se observar que a fibra alimentar total da torta de mamona (Tabela 20) apresentou teor superior ao da semente de mamona (45,71%), além disso, estes valores foram próximos aos encontrados na FDN da torta de mamona (54,55 e 49,44%). A fibra insolúvel apresentou concentração considerada próxima aos valores de FDA da torta de mamona (42,04 e 40,58%). Estes dados confirmam que a análise de fibra realizada pelo método enzimático (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985) (FAT - FIN) ou pelo método de Van Soest e Wine (1967) (FDN-FDA) mantém a mesma relação, ou seja, valores superiores para FAT e FDN e inferiores para FI e FDA.

Os teores de FAT da torta de mamona quando comparado com os valores da torta de mamona do pinhão-manso e torta de nabo forrageiro (Tabela 20), apresentaram valores superiores ao encontrado por Souza et al. (2009).

5.2.8. Microscopia eletrônica de varredura da torta de mamona fracionada (TMF)

De maneira geral, a microestrutura do material analisado (Figura 31) mostrou-se, de certa forma, semelhante à da matéria prima (Figura 27), observando-se a presença de corpúsculos de proteína e de lipídeos, envolvido numa matriz bastante heterogênea.

A imagem do espectro (EDS) realizado na torta de mamona fracionada pode ser observada na Figura 32. Nesta figura pode-se verificar que o espectro da torta de mamona fracionada se mostrou com vários pontos ovalados, provavelmente de proteína e alguns pontos menores, possivelmente de lipídios. Foram observadas placas escuras em grande quantidade, às quais se pode sugerir que sejam fibras, pois, como citado anteriormente, a torta de mamona é o resíduo da semente de mamona inteira prensada, apresentando assim grande

quantidade de fibras, como visto na Tabela 16. Estas fibras apresentam pequenos pontos esbranquiçados, podendo ser proteína ou gorduras contidas nas fibras.

Figura 31: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da torta de mamona fracionada (1000x). P (proteína) e L (lipídios)

Figura 32: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva da torta de mamona fracionada (TMF); embrião (EM); proteína (P); lipídios (L) e fibras (F).

Os resultados de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) do espectro estão apresentados na Figura 33. As análises dos elementos químicos revelam vários minerais, tais como: alumínio (Al); silício (Si); fósforo (P); potássio (K) e ferro (Fe). As composições destes elementos estão apresentadas na Tabela 21.

Observou-se que o processo industrial de extração do óleo da semente de mamona, bem como a moagem da torta, permitiu a visualização de um espectro elementar mais amplo (Figura 32) que no caso da semente de mamona (Figura 28), fazendo aparecer fortemente, o sinal do elemento Fe, corroborando com os resultados das análises químicas.

Figura 33: Espectroscopia por Energia Dispersiva da torta de mamona fracionada.

Tabela 21: Resultados dos elementos químicos encontrados em Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) da torta de mamona fracionada.

Elementos	Peso (%)	Massa Atômica
Carbono	55.401	65.965
Oxigênio	32.630	29.168
Alumínio	4.017	2.129
Silício	1.441	0.734
Fósforo	0.680	0.314
Potássio	1.798	0.657
Ferro	4.033	1.033

5.3. Caracterização bromatológica do farelo de mamona

A partir da extração do óleo da torta de mamona foi obtido o co-produto denominado farelo de mamona. A principal diferença entre o farelo e a torta da mamona refere-se ao teor de extrato etéreo, sendo que a extração é mais eficiente quando extraída por meio de solvente

orgânico que por meio de prensagem. Nesta pesquisa foi empregado o éter de petróleo como solvente para obtenção do farelo de mamona, um co-produto que tem sido muito utilizado como adubo orgânico, mas que também tem grande valor nutricional para ser utilizado na ração animal, sendo necessária sua caracterização bromatológica, devido a grande divergência de resultados citados na literatura.

Segundo Severino (2005) a principal característica do farelo de mamona é seu baixo teor de óleo (1–1,5%). Neste trabalho, o processo de esgotamento do óleo residual da torta de mamona conseguiu eliminar quase completamente o óleo (extrato etéreo do farelo = 0,45%) (Tabela 22). Mas, de maneira geral, a composição bromatológica do farelo de mamona foi semelhante à observada na torta de mamona (Tabela 16). Por outro lado, o esgotamento do óleo residual resultou em variações nos teores dos minerais quando comparados com os da torta de mamona (Tabela 17), observando-se diminuições nos teores de Fe, Cu, Ca e P, e aumentos nos teores de Mn e K.

Freitas et al. (2008) avaliaram a composição química do farelo desengordurado de 12 variedades de mamona e não observaram diferenças entre elas para o teor de proteína, cinzas e umidade, havendo diferença para a concentração de fibra em detergente neutro e extrato etéreo (0,65 a 4%). O teor de proteína se apresentou em torno de 30% e o teor de fibra em detergente neutro variou de 43 a 51%, valores estes inferiores ao deste farelo, que foi de 56%. Bose e Wanderley (1988) encontraram valores de proteína de 39,82% e de fibra bruta de 28,48%, valores próximos ao encontrado neste farelo (35,79 e 29,56%), respectivamente.

Em função do esgotamento do óleo, a PB no farelo de mamona (35,79%) foi inferior à torta de mamona (38,17%). Os teores de umidade e de cinzas encontrados para o farelo de mamona ficaram ao redor de 6% e de 9%, respectivamente, valores estes considerados bons para armazenamento deste farelo.

O farelo desengordurado de mamona bem como a torta de mamona possui como característica principal, alta concentração de fibras insolúveis (celulose, hemicelulose e lignina), portanto fez-se necessário a determinação de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido (Tabela 22).

A lignina apresenta grande divergência entre os farelos como se pode observar na Tabela 22. Pode-se também verificar que o farelo de mamona apresenta em sua composição bromatológica valores superiores ao farelo de soja, apenas com resultados inferiores para a PB.

Tabela 22: Composição bromatológica do farelo de mamona e farelo de soja.

Componentes (%MS)	FM	FM ¹	FS ¹
MS	93,88±0,14	88,09	87,12
PB	35,79±0,57	37,83	51,52
EE	0,45±0,04	3,14	0,99
CZ	9,72±0,19	9,82	7,44
FB	29,56±0,60	-	-
ENN	26,76±0,72	-	-
FDN	55,94±0,20	55,80	18,39
FDA	49,20±0,50	41,12	7,77
LDA	25,56±1,06	4,52	0,77
Cel	9,95±0,16	-	-
Hemicel	15,21±1,19	-	-
NFDN	0,65±0,11	1,06a	0,66a
NFDA	1,38±0,05	0,29a	0,32a
NNP	1,01±0,70	1,35a	1,24a

FM – farelo de mamona;

¹FM -Farelo de mamona; FS - Farelo de soja (OLIVEIRA et al., 2010b);

a = % de proteína

A composição de macro minerais no farelo de mamona (Tabela 23), determinada nesta pesquisa, apresentou valores inferiores aos encontrados por Oliveira et al. (2010b) apenas para o P, sendo que, para os demais macro minerais, os resultados foram próximos aos encontrados pelo mesmo autor. Em comparação com o farelo de soja, o K foi o macro mineral que se apresentou com valores mais elevados em comparação com o farelo de mamona (Tabela 23). Entre os micro minerais, o mais abundante foi o Fe, e o que se apresentou com menor valor foi o mineral Cu.

Tabela 23: Composição de macro e microminerais do farelo de mamona.

Composição de macrominerais do farelo de mamona			
Componentes (%)	FM	FM ¹	FS ¹
Sódio (Na)	0,03±0,00	0,04	0,07
Magnésio (Mg)	0,48±0,02	0,43	0,29
Potássio (K)	0,92±0,01	0,96	2,39
Cálcio (Ca)	0,81±0,03	0,78	0,22
Fósforo (P)	0,31±0,01	0,68	0,64
Nitrogênio (N)	5,43±0,10	-	-
Composição de microminerais do farelo de mamona			
Componentes (mg/g)	FM	FM ¹	FS ¹
Ferro (Fe)	151,0±0,0008	-	-
Zinco (Zn)	120,0±0,0002	-	-
Manganês (Mn)	80,00±0,0002	-	-
Cobre (Cu)	30,00±0,0002	-	-

FM – Farelo de mamona

¹FM - Farelo de mamona; FS - Farelo de soja (OLIVEIRA et al., 2010b)

Os diferentes valores encontrados nas análises bromatológica podem ser explicados pelos diferentes processos de extração do óleo e/ou pela utilização de genótipos distintos de mamona, entre outros (CÂNDIDO et al., 2008).

5.4. Extração de proteína da torta de mamona

As proteínas foram extraídas da torta de mamona com o intuito de serem utilizadas na produção de materiais biodegradáveis. Após sua extração o resíduo obtido poderá ser empregado na nutrição animal, desde que suas propriedades tóxicas sejam eliminadas.

Desta forma, foram realizadas as extrações das proteínas em meio alcalino, primeiramente com o agente alcalinizante hidróxido de sódio em pH 9, para que os parâmetros dos processos de extração fossem definidos. Na sequência estão descritos os estudos para definição destes parâmetros.

5.4.1. Estudos para definição dos parâmetros dos processos de extração

Diversos procedimentos foram testados no intuito de aumentar o rendimento de extração das proteínas, utilizando-se NaOH pH 9. Estes procedimentos incluíram variações nos parâmetros de extração: velocidade de agitação, concentração da torta na solução extratora e temperatura de extração, e variações no processamento: lavagem do resíduo sólido com água destilada após a extração com NaOH seguido de centrifugação, e desgorduramento da torta antes de realizar a extração de proteína. O conteúdo de extrato etéreo da torta desgordurada foi de 1,05% (Tabela 24).

Tabela 24: Composição centesimal da torta de mamona desengordurada.

Componentes	Concentração (%b.s.)
MS	91,61±0,15
CZ	11,52±0,07
PB	41,71±0,24
EE	1,05±0,17

MS – matéria seca; CZ – cinzas; PB – proteína bruta; EE – extrato etéreo

Pode-se observar na Tabela 25 que maiores rendimentos foram encontrados quando a extração foi realizada utilizando-se baixa concentração de torta na solução extratora, a 50°C (Tratamento 3), e quando o resíduo foi submetido à lavagem com água destilada (Tratamento 5), o que significa que apesar da solubilização das proteínas, uma fração dessas ficou adsorvida nas partículas do resíduo seco, sendo então lixiviadas após a adição desses resíduos em água destilada. Por outro lado, o menor rendimento foi observado para a extração realizada a 30°C.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 25, a concentração de proteína extraída em pH 9 pode ser aumentada lavando-se o resíduo obtido após a extração ou usando concentrações de torta inferiores a 20% na solução extratora. Os extratos líquidos apresentaram teores de proteína (em base seca) e teores de cinza (em base seca) sem diferenças ($p>0,05$) entre os tratamentos (Tabela 25).

Lee et al. (2007) trabalharam na extração de proteína e de amido em duas variedades de lentilha empregando-se tratamento alcalino (NaOH) e verificaram que o efeito do aumento do pH (8 a 9,5) e da temperatura (22 a 40°C), promoveu um maior rendimento na extração da proteína que variou de 51,9 a 63,4%, efeito este semelhante aos encontrados neste trabalho. Horax et al. (2011) estudaram a extração de proteína na semente de melão maduro em diferentes pH (6-10) tratados com cloreto de sódio (NaCl) (0-2M), e obtiveram efeito similar aos acima citado, cujos valores variaram de 74 a 80% para o rendimento de proteína extraída.

Tabela 25: Composição das soluções proteicas obtidas por extração em pH 9 em diferentes condições de processamento.

Tratamento	Condições do processo de extração					Rendimento na extração de Proteína (%)	Composição do extrato líquido protéico		
	Velocidade de agitação (rpm)	Concentração da torta na solução extratora (%)	Temperatura de extração (°C)	Lavado do resíduo com água destilada após extração	Extração utilizando torta desengordurada		Matéria seca (%)	Proteína (b.s. %)	Cinzas (b.s. %)
1	400	20	50	-	-	20,57±0,57 ^{bc}	4,36±0,04 ^a	61,08±0,88 ^{ab}	9,77±2,23 ^a
2	600	20	50	-	-	19,16±0,54 ^c	4,35±0,19 ^a	62,43±4,33 ^{ab}	10,09±0,54 ^a
3	400	10	50	-	-	25,31±0,16 ^{ab}	1,93±0,02 ^c	63,98±0,61 ^a	11,23±0,08 ^a
4	400	20	30	-	-	11,43±4,16 ^d	3,25±0,08 ^b	56,93±0,69 ^b	7,81±0,97 ^a
5	400	20	50	X	-	27,32±0,72 ^a	3,04±0,33 ^b	63,65±2,41 ^{ab}	9,95±0,49 ^a
6	400	20	50	-	X	19,26±0,56 ^c	4,14±0,44 ^a	64,76±0,65 ^a	10,73±1,07 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05)

b.s. – base seca

5.4.2. Estudo do efeito do tipo de agente alcalinizante no processo de extração das proteínas, em pH 9.

Foi realizado um estudo do tipo do agente alcalinizante com hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de potássio (KOH) e hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2), somente em pH 9 para avaliar o rendimento na extração de proteína e dar continuidade nos estudos de extração de proteína da torta de mamona, visando encontrar a melhor extração entre os agentes alcalinizantes acima citados. Os extratos proteicos foram liofilizados e avaliados em seu rendimento.

Foram realizados testes de extração de proteínas da torta de mamona com soluções de hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de potássio (KOH) e hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2). As tortas foram adicionadas em água destilada e o pH ajustado para 9, e reajustado a cada 10 minutos durante o tempo de extração, utilizando-se soluções de NaOH (10%) e KOH (10%), enquanto que na extração com Ca(OH)_2 , a torta foi acrescentada diretamente em uma solução filtrada de hidróxido de cálcio (pH 12), resultando em um pH de 8,3, que diminuía a medida que transcorria a extração, atingindo pH de 7,3 após o término da extração. Os valores de conteúdo de matéria seca e proteína (base seca) dos extratos líquidos proteicos, e a quantidade de proteína na solução extratora coletada, comparada com a proteína presente em 100 gramas de material inicial, estão apresentados na Tabela 26.

Tabela 26: Resultados de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e dos rendimentos de proteína dos extratos protéicos obtidos com diferentes agentes alcalinizantes.

Agente alcalinizante	Matéria seca (%)	Proteína bruta (%MS)	Rendimento na extração de proteína (%)
NaOH	95,47±0,003	61,60±1,34	18,70
Ca(OH) ₂	96,69±0,067	49,49±0,83	8,40
KOH	96,56±0,019	60,12±0,50	19,60

NaOH – hidróxido de sódio; Ca(OH)₂ – hidróxido de cálcio; KOH – hidróxido de potássio

Considerando a dificuldade de utilização do Ca(OH)₂ e consequentemente, o baixo rendimento de extração da proteína, e que praticamente não houve diferença de rendimento de extração entre o NaOH e KOH, decidiu-se por continuar os estudos, para caracterização mais detalhada do processo de extração, apenas com NaOH.

5.4.3. Estudo do efeito de pH sobre o processo de extração de proteína utilizando solução de NaOH

Na continuação dos testes iniciais, foram avaliados outros parâmetros de extração, primeiro para mensurar a quantidade de proteína extraída em diferentes pH, e segundo, para aumentar a extração das proteínas.

Foram estudados a extração da proteína com o agente alcalinizante NaOH em diferentes pH (8, 9, 10 e 11), para verificar em qual dos pH haveria o melhor rendimento de proteínas extraídas a partir da torta de mamona.

Os processos de extração utilizando diferentes pH produziram soluções escuras, em virtude da coloração da própria matéria prima (Figura 34). A aparência visual destas soluções mudou em função do pH de extração das proteínas, apresentando uma cor marrom clara para pH (8 e 9), e uma cor marrom escura para pH (10 e 11). Observou-se, ainda, que as soluções protéicas obtidas em pH (8, 9 e 10) apresentaram precipitado fino no fundo de cada becker, em menor quantidade no pH 10.

Figura 34: Soluções protéicas obtidas em pH = 8, 9, 10 e 11, com NaOH.

De maneira geral, o aumento do pH contribuiu para o aumento do rendimento de extração de proteínas da torta de mamona (Figura 35). Entretanto, deve-se considerar que com o aumento do pH de 10 para 11 exigiu consumo considerável de soda.

Pode-se observar na Tabela 27, que os teores de proteína e matéria seca das soluções de extração aumentaram em função do aumento do pH. As soluções protéicas de pH (10 e 11) apresentaram maiores ($p < 0,05$) teores de proteína, não se observando diferenças entre seus valores em base seca. Não houve diferença ($p > 0,05$) entre as concentrações de cinzas nas soluções produzidas em pH (8, 9 e 10), porém, houve diferença ($p < 0,05$) entre estes valores e o valor observado para o pH 11. Muito possivelmente, o maior valor da concentração de cinzas na solução obtida em pH 11 pode ter sido consequência da grande quantidade de soda necessária para se atingir essa condição (Figura 35).

Figura 35: Consumo de solução de NaOH (mL) em relação à porcentagem de proteína extraída em diferentes condições de pH.

Vários autores também observaram altos rendimentos para extrações de proteínas realizadas em altos valores de pH, em estudos com semente de pimenta malagueta, de mostarda, de macadâmia e feijão guandu (FIRATLIGIL-DURMUS; EVRANUZ, 2010; MARNOCH; DIOSADY, 2006; BORA; RIBEIRO, 2004; MIZUBUTI et al., 2000).

Tabela 27: Composição de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) dos extratos proteicos liofilizado (EPL) obtidos em diferentes condições de pH.

Componentes (%MS)	pH			
	8	9	10	11
MS	96,38±0,06 ^a	95,64±0,04 ^b	94,48±0,13 ^c	92,69±0,01 ^d
PB	57,32±0,59 ^c	61,08±0,88 ^b	67,14±0,02 ^a	68,37±0,84 ^a
CZ	10,10±2,08 ^b	9,77±2,23 ^b	11,59±0,27 ^b	23,14±0,83 ^a

^{a-d} letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

Outros procedimentos foram relatados na literatura para aumentar o rendimento na extração de proteínas. Firatligil-Durmus e Evranuz (2010), Mizubuti et al. (2000) e Wani et al. (2008) avaliaram variáveis como temperatura (30 – 60°C), tempo de extração (5 – 60 minutos), proporção do solvente:torta (5:1 – 70:1), pH (2 – 9) e adição de NaCl (0 – 0,1M). A quantidade de proteína extraída variou em função dos parâmetros avaliados, sendo que o rendimento proteico foi principalmente afetado pelo pH e pela proporção solvente:torta, e menos afetado pelo tempo de extração. Esses autores relataram porcentagem máxima de proteína extraída de 47, 69 e 75% para semente de pimenta malagueta, semente de melancia e feijão guandu, respectivamente.

Após a extração das proteínas, houve a necessidade de se estudar a composição bromatológica do resíduo (decantado) obtido em diferentes pH (Tabela 28). As soluções proteicas (sobrenadante) foram separadas e liofilizadas e, o resíduo foi seco e moído. Vale ressaltar, que este resíduo poderá ser aproveitado na alimentação animal, sendo este estudo um dos objetivos desta pesquisa.

Os resultados das análises da composição do resíduo do processo de extração de proteínas (Tabela 28), utilizando-se NaOH em quatro condições de pH, indicaram que o

aumento do pH de extração implicou em menores ($p<0,05$) teores de proteína nos resíduos, ou seja, a extração de proteínas foi mais eficiente com o emprego de condições mais alcalinas (Tabela 27). Por outro lado, não houve diferenças significativas entre a matéria seca nos diferentes pH, e apesar das diferenças significativas em relação aos teores de cinzas no resíduo, esses variaram entre 12 e 14%.

Tabela 28: Composição de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) dos resíduos obtidos após extração de proteína da torta de mamona em diferentes condições de pH.

Componentes (%MS)	pH			
	8	9	10	11
MS	91,44±1,01 ^a	93,89±1,30 ^a	91,58±1,08 ^a	91,44±2,65 ^a
PB	36,26±1,08 ^a	33,40±0,44 ^b	30,79±1,09 ^c	25,84±0,42 ^d
MM	12,60±0,54 ^{ab}	11,91±0,25 ^b	13,40±0,35 ^a	13,55±0,18 ^a

a-d, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes ($p<0,05$). Condições da extração de proteína: Solução extratora - Hidróxido de sódio (10%), concentração da torta na solução - 20 %, Tempo de extração - 30 minutos; Temperatura da extração - 50°C.

Foi realizado um estudo para se verificar o efeito de outros parâmetros do processo de extração sobre a composição do resíduo. Este estudo foi feito mantendo-se constante a alcalinidade da solução de extração (pH 9). Os resultados estão apresentados na Tabela 29, onde se pode observar que as mudanças nas condições de extração influenciaram significativamente o teor de proteína no resíduo, sendo que se observou menor porcentagem de proteína retida no resíduo lavado, após a extração, com água destilada.

Pode-se observar que o resíduo reteve entre 67 e 77% das proteínas presentes na torta de mamona (Tabela 29). Estes valores indicariam que a proteína deve estar interagindo fortemente com outros compostos presentes na torta, ou ainda, por estarem fechadas dentro de células/organelas, conforme resultados da microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura

31), o que dificultaria sua solubilização. Como a remoção da gordura da torta não resultou em rendimentos altos de proteína sugere que outros componentes como fibras e amido devem estar interagindo fortemente com a proteína dificultando sua remoção. Melo et al. (2008a) e Melo et al. (2008b) avaliaram os teores de amido na torta de mamona com vistas ao seu aproveitamento como fonte de açúcares fermentáveis para produção de bioetanol e encontraram teores de amido de 48% (em base seca), determinada de acordo com a metodologia enzimático-colorimétrica.

Rickert et al. (2004), verificando o efeito da extração com NaOH em diferentes pH (8,5; 9,5; ou 10,5) e temperatura de extração (25°C ou 60°C) na produção de proteína isolada de soja, observaram que havia aumento na extração da proteína à medida que se aumentava o pH e a temperatura. O mesmo efeito, de aumento na extração de proteína, foi também verificado nesta pesquisa, ao utilizar NaOH 20%, nos pH 10, 11 e 12 e temperatura de 50°C.

Tabela 29: Composição do resíduo obtido após extração de proteína da torta de mamona e porcentagem de proteína retida no resíduo em diferentes condições de processamento.

Tratamento	Condições do processo de extração					Proteína retida no resíduo (%)	Composição do resíduo		
	Velocidade de agitação (rpm)	Concentração da torta na solução de extração (%)	Temperatura de extração (°C)	Lavagem do resíduo com água destilada após extração	Extração utilizando torta desengordurada		Matéria seca (%)	Proteína (b.s.%)	Cinzas (b.s. %)
1	400	20	50	-	-	72,95±1,40 ^{ab}	93,89±1,30 ^a	33,40±0,44 ^{ab}	11,91±0,25 ^b
2	600	20	50	-	-	77,70 ± 0,59 ^a	93,26±0,36 ^a	35,27 ± 1,28 ^a	12,17±0,16 ^{ab}
3	400	10	50	-	-	70,72b± 2,54 ^c	93,85±0,67 ^a	34,49 ± 1,08 ^{ab}	12,31±0,01 ^{ab}
4	400	20	30	-	-	77,13 ± 1,36 ^a	93,74±0,47 ^a	34,62± 0,68 ^{ab}	11,85±0,45 ^b
5	400	20	50	X	-	68,64±1,28 ^{bc}	93,90±1,36 ^a	32,39 ± 0,24 ^b	12,49±0,24 ^{ab}
6	400	20	50	-	X	67,16 ± 2,06 ^c	93,05±1,56 ^a	34,85 ± 0,85 ^a	12,88 ± 0,38 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05)

b.s. – base seca

5.4.4. Estudo do efeito do agente (KOH e NaOH) e de pH (10, 11 e 12) no processo de extração de proteínas

5.4.4.1. Caracterização bromatológica dos extratos de proteína liofilizados (EPL) e dos resíduos obtidos

Definidos os parâmetros de extração da proteína e dos resíduos obtidos, optou-se pela utilização do NaOH e KOH, pois ambos os agentes alcalinizantes apresentaram valores e rendimentos de proteínas semelhantes (Tabela 26). Entretanto, decidiu-se acrescentar o pH 12 e verificar seu efeito na extração de proteína, pois após o estudo com os pH (8, 9, 10 e 11), notou-se que com o aumento do pH havia o aumento do rendimento de extração de proteína da torta de mamona. Em relação ao pH (8 e 9), foi verificado que a continuidade deste estudo seria inviável devido a baixa extração de proteínas.

A partir desta etapa foram realizadas as extrações com dois agentes alcalinos, a saber: hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH) em diferentes pH (10, 11 e 12). As composições bromatológicas das proteínas extraídas e dos resíduos estão apresentadas na Tabela 30 e 31.

Tabela 30: Composição bromatológica dos extratos de proteína liofilizado (EPL) da torta de mamona obtidos com os agentes alcalinos KOH e NaOH nos pH (10, 11 e 12).

Componentes (%MS)					
Agente Alcalino	Matéria seca (MS)	Cinzas (CZ)	Extrato etéreo (EE)	Proteína bruta (PB) ¹	Nitrogênio não proteico (NNP) ²
KOH pH 10	92,40±0,39 ^b	12,89±1,60 ^{dc}	1,39±0,16 ^{ba}	65,30±0,52 ^c	1,11±0,04 ^{bc}
KOH pH 11	92,40±0,31 ^b	15,23±0,51 ^{bc}	1,77±0,23 ^a	67,41±0,23 ^{ba}	1,10±0,01 ^{bc}
KOH pH 12	93,70±0,17 ^{ba}	16,61±0,32 ^{ba}	0,54±0,14 ^c	66,63±0,09 ^b	1,03±0,01 ^c
NaOH pH 10	93,50±0,39 ^{ba}	10,60±0,05 ^d	0,94±0,23 ^{bac}	64,43±0,64 ^c	1,70±0,24 ^a
NaOH pH 11	94,55±0,98 ^a	18,59±0,35 ^a	1,67±0,39 ^a	68,21±0,12 ^a	1,04±0,01 ^c
NaOH pH 12	93,48±0,15 ^{ba}	18,37±0,16 ^a	0,78±0,06 ^{bc}	67,76±0,28 ^{ba}	1,39±0,07 ^{ba}

^{a,b,c,d} letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05)

(¹) - Valor de conversão de 6,25 e (²) % de proteína.

De maneira geral, o aumento do pH das soluções de extração provocaram maiores valores dos teores de PB e de CZ. O aumento do pH deve ter contribuído para melhor solubilização das proteínas, facilitando sua extração. Por outro lado, pode-se sugerir que o aumento da quantidade de base utilizada para elevação do pH deve ter contribuído para o aumento dos teores de CZ (Tabela 30).

Os valores de MS nos tratamentos estudados variaram de 92 a 94%, não havendo diferenças (p>0,05) entre elas, sendo similar ao obtido em isolado proteico de girassol (MS=94%) (AYHLLON-MEIXUEIRO; VACA-GARCIA; SILVESTRE, 2000; ORLIAC et al., 2002; ORLIAC et al., 2003).

Os teores de CZ no EPL de torta de mamona estudados variaram de 12 a 18% nos diferentes tratamentos estudados, sendo que o que se apresentou em maior valor foi o

tratamento com o agente alcalino NaOH pH 11 e 12 (Tabela 30), porém estes dados foram maiores que os isolados proteicos de girassol e colza, e também para o concentrado proteico de tremoço (CZ=7,6; 7,3 e 2,38, respectivamente) (AYHLLON-MEIXUEIRO; VACA-GARCIA; SILVESTRE, 2000; BARBIN; NATSCHI; MÜLLER, 2011; ORLIAC et al., 2002, ORLIAC et al., 2003; WÄSCHE et al., 1998). A diferença nos teores de CZ entre os isolados proteicos e o EPL desse estudo foi justificada por diferenças no pH da extração das proteínas.

Observou-se que houve diferença ($p<0,05$) para o extrato etéreo apenas no pH 12, cujos valores foram de 0,54 e 0,75% para KOH e NaOH, nesta ordem, valores estes próximos ao encontrados para o farelo de mamona (Tabela 14), sugerindo que o EPL não apresenta alto teor de lipídeos. O conteúdo de nitrogênio não-proteico (NNP) encontrado no EPL foi relacionado a desnaturação das proteínas em decorrência do elevado pH de extração, que variou de 1,03 a 1,70%, não havendo muita variação entre os tratamentos. Os valores de EE do EPL desse estudo foram próximos ao valor de lipídeos para isolado proteico de girassol (EE=0,6%), mas foi inferior ao observado para o concentrado proteico de semente de cupuaçu (EE=3,83%) (AYHLLON-MEIXUEIRO; VACA-GARCIA; SILVESTRE, 2000; CARVALHO et al., 2009; ORLIAC et al., 2002, ORLIAC et al., 2003). Os valores encontrados para o EE do concentrado de cupuaçu estão relacionados com o processo de extração do óleo desta semente. Pois, a torta de girassol e a torta de mamona foram oriundas de processos industriais que visam o maior rendimento em termos de extração de óleos. Enquanto que a torta de cupuaçu foi obtida em escala laboratorial, ou seja, a extração do óleo foi realizada seguindo um protocolo menos agressivo.

Desta forma, pode-se considerar que os extratos proteicos liofilizados (EPL) constituíram concentrados proteicos, por terem concentração de PB entre 64 e 68%,

apresentando bons resultados de extração para todos os pH e para os dois agentes alcalinizantes.

Ayhlhon-Meixueiro, Vaca-Garcia e Silvestre (2000) produziram isolados proteicos de torta de girassol com teor de PB de 90%. O mesmo resultado foi obtido por Orliac et al. (2002) trabalhando também com torta de girassol. Ainda em estudos envolvendo torta de girassol, Orliac et al. (2003) produziram um isolado com 84% de proteínas, valores estes superiores aos encontrados nesta pesquisa.

Lestari, Mulder e Sanders (2011) trabalhando com isolado proteico de torta de pinhão-manso encontraram valores de proteínas de 97,7%, Wäsche et al. (1998) e Barbin, Natsch e Müller (2011) estudando a extração de proteínas da torta de colza obtiveram isolados com teores de proteínas de 40,7 e 63,6%, respectivamente.

Neves, Lourenço e Silva (2001) caracterizaram o extrato líquido elaborado a partir da extração de proteínas de tremço. A PB obtida foi de 66%, resultado semelhante ao encontrado no EPL deste trabalho. Carvalho et al. (2009) estudaram o extrato proteico obtido de sementes de cupuaçu, com teor de PB equivalente à 31,18%, inferior ao encontrado para EPL. Firatligil-Durmus e Evranuz (2010) encontraram valores de PB de 57% no isolado proteico de farinha desengordurada de semente de pimenta. As diferenças encontradas nos valores de PB podem ser atribuídas à solubilidade das proteínas e também ao tipo de extração realizada.

Embora as análises de FB, FDA e FDN tenham sido realizadas para as proteínas geradas na extração da proteína da torta de mamona, foram detectados valores inferiores a 1%. Estes valores obtidos podem ser atribuídos à solubilização parcial da hemicelulose, celulose e lignina da parede celular (VAN SOEST; FERREIRA; HARTLET, 1984).

Os resultados das análises da composição bromatológica dos resíduos de extração das proteínas da torta de mamona com hidróxido de potássio (KOH) e hidróxido de sódio (NaOH), em pH 10, 11 e 12, podem ser observados na Tabela 31, onde se verifica que os teores de MS dos resíduos são elevados, variando de 90 a 93%, e que a umidade variou de 7 a 9%, sendo favoráveis ao armazenamento, ou seja, é possível a conservação por um longo período de tempo. Os teores de MS dependem do tempo de exposição à secagem e das condições de armazenamento (GOMES et al., 2009).

Quanto aos teores de CZ, foi observado (Tabela 31), que não houve grande variação (11 a 16%), tendo destaque os pH 12 dos dois agentes alcalinos. O processo de extração implicou em menores ($P < 0,05$) teores de CZ, nos resíduos com NaOH. Valores semelhantes foram observados por Costa et al. (2004a), que encontraram teores de CZ iguais a 12,11%. Estes valores estão de acordo com Oliveira et al. (2010b), que encontraram valores de CZ de 11,63 em torta de mamona tratado com Ca(OH)_2 .

As amostras analisadas neste estudo apresentaram baixo teor de extrato etéreo (1 a 2%), havendo diferenças ($p > 0,05$) apenas para o tratamento com NaOH pH 12, valores estes considerados satisfatórios para o resíduo de mamona, pois a presença de resíduos de óleo em teor elevado pode também ser considerado um fator anti-nutricional na torta de mamona, provocando quadros de diarreias, além de toxidez (ricina e ricinina) e da alergenicidade (proteína alergênica CB1A (AZEVEDO; BELTRÃO, 2007; COSTA et al, 2004a). Após destoxificação a torta de mamona poderá ser utilizada para uso rotineiro na alimentação de ruminantes e de outras criações como piscicultura e avicultura (BANDEIRA et al., 2004). Os valores de extrato etéreo (EE) encontrados foram inferiores aos encontrados por Oliveira et al. (2010b) para a torta de mamona tratada (5,48%).

Verificou-se alto teor de proteína (20 a 34%), sendo que estes resíduos continuam sendo alimentos com alto valor proteico, estando bem acima dos 7% exigidos para um bom funcionamento ruminal (VAN SOEST, 1994) e para animais de produção, destacando os tratamentos KOH pH 10 e NaOH pH 10 cujos valores foram 31-34%, respectivamente e em menores valores para o pH 12. Chierice e Neto (2001) analisando as características químicas deste subproduto, torta de mamona, após a retirada das toxinas e alergênicos, obteve um teor de proteína de 43,0%.

O aumento do pH tendeu a provocar redução do teor de proteína no resíduo, em virtude do maior rendimento de extração. Mas, ainda assim, esse resíduo apresentou teor de proteína adequado para alimentação animal, desde que não apresente nenhuma toxicidade. Oliveira et al. (2006), trabalhando com dietas para ovinos, obtiveram aumento no consumo de PB, quando da inclusão de 100% de farelo e torta de mamona, tratados com hidróxido de cálcio, em substituição ao farelo de soja, devido a maior aproveitamento da dieta pelos animais porque o hidróxido de cálcio proporciona hidrólise alcalina do farelo (CÂNDIDO et al., 2008). Os resíduos apresentaram menores valores de proteínas em relação à torta devido à extração das proteínas por solubilização em meio alcalino. No entanto, mesmo assim, os resíduos ainda apresentaram teores de proteínas elevados. Oliveira et al. (2010b), encontraram valores de PB para a torta de mamona tratada com Ca(OH)_2 (34,03%), este dado foi similar ao encontrado no resíduo tratado com NaOH pH 10.

Tabela 31 (continua): Composição bromatológica do resíduo da extração de proteína da torta de mamona em diferentes pH.

Componentes (%MS)							
Agente							
Alcalino	MS	CZ	EE	FB	PB	ENN	NNP
KOH pH 10	93,62±1,37 ^a	12,32±0,14 ^c	1,62±0,13 ^{bac}	39,68±0,37 ^a	31,58±0,56 ^b	14,80±0,73 ^b	0,17±0,01 ^b
KOH pH 11	92,51±0,20 ^{ba}	13,97±0,36 ^b	1,50±0,22 ^{bc}	40,46±0,22 ^a	30,38±0,69 ^b	13,69±1,33 ^b	0,20±0,01 ^{ba}
KOH pH 12	93,07±0,15 ^{ba}	16,63±0,43 ^a	1,82±0,02 ^{ba}	41,85±1,90 ^a	24,52±0,92 ^c	15,16±1,23 ^b	0,16±0,01 ^b
NaOH pH 10	93,40±0,54 ^a	11,72±0,27 ^c	2,17±0,36 ^a	38,74±0,77 ^a	34,08±0,45 ^a	13,29±0,74 ^b	0,24±0,02 ^a
NaOH pH 11	93,40±0,34 ^a	12,74±0,18 ^c	1,89±0,14 ^{ba}	40,51±0,90 ^a	30,34±0,54 ^b	14,51±0,53 ^b	0,18±0,01 ^b
NaOH pH 12	90,95±0,59 ^b	14,38±0,52 ^b	1,10±0,14 ^c	41,72±0,25 ^a	20,72±1,09 ^d	22,08±0,71 ^a	0,22±0,03 ^{ba}

Componentes (%MS)							
Agente							
Alcalino	FDN	NFDN	FDA	NFDA	LDA	Celul	Hemicel
KOH pH 10	49,37±0,62 ^c	1,15±0,11 ^{cb}	48,05±0,92 ^{ba}	0,60±0,08 ^b	27,67±1,13 ^b	12,50±0,58 ^{cd}	1,32±1,04 ^c
KOH pH 11	57,29±0,31 ^a	1,57±0,10 ^a	47,67±0,90 ^{ba}	0,59±0,10 ^b	28,54±0,42 ^{ba}	13,16±0,27 ^{bcd}	9,61±0,89 ^a
KOH pH 12	57,29±0,16 ^a	1,21±0,05 ^b	49,98±2,23 ^a	0,59± 0,08 ^b	31,04±0,57 ^a	15,52±0,47 ^a	7,31±2,28 ^b
NaOH pH 10	57,21±0,31 ^a	0,84±0,01 ^c	46,19±0,06 ^b	0,98±0,10 ^a	30,42±1,90 ^{ba}	11,51±0,72 ^d	11,02±0,31 ^a
NaOH pH 11	55,76±0,34 ^a	1,18±0,11 ^{cb}	48,51±0,83 ^{ba}	1,17±0,16 ^a	28,66±0,14 ^{ba}	13,44±0,20 ^{bc}	7,24±0,62 ^b
NaOH pH 12	53,03±1,17 ^b	0,87±0,16 ^{cb}	45,65±0,41 ^b	0,47±0,01 ^b	29,27±0,22 ^{ba}	14,24±0,51 ^{ba}	7,38±0,90 ^b

^{a,b,c,d} letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05)

Os teores de FDN (Tabela 31) tiveram variações de 49 a 57% para o KOH e de 53 a 57% para NaOH. Estes teores diminuíram à medida que se aumentou o pH, ocorrendo menor concentração de fibras. Entretanto os teores de FDA não foram diferentes ($p < 0,05$). Estes resultados variaram de 45 a 50%.

O tratamento com KOH pH 10 resultou em teores de FDN (49,37%) menores que os tratamentos com NaOH (57,21%) com o mesmo pH e próximos ao encontrado na torta de mamona fracionadas (Tabela 18). Entretanto os valores de FDA não apresentaram resultados significativos para ambos os agentes alcalinizantes em pH 10, podendo ser considerados altos. Provavelmente a torta de mamona ainda apresente grande quantidade de casca em sua composição, elevando o teor de fibras insolúveis e também se pode sugerir que os resíduos contenham pectina, ou ainda explicada pela elevada temperatura utilizada na extração do óleo, podendo apresentar altos valores de fibras insolúveis, já que os resíduos apresentaram também altos teores de lignina variando de 27 a 31%, podendo ocorrer a reação de Maillard. Os valores de FDN e de FDA deste trabalho foram superiores aos encontrados por Reis (2008), para o farelo de mamona destoxificado (FDN= 38,26% e FDA = 33,46%), tratado com hidróxido de cálcio, quando utilizado em dietas para ovinos.

Gomes et al. (2009) encontraram dados de fibras com tortas de mamona tostada e cozida, respectivamente, 19,7% e 43,9% de FDN e FDA de 17,5% e 36,5%, valores estes bem inferiores aos encontrados nesta pesquisa. Os valores de FDN estão de acordo com os valores encontrados por Oliveira et al. (2010b) (56,41%) e aos valores de FDA estão superiores aos encontrados pelos mesmos autores (43,34%).

Para a lignina (Tabela 31), houve diferença significativa no pH 12 para o tratamento com KOH (31,04%) sendo este superior ao NaOH (29,26%), também para o pH 10, cujos valores foram de 27,67% e 30,42%, para os tratamentos citados acima. Os valores de LDA encontrado no KOH pH 12 foi o mesmo valor encontrado na torta de mamona não fracionada

(31,66%). Oliveira et al. (2010b) encontrou valor de 3,86% para a lignina da torta de mamona tratada com 40g de $\text{Ca(OH)}_2/\text{Kg}$, sendo inferior ao desta pesquisa.

Segundo Mizubuti et al. (2011), a presença de lignina tende a aumentar a fração indigerível, reduzindo, dessa forma a fração potencialmente digerível. Estes mesmos autores trabalhando com torta de girassol e farelo de cambre encontraram valores, respectivamente, de lignina de 15,22 e 10,98% e menores valores para a torta de soja (1,25%). Todos estes valores foram inferiores ao do resíduo de extração de proteína da torta de mamona encontrado neste trabalho.

O teor de celulose não apresentou muita variação entre os resíduos estudados, tendo destaque o pH 12 de ambos os agentes alcalinizantes (KOH e NaOH) (15,52 e 14,14%, respectivamente), apresentando menores valores para o NaOH pH 10 (11,51%), valor este semelhante ao encontrado para a torta de mamona fracionada (10,45%).

Quanto aos dados de hemicelulose, pode-se observar que os teores dessa fibra foram bastante variáveis, apresentando valores mínimos para o KOH pH 10 (1,32%) e máximo para o NaOH pH 10 (11%). O KOH pH 12 apresentou valor semelhante ao NaOH pH 12. O teor de hemicelulose KOH pH 11 (Tabela 31) foi semelhante ao encontrado na torta de mamona fracionada (9,51%).

A torta destoxificada ou resíduo da torta apresenta potencial para serem utilizados na alimentação animal, principalmente em relação ao teor de proteína (Tabela 31), minerais e aminoácidos, tendo bom indicativo para substituir parcialmente o farelo de soja.

5.4.4.2. Composições de macro e micro minerais dos EPL e dos resíduos

Na Tabela 32 e 33 encontram-se os resultados referentes aos teores de macro minerais e micro minerais do extrato proteico liofilizado (EPL) da torta de mamona. Observou-se que houve diferença ($p < 0,05$) para todos os minerais nos diferentes tratamentos.

O Na apresentou menores valores para o agente alcalino KOH pH 10 e 11, com valores de 0,12%, valores estes bem inferiores aos outros tratamentos. Os maiores valores para o Na foram obtidos para o NaOH, variando de 2,40 a 5,99 %, respectivamente. Para o Ca houve diferença ($p < 0,05$) para o KOH pH 12 (0,30%) com valor inferior aos outros pH e para o NaOH pH 12 com valor superior aos demais (0,39%).

Dos macros minerais mais abundantes nas EPL, o N (10%) apresentou os maiores valores para todos os tratamentos. O mineral P apresentou valores que variaram de 0,16 a 0,21%. Estes valores foram inferiores aos determinados (0,80%) por Oliveira et al. (2010b). Os minerais K variaram de 0,96 a 4,35%, respectivamente, valores similares foram determinados (0,97%), por Oliveira et al. (2010b) próximo ao NaOH pH 12 (Tabela 32). Os conteúdos de Mg variaram de 0,14 a 0,25% com maiores valores para o NaOH pH 12.

Tabela 32: Teores de macrominerais dos EPL extraídos da torta de mamona.

Agente Alcalino	Componentes (%MS)					
	Sódio (Na)	Magnésio (Mg)	Nitrogênio (N)	Fósforo (P)	Potássio (K)	Cálcio (Ca)
KOH pH 10	0,12±0,00 ^d	0,18±0,00 ^c	10,45±0,08 ^c	0,20±0,00 ^{bc}	3,09±0,03 ^c	0,35±0,01 ^{cb}
KOH pH 11	0,12±0,01 ^d	0,20±0,01 ^b	10,78±0,04 ^a	0,21±0,00 ^{ba}	3,89±0,00 ^b	0,32±0,00 ^{cd}
KOH pH 12	1,02±0,02 ^c	0,17±0,00 ^c	10,66±0,01 ^b	0,21±0,00 ^a	4,35±0,00 ^a	0,30±0,00 ^d
NaOH pH 10	2,40±0,15 ^b	0,16±0,01 ^d	10,31±0,10 ^c	0,16±0,00 ^d	1,39±0,00 ^e	0,36±0,00 ^b
NaOH pH 11	2,67±0,01 ^b	0,14±0,00 ^e	10,91±0,02 ^a	0,21±0,00 ^{ba}	1,60±0,01 ^d	0,34±0,00 ^{cb}
NaOH pH 12	5,99±0,02 ^a	0,25±0,00 ^a	10,84±0,05 ^a	0,20±0,00 ^c	0,96±0,07 ^f	0,39±0,02 ^a

^{a,b,c,d,e} letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05)

Houve diferença estatística para todos os resultados dos micros minerais (Tabela 33).

O Fe foi o micro mineral que se apresentou em valores maiores, com variação de 324 a 386 mg/g. Foi observado que o tratamento com NaOH pH 12 apresentou os maiores valores para o Fe (386,60 mg/g) e para o Zn (169,75 mg/g).

Tabela 33: Teores de microminerais dos EPL extraídos da torta de mamona.

Componentes (mg/g)				
Agente	Ferro	Zinco	Manganês	Cobre
Alcalino	Fe (mg/g)	Zn (mg/g)	Mn (mg/g)	Cu (mg/g)
KOH pH 10	334,38±045 ^d	74,26±0,23 ^e	17,53±0,02 ^f	99,40±0,18 ^a
KOH pH 11	366,52±0,06 ^c	121,52±0,41 ^b	33,40±0,10 ^c	81,58±0,16 ^c
KOH pH 12	377,40±0,60 ^b	95,46±0,33 ^c	43,51±031 ^a	37,46±0,14 ^d
NaOH pH 10	324,99±2,10 ^e	86,80±1,14 ^d	21,40±0,21 ^d	84,06±2,74 ^{cb}
NaOH pH 11	338,48±2,09 ^d	65,93±0,47 ^f	19,57±0,29 ^e	86,35±0,489 ^b
NaOH pH 12	386,60±0,29 ^a	169,75±0,82 ^a	40,18±0,09 ^b	83,05±0,65 ^{cb}

^{a,b,c,d,e,f} letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05)

As quantidades de minerais encontradas nos resíduos são consideradas razoáveis (Tabela 34 e 35), isto é, o resíduo pode ser ainda considerado rico em minerais para a alimentação animal (desde que não haja toxicidade).

Para os macrominerais, com o aumento do pH, observou-se aumento na quantidade de cinzas e dos elementos P, Na e K, dependendo da base utilizada (Tabela 34). Ao se analisar os cátions K e Na, observou-se que o aumento do pH para 12, provocou aumento em relação aos demais pH para ambos os agentes alcalinos. O Na apresentou maiores valores em relação aos demais tratamentos (2,53%, para o agente NaOH pH 12).

O K apresentou diferença (p<0,05) para os tratamentos com KOH (1,64; 2,12 e 3,47%, respectivamente), em função do pH (10, 11 e 12), superiores aos obtidos para o tratamentos com NaOH que não tiveram variação entre os pH estudados. Vieira, Cabral e Paula (1999) trabalharam com diversos cultivares de soja e encontraram valores que variaram de 1,57 a 1,82%, inferiores ao resíduos da torta de mamona estudados nesta pesquisa.

Observou-se que apesar do leve aumento nos teores de Ca e P em relação à torta de mamona (Tabela 19), a relação cálcio/fósforo (Ca/P) manteve-se dentro da faixa considerada adequada para utilização dos referidos nutrientes nos resíduos (VAN SOEST, 1994). Segundo NRC (2001), a relação Ca/P pode variar de 1:1 até 8:1, desde que a dieta supra a demanda de fósforo, sem interferir no desempenho dos animais ruminantes. A relação Ca/P obtida para o resíduo da torta de mamona, neste trabalho, variou de 1,14:1 a 1,41:1 considerada nutricionalmente adequada.

Os teores do mineral Mg variaram de 0,38 a 0,50%. Estes valores são similares aos encontrados por Oliveira et al. (2010b) que encontraram valores de 0,44% para mamona tratada com Ca(OH)_2 .

Tabela 34: Composição de macrominerais dos resíduos da extração de proteína da torta de mamona.

Agente Alcalino	Componentes (%MS)					
	Sódio (Na)	Magnésio (Mg)	Nitrogênio (N)	Fósforo (P)	Potássio (K)	Cálcio (Ca)
KOH pH 10	0,36±0,00 ^d	0,42±0,00 ^c	5,05±0,09 ^b	0,70±0,00 ^c	1,64±0,01 ^c	0,99±0,01 ^a
KOH pH 11	0,40±0,00 ^d	0,50±0,00 ^a	4,86±0,11 ^b	0,71±0,02 ^c	2,12±0,00 ^b	0,92±0,00 ^{cb}
KOH pH 12	0,42±0,00 ^d	0,38±0,00 ^d	3,92±0,15 ^c	0,78±0,02 ^a	3,47±0,02 ^a	0,94±0,00 ^b
NaOH pH 10	0,67±0,01 ^c	0,43±0,01 ^c	5,45±0,07 ^a	0,71±0,00 ^c	0,65±0,01 ^d	0,81±0,01 ^e
NaOH pH 11	2,10±0,01 ^b	0,45±0,01 ^b	4,85±0,09 ^b	0,74±0,01 ^b	0,65±0,01 ^d	0,87±0,01 ^d
NaOH pH 12	2,53±0,01 ^a	0,46±0,01 ^b	3,32±0,14 ^d	0,79±0,01 ^a	0,64±0,01 ^d	0,91±0,01 ^c

^{a,b,c,d,e} letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes ($p < 0,05$)

Entre os micro minerais (Tabela 35), o Fe foi o mineral mais abundante entre todos os tratamentos, com teor máximo de 3295,2 mg/g para o KOH 11, e mínimo para o NaOH 10, havendo diferença ($p < 0,05$) em todos os tratamentos, sendo maior nos pH 11 e 12 para o agente alcalino KOH, que foi de aproximadamente 65% em relação ao NaOH.

Tabela 35: Composição de microminerais dos resíduos da extração de proteína da torta de mamona.

Componentes (mg/g)				
Agente	Ferro	Zinco	Manganês	Cobre
Alcalino	Fe (mg/g)	Zn (mg/g)	Mn (mg/g)	Cu (mg/g)
KOH pH 10	1,766,5±0,69 ^e	120,64±0,31 ^b	81,97±0,02 ^e	14,41±0,26 ^b
KOH pH 11	3,295,2±2,33 ^a	134,63±0,74 ^a	83,13±0,36 ^d	11,43±0,16 ^c
KOH pH 12	3,025,7±0,56 ^b	106,30±0,37 ^d	86,05±0,10 ^c	10,79±0,17 ^c
NaOH pH 10	1,654,8±0,24 ^f	111,87±0,10 ^c	87,62±0,30 ^b	20,56±0,15 ^a
NaOH pH 11	2,056,7±1,52 ^d	93,63±0,16 ^e	85,52±0,23 ^c	13,86±2,68 ^{cb}
NaOH pH 12	2,141,8±8,66 ^c	75,67±0,39 ^f	94,83±0,13 ^a	16,25±0,08 ^b

^{a,b,c,d,e,f} letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes ($p < 0,05$)

Os conteúdos de Zn, Mn e Cu variaram de 76 a 134mg/g, de 82 a 95mg/g e de 10 a 21mg/g, respectivamente. Quando se elevou o pH com o agente alcalinizante NaOH, os teores de Zn diminuíram, sendo que para o Mn com agente alcalinizante KOH estes teores aumentaram e para o Cu este efeito diminuiu para o mesmo agente alcalinizante.

A elevada variação entre os minerais encontrados nos diversos pH pode estar relacionada com a quantidade de agentes alcalinizantes utilizadas para se extrair a proteína.

5.4.4.3. Composição dos teores de amido e compostos fenólicos dos extratos proteicos liofilizados (EPL) e dos resíduos

De maneira geral, os teores de amido nos EPL variaram entre 1,35 e 4,52% (Tabela 36), sendo que o tratamento que apresentou maiores valores foi com o agente alcalino KOH em pH 11 e 12. Observou-se valores inferiores de amido para o agente alcalino NaOH em relação ao KOH, para todos os pH empregados. Apesar de ser um biopolímero insolúvel em água, o amido pode gelatinizar, e, portanto se solubilizar com o aquecimento em excesso de água, e inclusive, a frio quando o meio for alcalino, isto é, na presença de bases fortes, o que foi o caso do presente estudo. De maneira geral, o KOH extraiu mais amido que o NaOH.

Os compostos fenólicos também foram determinados nos EPL (Tabela 36). De uma maneira geral, os teores de compostos fenólicos nos EPL variaram entre 1,8 e 3,6%, sendo que com o agente alcalino NaOH, a concentração dos compostos fenólicos foram maiores, havendo destaque para o NaOH pH 10, cujo valor foi de 3,57 58mg de EAG /100g⁻¹ (Tabela 36). Provavelmente, a presença desses componentes nos extratos permite explicar a coloração escura da dispersão, conforme pode ser observado na Figura 34.

Tabela 36: Composição dos teores de amido e fenólicos dos EPL em diferentes pH.

Agente alcalino	Teores	
	Amido (%)	Fenólicos (mg EAG/100g ⁻¹)*
KOH pH 10	3,69±0,69 ^{ba}	2,36±0,08 ^c
KOH pH 11	2,73±0,71 ^{bc}	2,55±0,07 ^{cb}
KOH pH 12	4,52±0,52 ^a	1,79±0,03 ^d
NaOH pH 10	2,64±1,05 ^{bc}	3,57±0,12 ^a
NaOH pH 11	1,35±0,21 ^c	2,77±0,30 ^b
NaOH pH 12	2,29±0,40 ^c	2,74±0,09 ^b

^{a,b,c,d} letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

*mg EAG/100g⁻¹ (EAG = Equivalentes de ácido gálico)

Certamente em função da extração das proteínas e de outros componentes, os resíduos do processo de extração apresentaram teores relativamente elevados de amido, variando de 2,5 a 10,4% (Tabela 37), havendo destaque para o agente alcalino KOH pH 11 e 12, em que os resultados de amido foram superiores aos encontrados nos tratamentos com NaOH. Pode-se observar que com o KOH, os teores de amido foram superiores aos encontrados no EPL (Tabela 36). Os resíduos apresentaram teores de compostos fenólicos entre 0,6 e 1,7mg EAG/100g⁻¹, ligeiramente inferiores ao observado nos EPL. Havendo diferença (p<0,05) apenas no agente alcalino NaOH pH 11 e 12, com valores de 0,58 a 0,837mg EAG/100g⁻¹, respectivamente.

Tabela 37: Composição dos teores de amido e fenólicos dos resíduos extraídos em diferentes pH.

Agente alcalino	Teores	
	Amido (%)	Fenólicos (mg EAG/100g ⁻¹)*
KOH pH 10	6,98±0,63 ^b	1,37±0,52 ^a
KOH pH 11	10,13±0,42 ^a	1,66±0,08 ^a
KOH pH 12	10,43±0,91 ^a	1,44±0,14 ^a
NaOH pH 10	2,52±0,50 ^c	1,27±0,03 ^a
NaOH pH 11	2,55±0,38 ^c	0,83±0,02 ^b
NaOH pH 12	3,51±0,69 ^c	0,58±0,03 ^b

^{a,b}, letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

*mg EAG/100g⁻¹ (EAG = Equivalentes de ácido gálico)

Os compostos fenólicos se apresentam em vários tecidos utilizados como alimento pelos animais e são distribuídos nas plantas. As substâncias dos compostos fenólicos se distribuem nas folhas, ramos, flores, frutos e sementes de grande número de plantas. São substâncias ativas e que, em formas reduzidas ou oxidadas, podem reagir, reversível ou irreversivelmente, com proteínas, produzindo alterações em suas propriedades funcionais e nutricionais, principalmente sua digestibilidade e a biodisponibilidade de lisina e de outros aminoácidos essenciais (SGARBIERI, 1996). Rockenbach et al. (2008) citaram que podem ser encontradas diferenças entre variedades, região geográfica, safra, condições climáticas, métodos de processamento e de extração interferindo quanto nos resultados obtidos para o teor de compostos fenólicos em materiais de origem vegetal.

5.4.4.4. Composição dos teores de ácidos graxos dos extratos proteicos liofilizados (EPL) e dos resíduos

Embora se tenha observado diferenças significativas entre os teores de gordura (Tabela 30), esses valores foram muito pequenos, isto é, todos os extratos liofilizados apresentaram baixos teores de gordura (Tabela 38), sendo que os menores valores foram encontrados nos extratos obtidos em pH 12. Outro nítido efeito do pH, entretanto mais pronunciado com o emprego do NaOH do que com o KOH, foi sobre a composição dos ácidos graxos destes óleos. Pode ser observado na Tabela 38 que o óleo do extrato obtido em pH 12 com NaOH apresentou maiores valores nos ácidos palmítico, esteárico, oléico e linoléico, mas com maior valor para o ácido ricinoléico, que é típico do óleo da mamona. Salimon et al. (2010) estudaram a composição de ácidos graxos de uma variedade indonésia de mamona e observaram que o ácido ricinoléico correspondia a 84%, enquanto que os ácidos graxos apresentaram menores valores: linoléico (7,3%), oléico (5,5%), palmítico (1,3%), esteárico (1,2%) e linolênico (0,5%). Este último ácido não foi detectado no presente estudo.

Tabela 38: Composição dos teores de ácidos graxos dos EPL da torta de mamona.

Ácidos graxos (%)	KOH			NaOH		
	pH			pH		
	10	11	12	10	11	12
Palmítico (C16:0)	2,43±0,02 ^b	2,75±0,02 ^b	2,91±0,59 ^b	2,30±0,09 ^b	3,06±0,46 ^b	9,57±0,27 ^a
Esteárico (C18:0)	1,73±0,10 ^b	1,89±0,00 ^b	2,03±0,68 ^b	1,67±0,06 ^b	1,83±0,27 ^b	6,43±0,21 ^a
Oléico (C18:1)	3,84±0,06 ^b	3,97±0,02 ^b	3,93±1,30 ^b	3,67±0,04 ^b	3,95±0,78 ^b	11,72±0,00 ^a
Linoléico (C18:2)	6,87±0,10 ^b	7,65±0,03 ^b	7,86±1,30 ^b	6,73±0,17 ^b	8,04±1,10 ^b	25,47±0,27 ^a
Ricinoleico (C18:10H)	84,56±0,08 ^a	83,04±0,02 ^a	82,88±3,88 ^a	85,06±0,25 ^a	82,44±2,57 ^a	46,82±0,75 ^b

^{a,b}, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

Houve efeito (p<0,05) apenas nos tratamentos feitos com pH 12 para todos os ácidos graxos. Observou-se que o ácido linoléico teve valores superiores em relação aos demais ácidos estudados para o EPL e resíduo. Pode-se observar que com o agente alcalinizante NaOH pH 12, o ácido linoléico teve um valor superior aos demais pH estudados (Tabela 38).

O ácido linoléico do resíduo da torta de mamona (Tabela 39) apresentou valores maiores do que os obtidos para o extrato em todos os pH do tratamento com KOH, porém, para o ácido ricinoleico foram observados valores maiores para o extrato em relação ao resíduo. Para o ácido ricinoleico, do extrato de proteína da torta de mamona extraído com NaOH (pH 12), foi obtido valor de 46,82% (Tabela 38) e verificou-se efeito de tratamento, quando comparado ao valor obtido para este ácido no resíduo de extração de proteína da torta de mamona, de 81,46% (Tabela 39).

Os teores de ácido ricinoleico foram inferiores aos encontrados no extrato de proteína em todos os tratamentos nos pH 10, 11, mas para o pH 12 o valor foi superior a 57% em relação ao encontrado no extrato de proteína extraído da torta de mamona. O ácido ricinoleico é o ácido mais abundante encontrado na mamona e também foi o mais abundante encontrado no resíduo de extração de proteína da torta de mamona.

Observou-se um baixo conteúdo de extrato etéreo nos resíduos (Tabela 31) indicando tratar-se de um resíduo de boa qualidade. Deve-se observar, entretanto, que a matéria prima (torta) já continha baixo teor de óleo. Além disso, se deve observar que nem o álcali e nem o pH tiveram grandes efeitos sobre a composição de ácidos graxos desses óleos, cuja composição (Tabela 39) foi praticamente similar ao do óleo de sementes de mamona (SALIMON et al., 2010).

Tabela 39: Composição dos teores de ácidos graxos de resíduos extraídos da torta de mamona.

Ácidos graxos (%)	KOH			NaOH		
	pH			pH		
	10	11	12	10	11	12
Palmítico (C16:0)	4,38±0,5 ^{ba}	3,65±0,3 ^{bac}	2,95±0,2 ^c	4,46±0,2 ^a	3,68±0,03 ^{bac}	3,03±0,6 ^{bc}
Esteárico (C18:0)	2,69±0,6 ^a	2,46±0,1 ^a	2,25 ±0,3 ^a	2,75±0,0 ^a	2,52±0,0 ^a	2,39±0,4 ^a
Oléico (C18:1)	5,66±0,0 ^a	4,88±0,5 ^a	4,47±0,1 ^a	5,87±0,3 ^a	5,33±0,0 ^a	4,44±1,4 ^a
Linoléico (C18:2)	11,31±0,1 ^a	9,82±0,8 ^{ba}	8,44±0,3 ^b	10,96±0,5 ^a	10,09±0,0 ^{ba}	8,22±1,2 ^b
Ricinoleico (C18:10H)	74,98±1,1 ^a	78,31±1,4 ^a	80,80±0,9 ^a	74,98±0,9 ^a	77,48±0,2 ^a	81,46±3,5 ^a

^{a,b,c}, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

O teor de ácidos graxos dos resíduos foram superiores aos encontrados para o EPL (Tabela 38), tendo destaque o pH 12, onde os dados para o EPL foram maiores que para o resíduo (Tabela 39).

Não houve efeito significativo para os ácidos graxos entre os tratamentos estudados. Valores maiores foram encontrados para os ácidos linoléicos, variando de 8,22 a 11,31% e para os de valores inferiores foram os ácidos esteáricos que variaram de 2,25 a 2,69%, respectivamente.

O ácido ricinoleico foi um ácido que se apresentou em valores altos mesmo para os resíduos estudados com variações de 74,98 a 81,46%, respectivamente. As diferenças encontradas nos teores de ácidos graxos por diferentes autores podem sugerir a influência tanto de região quanto do ano agrícola (VIEIRA; CABRAL; PAULA, 1999).

5.4.4.5. Perfil de aminoácidos dos EPL e dos resíduos

Para as análises de aminoácidos foram utilizadas as amostras EPL e resíduo da extração da torta de mamona, referentes apenas ao tratamento com o agente alcalino NaOH em pH (10, 11 e 12). A justificativa para a escolha do NaOH foi a facilidade de encontrar este reagente com menor custo e fácil manuseio, e ainda, por apresentar bom rendimento das proteínas extraídas. O NaOH foi também utilizado em outro projeto de pesquisa, da mesma equipe, envolvendo a proteína extraída da torta de mamona na produção de material biodegradável.

As composições de aminoácidos dos EPL da torta de mamona em pH (10, 11 e 12) estão apresentadas na Tabela 40. Como se pode observar, não houve diferença estatística entre os tratamentos, isto é, o pH de extração não afetou a composição em aminoácidos das

proteínas extraídas. Esse resultado é muito importante, pois o emprego de pH muito elevado pode provocar racemização dos aminoácidos (SCARBIERI, 1996). Segundo Sgarbieri (1996), a racemização pode provocar perdas de aminoácidos (cisteína, serina, treonina, lisina e arginina) em meio alcalino. Portanto, considerando-se que não houve efeito ($p>0,05$) do pH sobre os teores de cisteína, serina, treonina, lisina e arginina (Tabela 40), pode-se sugerir que a racemização, se houve, pôde ser considerada como desprezível. Esse comportamento é corroborado pelo fato do teor de arginina nos EPL da torta de mamona (Tabela 40) ter sido maior que na torta de mamona (Tabela 19), uma vez que aquele aminoácido pode ser o mais sensível à racemização em meio alcalino, por não precisar da reação de beta eliminação (SGARBIERI, 1996). Entretanto, ainda se deve verificar, muito provavelmente por eletroforese, se ocorreu à hidrólise química das proteínas, uma vez que em meio excessivamente alcalino essa hidrólise é de difícil controle (CLEMENTE, 2000).

Pode ser observada (Tabela 40), a presença de arginina, lisina, histidina, metionina e tirosina, principais aminoácidos envolvidos em reações de modificação química de proteínas. A arginina, a lisina e a histidina apresentaram concentrações inferiores às observadas por Beltrão (2002) na torta de mamona desintoxicada. Entretanto a metionina e a tirosina estão em concentrações semelhantes às observadas por esses autores.

Observou-se que o EPL da torta de mamona apresentou altas concentrações de arginina (~13g/100g de proteínas), ácido glutâmico (~20g/100g de proteínas) e triptofano (~13g/10g de proteínas). Entretanto foram encontrados baixos teores de lisina, tirosina e treonina (1,80 a 2,11g/100g de proteínas), fenilalanina e prolina (2,61 a 2,86g/100g de proteínas), histidina (1,72 a 2,32g/100g de proteínas) e cistina em concentrações inferiores aos outros aminoácidos (0,33 a 1,08g/100g de proteínas).

Tabela 40: Perfil de aminoácidos dos EPL da torta de mamona em diferentes pH.

Aminoácidos (g/100g proteína)	pH		
	10	11	12
Alanina	3,12±0,02 ^a	3,25±0,22 ^a	3,17±0,08 ^a
Arginina	13,05±0,35 ^a	11,24±0,71 ^a	12,87±0,16 ^a
Ácido Aspártico	6,39±0,15 ^a	6,57±0,48 ^a	6,46±0,12 ^a
Glicina	3,52±0,02 ^a	3,43±0,06 ^a	3,57±0,07 ^a
Isoleucina	2,90±0,05 ^a	3,09±0,13 ^a	3,08±0,07 ^a
Leucina	4,42±0,01 ^a	4,76±0,25 ^a	4,68±0,18 ^a
Ácido Glutâmico	19,71±0,50 ^a	17,02±0,69 ^a	18,62±0,42 ^a
Lisina	2,08±0,01 ^a	1,86±0,11 ^a	2,08±0,02 ^a
Cistina	0,33±0,60 ^a	0,43±0,27 ^a	1,08±0,70 ^a
Metionina	2,67±0,04 ^a	3,56±0,19 ^a	4,49±0,54 ^a
Fenilalanina	2,64±0,02 ^a	2,86±0,23 ^a	2,77±0,10 ^a
Tirosina	1,80±0,02 ^a	2,11±0,13 ^a	2,10±0,10 ^a
Treonina	2,03±0,00 ^a	1,83±0,16 ^a	2,11±0,07 ^a
Triptofano	13,52±0,72 ^a	12,39±0,25 ^a	12,19±0,50 ^a
Prolina	2,61±0,04 ^a	2,83±0,10 ^a	2,79±0,13 ^a
Valina	3,62±0,17 ^a	3,71±0,25 ^a	3,72±0,04 ^a
Histidina	2,22±0,01 ^a	1,72±0,47 ^a	2,32±0,02 ^a
Serina	4,92±0,06 ^a	3,59±0,78 ^a	3,70±0,99 ^a

^a, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes (p<0,05).

Comparando-se com a composição de aminoácidos de isolado proteico de soja (TANG et al., 2006), observa-se que a concentração é semelhante apenas para a arginina e cistina. Conde et al. (2005), estudando a composição de aminoácidos em isolado proteico de girassol, observaram concentrações mais elevadas para todos os aminoácidos analisados em comparação com EPL da torta de mamona, com exceção da metionina. Abugoch et al. (2011) observaram valores semelhantes para arginina e metionina, e valores inferiores para cistina e

triptofano quando estudaram isolado proteico de quinoa. Wang et al. (1999), estudando isolado proteico de farelo de arroz, encontraram concentrações semelhantes de metionina, cistina, arginina e ácido glutâmico quando comparado com a proteína extraída da torta de mamona. Deve-se observar que essas matérias primas estudadas e descritas acima, não foram necessariamente tratadas de maneira tão drásticas quanto à torta de mamona (alta temperatura e pressão) durante o processo de extração do óleo.

A composição de aminoácidos da EPL da torta de mamona não apresentou muitas diferenças quando comparada à composição de aminoácidos dos isolados protéicos liofilizados (IPL) de ervilha, tremço e soja estudados por Tömösközi et al. (2001). Sendo que neste caso, também foi realizada a extração alcalina seguida de precipitação das proteínas no ponto isoelétrico (pI). O EPL apresenta teores inferiores de ácido aspártico e lisina quando comparado aos três IPL (ervilha = 11,58; tremço = 9,80 e soja = 10,81g/100g de proteínas) e lisina (ervilha = 8,12; tremço = 5,31 e soja = 8,56g/100g de proteínas), entretanto os teores de metionina e triptofano (Tabela 40) são consideravelmente superiores aos encontrados para estes mesmo isolados (ervilha = 0,51; tremço = 0,99 e soja = 0,80g/100g de proteínas).

A composição em aminoácidos das proteínas presentes nos resíduos obtidos dos processos de extração com o emprego de NaOH, podem ser observadas na Tabela 41. Os teores de aminoácidos (arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico e triptofano) do resíduo de extração de proteína, com NaOH (Tabela 41), foram inferiores aos encontrados pelo EPL (Tabela 40) e pela torta de mamona (Tabela 19).

Tabela 41: Perfil de aminoácidos dos resíduos gerados durante a extração de proteínas da torta de mamona em NaOH em diferentes pH.

Aminoácidos (g/100g proteína)	pH		
	10	11	12
Alanina	3,61±0,02 ^a	3,86±0,02 ^a	3,14±0,07 ^b
Arginina	9,57±0,05 ^a	9,89±0,04 ^a	7,67±0,01 ^b
Acido aspártico	7,16±0,25 ^a	7,45±0,21 ^a	5,98±0,30 ^a
Glicina	3,58±0,03 ^a	3,76±0,02 ^a	3,23±0,06 ^b
Isoleucina	2,93±0,17 ^a	3,26±0,06 ^a	2,56±0,04 ^a
Leucina	5,19±0,11 ^a	5,57±0,10 ^a	4,54±0,05 ^b
Acido glutâmico	13,44±0,06 ^a	13,39±0,01 ^a	11,63±0,26 ^b
Lisina	2,61±0,11 ^a	2,47±0,09 ^a	1,54±0,01 ^b
Cistina	1,82±0,22 ^a	0,89±0,09 ^a	0,19±0,00 ^a
Metionina	1,73±0,13 ^a	1,98±0,03 ^a	1,69±0,02 ^a
Fenilalanina	3,11±0,07 ^a	3,33±0,05 ^a	2,65±0,04 ^b
Tirosina	2,05±0,71 ^a	2,21±0,02 ^a	1,79±0,05 ^b
Treonina	2,70±0,76 ^a	3,03±0,01 ^a	1,83±0,03 ^b
Triptofano	7,89±0,04 ^a	7,75±0,06 ^a	6,23±0,13 ^b
Prolina	3,14±0,03 ^a	3,53±0,04 ^a	2,61±0,03 ^b
Valina	3,37±0,20 ^a	3,79±0,13 ^a	3,04±0,04 ^a
Histidina	2,14±0,08 ^a	2,27±0,07 ^{ba}	1,79±0,01 ^b
Serina	4,49±0,03 ^a	4,71±0,01 ^a	3,52±0,11 ^b

^{a-b}, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são diferentes (P<0,05).

Houve efeito (p<0,05) no pH 12 para os aminoácidos alanina, arginina, glicina, leucina, ácido glutâmico, lisina, fenilalanina, tirosina, treonina, triptofano, prolina, histidina e serina. Praticamente todos os valores de aminoácidos diminuíram à medida que se aumentou o pH para 12, possivelmente devido à extração de proteínas solubilizadas. Perrone et al. (1966) verificaram diminuição nos teores de lisina disponível quando ocorre o tratamento da

torta de mamona com ácidos, álcali e vapor, e menor solubilidade das proteínas ao comparar os resultados com a torta não tratada. Mottola, Mackey e Herring (1971) observaram que o aquecimento excessivo da torta de mamona também contribuiu para a diminuição no teor de lisina.

Pode-se verificar, a partir das Tabelas 19, 40 e 41, que o perfil de aminoácidos encontrados para a torta de mamona, EPL e resíduos da extração da torta de mamona, foi o mesmo encontrado para a ricina isolada da torta de mamona de acordo com o trabalho de Chakravartula e Guttarla (2008). Estes autores trabalharam com semente de mamona, isolando a proteína ricina e obtiveram 17 tipos de aminoácidos, cujo perfil de aminoácidos foi semelhante ao desta pesquisa.

O aminoácido mais abundante encontrado no resíduo foi o ácido glutâmico, que variou de 11,63 a 13,44g/100g, respectivamente. Para a arginina, lisina e triptofano, que são aminoácidos essenciais para a alimentação animal os valores encontrados variaram de 7,56 a 9,89; 1,54 a 2,47 e 6,23 a 7,89g/100g proteína. Vieira, Cabral e Paula (1999) trabalharam com várias cultivares de soja e encontraram valores de lisina e triptofano que variaram de 5,6 a 6,9 e 1,5 a 1,7 g/100g de proteína. Os valores de lisina e triptofano dos resíduos foram superiores aos encontrados na soja.

Os aminoácidos encontrados em menores quantidades foram cistina (0,19 a 1,82g/100g), a metionina (1,69 a 1,98g/100g), tirosina (1,79 a 2,21g/100g), treonina (1,83 a 3,03g/100g) e histidina (1,79 a 2,27g/100g).

Benesi (1979) encontrou para o farelo de mamona, valores de lisina e triptofano muito inferiores aos aminoácidos dos resíduos deste trabalho. Portanto, por ocasião da formulação de ração devem ser verificados quais são as exigências desses aminoácidos limitantes para

cada animal, principalmente lisina e triptofano, aminoácidos limitantes principalmente para aves.

Os altos teores de proteína observados nos resíduos gerados na extração de proteína nas diferentes condições de extração indicam que esses resíduos podem ainda ser utilizados como adubo orgânico e/ou na alimentação animal, se destoxificados.

5.4.4.6. Teores de fibras alimentares do resíduo da extração da proteína da torta de mamona fracionada

Como mencionado anteriormente (item 5.1.3), praticamente não são encontrados dados na literatura para fibra alimentar total (FAT) na alimentação de animais ruminantes que forneçam informações a respeito das fibras da mamona e seus resíduos. Este tema foi pesquisado com a finalidade de complementar a composição bromatológica no tocante as fibras alimentares e possível aplicação na área de nutrição animal.

Os teores de fibra pelo método enzimático-gravimétrico alimentar total dos resíduos de extração da proteína da torta de mamona estão apresentados na Tabela 42.

Pode-se observar que houve efeito significativo ($p < 0,05$) para fibra alimentar para o NaOH pH 10 e 11 (51,80 e 52,49%, respectivamente) com valores inferiores aos demais, porém superior para o KOH pH 10 (58,92%), quando comparado aos outros tratamentos (Tabela 42).

Verificou-se também que a fibra alimentar apresentou resultados próximos à FDN dos resíduos da extração da proteína da torta de mamona, que teve resultados de 49 a 57%. Para a fibra insolúvel, pode-se verificar que foi o oposto da fibra alimentar, tendo o menor valor para KOH pH 10 (48,51%) e NaOH pH 12 (48,35%), não havendo diferença entre eles ($p > 0,05$),

porém com valor maior encontrado para NaOH pH 10 (58,68%). A fibra insolúvel pode ser comparada à fração de FDA dos resíduos que foram de 45 a 49%.

Tabela 42: Teores de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em diferentes pH.

Agente alcalino	Teores (%)		
	FAT	FI	FS
KOH pH 10	58,92±0,31 ^a	48,51±3,24 ^b	1,10±0,7 ^a
KOH pH 11	56,63±0,48 ^{ba}	52,59±0,79 ^{ba}	3,72±1,52 ^a
KOH pH 12	57,66±1,26 ^{ba}	50,24±0,33 ^{ba}	4,03±0,13 ^a
NaOH pH 10	51,80±0,62 ^c	58,68±1,29 ^a	4,02±0,70 ^a
NaOH pH 11	54,34±0,33 ^{bc}	50,26±1,54 ^{ba}	2,87±0,90 ^a
NaOH pH 12	52,49±0,09 ^c	48,35±1,30 ^b	3,13±1,98 ^a

^{a,b,c}, letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são diferentes ($p < 0,05$).

FAT – fibra alimentar total; FI – fibra insolúvel; FS – fibra solúvel

Takakura (2003) realizou um estudo com alimentos para animais monogástricos (cães), a saber: farinha de mandioca, grãos de milho, sorgo, lentilha e ervilha e obteve valores de fibra alimentar de 1,54; 4,07; 6,91; 14,13 e 11,01%, respectivamente. Esse autor ressalta que altos valores de fibra alimentar podem ser devidos à grande quantidade de casca existente nas amostras. Na aveia, a fibra alimentar se encontra principalmente nos tecidos do grão, com funções estruturais e de proteção. Estes tecidos contêm mais de 70% do total da fibra alimentar, enquanto o endosperma apresenta quantidades relativamente pequenas. O teor de fibra alimentar pode variar com a cultivar, condições de desenvolvimento, práticas culturais e tamanhos do grão (GUTKOSKI; TROMBETA, 1998).

Para a fibra alimentar solúvel, não houve efeito ($p>0,05$) em nenhum dos tratamentos estudados neste trabalho. Segundo Sá, Francisco e Soares (1998), as frações solúveis podem ser encontradas em maior concentração na parede das células que compõe as camadas sub-aleurona e aleurona, enquanto que as frações insolúveis são encontradas no pericarpo e na testa, representando cerca de 12% do grão de aveia (EVERS; BLAKENEY; BRIEN, 1999).

5.4.4.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da proteína extraída da torta de mamona em KOH e NaOH em pH 11 e 12

Os resultados das análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV) permitiram observar que as amostras apresentaram-se como escamas bem definidas e sem a presença de estruturas estranhas que possam sugestionar qualquer tipo de contaminação, ou com algum tipo de resíduo próprio da extração (Figuras 36 e 37). Já não se observam mais sinais das estruturas observadas nas micrografias da torta de mamona (Figura 31), o que indica a qualidade do processo de extração e a eficiência da centrifugação em separar a matéria solubilizada dos resíduos insolúveis.

Figura 36: Microscopia eletrônica de varredura da proteína extraída da torta de mamona em KOH pH 11 e pH 12 (1000x e 800x).

Figura 37: Microscopia eletrônica de varredura da proteína extraída da torta de mamona em NaOH pH 11 (800x) e pH 12 (800x e 500x).

As proteínas extraídas em ambos pH apresentaram microestruturas típicas de proteínas, com predominância de estruturas tipo escamas.

Os resultados das análises por espectroscopia por energia dispersiva (EDS) das proteínas extraídas da torta de mamona com KOH em pH 12 estão apresentadas nas Figuras 38 e 39, respectivamente. As composições elementares obtidas nessas análises estão

apresentadas na Tabela 43. Esses resultados permitem observar que ambas as amostras são ricas em fósforo, enxofre, alumínio e potássio, sendo que esse último está em elevadíssima concentração na amostra extraída com KOH, como seria de se esperar.

Figura 38: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.

Figura 39: Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.

Tabela 43: Resultados dos elementos químicos por Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína extraída da torta de mamona em KOH pH 12.

Elementos	Peso (%)	Massa Atômica
Carbono	43,568	58,704
Oxigênio	29,087	29,423
Alumínio	1,668	1,000
Fósforo	0,647	0,338
Enxofre	1,922	0,970
Potássio	23,108	9,564

Os espectro de EDS das EPL extraídas NaOH pH 12 estão apresentados nas Figuras 40 e 41. Os elementos químicos encontrados no EPL do espectro KOH pH 12 (Tabela 43), se apresenta com grande abundância para o potássio, isto é esperado devido a extração da proteína da torta de mamona ter sido realizada com KOH. Para o NaOH (Tabela 44) percebe-se que a concentração de sódio encontrada pelo espectro foi pequena, apesar do agente de extração ser NaOH.

Figura 40: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.

Figura 41: Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.

Tabela 44: Resultados dos elementos químicos por Espectroscopia por Energia Dispersiva da proteína extraída da torta de mamona em NaOH pH 12.

Elemento	Peso (%)	Massa Atômica
Carbono	62,339	70,587
Oxigênio	30,179	25,654
Sódio	3,682	2,178
Magnésio	0,182	0,102
Alumínio	0,292	0,147
Silício	0,602	0,292
Fósforo	0,177	0,078
Enxofre	1,031	0,437
Potássio	1,253	0,436
Cálcio	0,264	0,089

5.4.4.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do resíduo de extração da proteína com KOH e NaOH em pH 11 e 12

As análises por microscopia eletrônica de varredura das amostras de resíduos obtidos dos processos de extração de proteínas da torta de mamona em pH 11 e 12 com KOH (Figura 42) e NaOH (Figura 43) permitiram se observar que esses materiais apresentaram estrutura menos homogênea que as proteínas liofilizadas (Figuras 36 e 37). É possível se observar, em ambas as amostras, que a estrutura é formada por matéria fibrosa muito bem cimentada, apesar de porosa. Pode ser observado ainda, em ambas as amostras, corpúsculos micrométricos intimamente ligados à estrutura porosa. Esses resultados podem explicar, de certa maneira, as limitações para aumentar o rendimento do processo de extração das proteínas, pois a difusão dessas naquela estrutura deve ser prejudicada pelas fibras e estruturas bem cimentadas.

Figura 42: Microscopia eletrônica de varredura do resíduo da extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 11 e pH 12 (800x e 1000x).

Figura 43: Microscopia eletrônica de varredura do resíduo da extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 11 (500 e 800x) e pH 12 (600x e 1000x).

Os resultados das análises por espectroscopia por energia dispersiva (EDS) dos resíduos de extração de proteína da torta de mamona com KOH em pH 12 estão apresentados nas Figuras 44 e 45, respectivamente. As composições elementares obtidas nessas análises estão apresentadas na Tabela 45.

Figura 44: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.

Figura 45: Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.

Tabela 45: Resultados dos elementos químicos por Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em KOH pH 12.

Elemento	Peso (%)	Massa Atômica
Carbono	32,993	43,274
Oxigênio	47,045	46,324
Sódio	0,225	0,154
Magnésio	4,861	3,150
Alumínio	0,279	0,163
Silício	0,342	0,192
Fósforo	9,352	4,757
Enxofre	0,162	0,080
Potássio	4,391	1,769
Cálcio	0,350	0,138

Os resultados das análises por espectroscopia por energia dispersiva (EDS) dos resíduos de extração de proteína da torta de mamona com NaOH em pH 12 estão apresentados nas Figuras 46 e 47, respectivamente. As composições elementares obtidas nessas análises estão apresentadas na Tabela 46.

Similarmente ao observado com as proteínas extraídas, observou-se que o espectro EDS obtido com as amostras de resíduos do processo de extração com KOH (Figuras 45 e Tabela 45) demonstrou a presença de número menor de elementos que o espectro das amostras obtidas com NaOH (Figuras 47 e Tabela 46). Entretanto, os elementos Na, Al, Si, P e S apresentaram teores mais elevados para as amostras tratadas com NaOH pH 12. O potássio apresentou maior teor em relação ao agente NaOH pH12 (10,71%) sendo que isto provavelmente pode ter ocorrido devido ao ponto espectral analisado (Figura 46).

Figura 46: Imagem da Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.

Figura 47: Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.

Tabela 46: Resultados dos elementos químicos em Espectroscopia por Energia Dispersiva do resíduo de extração da proteína da torta de mamona em NaOH pH 12.

Elemento	Peso (%)	Massa Atômica
Carbono	33,045	44,992
Oxigênio	40,388	41,283
Sódio	4,477	3,184
Magnésio	0,467	0,314
Alumínio	1,247	0,756
Silício	1,520	0,885
Fósforo	1,244	0,657
Enxofre	6,213	3,169
Potássio	10,708	4,479
Cálcio	0,692	0,282

5.5. Ensaio de alergenicidade

Para as análises de ensaio de alergenicidade foram utilizadas as amostras de torta de mamona *in natura*, EPL e resíduo da extração da torta de mamona referentes apenas ao tratamento com o agente alcalino NaOH em pH 10, 11 e 12. A escolha para o tratamento com NaOH foi devida a facilidade de se obter este produto no mercado, seu baixo custo e ter grande aplicação em indústrias.

As proteínas extraídas com NaOH nos diferentes pH apresentaram menor poder alergênico que a torta de mamona (maior proporção de células desgranuladas) (Tabela 47).

O resíduo do processo de extração com NaOH em pH 12 apresentou alergenicidade equivalente ao padrão negativo, o que pode sugerir que esse resíduo poderá ser utilizado na alimentação animal, ou seja, o processo de extração alcalina pode ter agido como um tratamento contra a alergenicidade.

Tabela 47: Percentagem de células íntegras e desgranuladas na torta de mamona, resíduo e extrato da proteína de extração da torta de mamona com NaOH em diferentes pH

Amostra	Células íntegras (%)	Células desgranuladas (%)
Controle negativo – Ct.(–)	76,65±2,95	23,35±2,95
Controle positivo – Ct.(+)	62,65±1,65	37,15±1,65
Resíduo – A1 (pH 10)	65,55±0,25	34,45±0,25
Resíduo – A2 (pH 11)	70,90±4,50	29,10±4,50
Resíduo – A3 (pH 12)	77,40±0,20	22,60±0,2
Proteína liofilizada – A4 (pH 10)	67,30±2,00	32,70±2,00
Proteína liofilizada – A5 (pH 11)	71,95±1,65	28,05±1,65
Proteína liofilizada – A6 (pH 12)	72,70±2,80	27,30±2,80
Torta de mamona – A7	57,80	42,20

(Ct.(-): Somente as células do lavado peritoneal; Ct (+):Células do lavado + Soro anti-albumina 2S produzido em rato + 10 ug/mL de albumina 2S purificada; A1 a A7: Células do lavado + Soro anti-albumina 2S produzido em rato + 10 ug/mL de cada amostra testada

Neste trabalho observou-se 37,15% e 23,35% de desgranulação de mastócitos, respectivamente, para os controles positivo e negativo (Tabela 47). Como se pode verificar, o tratamento com NaOH pH 12 promoveu redução na porcentagem (22,6%) de células desgranuladas frente aos outros tratamentos, sendo o seu efeito comparado ao controle

negativo. Isto sugere que a elevação de pH 12 reduziu a desgranulação dos mastócitos, diminuindo o poder alergênico da mesma. A torta de mamona apresentou 42,2% de células desgranuladas, valor este mais elevado em relação aos demais resíduos tratados.

Ascheri et al. (2004) trabalharam com torta de mamona extrusada na presença de óxido de cálcio (CaO) 1 e 2%, e apesar destes tratamentos terem destruído a ricina, eles não conseguiram eliminar a alergenicidade da torta. Na literatura são encontrados vários outros métodos biológicos de destoxificação de resíduos da agroindústria por fermentação. Godoy et al. (2009), ao avaliar o potencial alergênico da torta de mamona, obtiveram 30% de desgranulação dos mastócitos no resíduo da torta de mamona, 64,6% para o controle positivo e 33,8% para o negativo. A fração isolada da albumina 2S das amostras *in natura* dos resíduos da torta de mamona induziu a 57% de desgranulação das células dos mastócitos, enquanto que em amostras tratadas com *Penicillium simplicissimum* (empregado para produção da enzima lipase) com 72 horas de fermentação, houve redução do potencial alergênico de quase 16% para a referida amostra. Madeira Júnior, Macedo e Macedo (2011), com o intuito de converter o resíduo da torta de mamona em alimento destinado a nutrição animal, utilizou o fungo *Paecilomyces variotii* na produção simultânea das enzimas tanase e fitase, para diminuir os fatores antinutricionais do resíduo da torta de mamona. Joshi, Mathur e Khare (2011) reportaram a degradação de ésteres de forbol quando o pinhão-manso (*Jatropha curcas*) foi fermentado por *Pseudomonas aeruginosa*.

5.5.1. Detecção da ricina por Eletroforese

Tendo em vista a natureza potente da toxicidade da ricina é essencial que o processo de destoxificação mostre ser capaz de destruir a toxina ao máximo de modo que possa ser facilmente utilizado como alimento animal, independente da espécie e idade (ANANDAN et al., 2005).

Para as análises de detecção da ricina foram utilizadas as amostras de torta de mamona *in natura*, semente de mamona, EPL e resíduo de extração da torta de mamona referentes aos tratamentos com os agentes alcalinos KOH e NaOH em pH 10, 11 e 12.

Os resultados das análises por eletroforese da semente e da torta de mamona estão apresentados na Figura 48.

Pode-se verificar abaixo (Figura 48), as bandas correspondentes à proteína ricina das amostras de semente e torta de mamona, que foram utilizadas como controle para visualização das proteínas da EPL e resíduo da torta de mamona.

As bandas correspondentes à proteína ricina podem ser observadas na semente e na torta de mamona (Figura 48). Pode-se verificar na amostra não tratada (semente e torta de mamona) a presença das duas bandas de ricina com, aproximadamente, 35 kDa e a outra com 29 kDa (Figura 48).

Figura 48: Resultados da análise de eletroforese para avaliação da semente de mamona e torta de mamona para verificar a presença das subunidades A e B (A com 35 KDa e B com 29 KDa). P = Padrões de peso molecular.

Os resultados obtidos na análise de eletroforese (Figura 48), para as referidas amostras, podem ser confirmadas por meio da Figura 49, onde estão evidenciadas a presença da ricina em quantidades elevadas tanto na semente (a) quanto na torta de mamona (b).

Figura 49: Resultado das análises de detecção da proteína ricina da semente de mamona (a) e da torta de mamona (b) obtida por meio de fluorescência induzida a laser (lif).

Em relação ao extrato proteico, inicialmente foi feito estudo preliminar nas amostras obtidas de 3 (três) extratos proteicos da torta de mamona. Todas as extrações foram realizadas com hidróxido de sódio (NaOH) em pH 9,0 à 50°C.

Foram realizados vários testes com diferentes concentrações de gel, e a condição que apresentou melhor resultado foi com o gel de 12% de poliacrilamida. Pode-se considerar que as EPL da torta de mamona foram compostas pelas proteínas albuminas e globulinas, em frações de 39-40kDa, ~20kDa e 6-7kDa (Figura 50). Observou-se também traços com pesos moleculares maiores (50-95kDa).

As bandas de massa molecular entre 20 e 40kDa representam principalmente à globulinas 11S e suas subunidades dissociadas, e as albuminas 4-6S (lectinas) como observado por Youle e Huang (1978). As bandas de massa molecular compreendidas entre 6-7kDa representariam as subunidades da albumina 2S, identificada por Youle e Huang (1978) e Mandal e Mandal (2000) com massa molecular ao redor de 11 e 12kDa.

Figura 50: Gel de eletroforese a 12% de poliacrilamida

Não foi possível identificar as frações que compõem a ricina, de 35kDa e 29 kDa, em função das características das frações solubilizadas e extraídas da torta de mamona (ANANDAN et al., 2005; OLSNES; KOZLOV, 2001; NARANG et al., 1997). Barnes, Baldwin e Braasch (2009) realizaram prévia purificação dessa proteína para que as frações da ricina por eletroforese fossem melhor observadas.

Na sequência, foram feitas análises de eletroforese nos EPL obtidos em pH 10, 11 e 12, que foram objetos de análises deste estudo.

Para a Figura 51 pode-se verificar, em todas as amostras, a presença de proteínas com massa molecular próxima de 14 kDa como a de proteínas pertencentes à classe das albuminas 2S de sementes de mamona. Para o extrato proteico tratado com NaOH pH (10 e 11) e para a torta de mamona verificou-se a presença de ricina (subunidades A e B) com massa molecular entre 29-36 kDa, entretanto, no caso do extrato proteico tratado com NaOH pH 12, essas bandas não ficaram nítidas.

Figura 51: Resultados da análise de eletroforese (SDS-PAGE) das amostras obtidas da extração das proteínas da torta de mamona: extrato protéico tratado com NaOH (pH 10, 11 e 12) e torta de mamona. PM = Padrões de peso molecular. TM = Torta de mamona

Em relação aos resíduos extraídos da proteína da torta de mamona em agente alcalino KOH pH (10, 11 e 12), observou-se que as bandas no tratamento com KOH variou em sua intensidade, podendo ser verificada a presença das duas subunidades da ricina e de outras proteínas em pH 10 (Figuras 52 e 53), indicando que após o processo de extração, nesse pH, ainda se observa a presença da ricina, portanto, necessitando ainda de procedimentos de destoxificação. O completo desaparecimento das bandas no pH 11 e 12, sugere que esses tratamentos foram mais efetivos em remover esta toxina.

Figura 52: Resultado da análise de eletroforese (SDS – PAGE) para avaliação da eficácia do tratamento do resíduo de extração da proteína da torta de mamona com agente alcalinizante KOH pH 10, 11 e 12 das subunidades A e B (A com 35 KDa e B com 29 KDa). P = Padrões de peso molecular.

Figura 53: Resultado das análises de detecção da proteína ricina dos resíduos de extração da proteína da torta mamona com agente alcalinizante KOH em pH 10 (a), 11 (b) e 12 (c) obtida por meio de fluorescência induzida a laser (Lif).

Similarmente ao observado com o KOH, o efeito dos tratamentos com NaOH pH (10, 11 e 12), aos quais a torta de mamona foi submetida, se caracterizou pela separação das duas subunidades da ricina (A com 35KDa e B com 29KDa) e pela mudança na coloração dessas subunidades apenas no pH 10 (Figura 54). O desaparecimento da ricina associado aos tratamentos com pH 11 e 12 (Figura 55), pode ser devido a desnaturação da ricina nesses meios.

Figura 54: Resultados das análises de eletroforese (SDS – PAGE) para avaliação da eficácia do tratamento do resíduo de extração da proteína da torta de mamona com agente alcalinizante NaOH pH 10; 11 e 12 das subunidades A e B (A com 35 KDa e B com 29 Ka). P = Padrões de peso molecular.

Figura 55: Resultado das análises de detecção da proteína ricina dos resíduos de extração da proteína da torta de mamona com agente alcalinizante NaOH em pH 10 (a), 11 (b) e 12 (c) obtida por meio de fluorescência induzida a laser (Lif).

Segundo Anandan et al. (2005), a ausência de visualização das subunidades nos diversos tratamentos realizados: 60g de Ca(OH)_2 ou de CaO por kg de farelo de mamona, ambos diluídos em água, e emprego de autoclave ($1,23 \text{ kg/cm}^2$ (15psi) por 90 minutos), indicou a eficácia próxima a 100% de desnaturação da toxina. Porém, aqueles autores

verificaram que a desnaturação não se deu por completa nos demais tratamentos devido à visualização das subunidades de ricina.

Madeira Júnior, Macedo e Macedo (2011) utilizaram microrganismos para fermentar o extrato da torta de mamona, em eletroforese SDS-PAGE, a fim de verificar a presença da ricina e, observaram que, após 48 horas de fermentação do extrato de mamona, a banda de ricina não foi mais visualizada. Da mesma forma, Godoy et al. (2009) conseguiram destoxificar o resíduo de mamona com *Penicillium simplicissimum*.

Furtado et al. (2012) trabalharam com vários métodos de destoxificação da torta de mamona, sendo três métodos químicos (calcário calcítico, ureia e fosfato monobicálcico) e um tratamento físico (autoclavagem) e observaram que em nenhum dos tratamentos ocorreu o completo desaparecimento das subunidades de ricina. Oliveira et al. (2010b) trabalharam com farelo e torta de mamona empregando como tratamento químico, Ca(OH)_2 e também não conseguiram eficiência de 100% de eliminação da ricina.

Barnes, Baldwin e Braasch (2009) trabalharam com farelo de mamona com tratamento físico (calor) e químico: DBPS (Dulbecco's tampão salino fosfato) e hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2 pH 12,5), em diferentes tempos de aquecimento (0 a 10 min., 99°C) e verificaram que a atividade da cadeia A da ricina foi eliminada no tempo de 10 min. de aquecimento na presença de Ca(OH)_2 (pH 12,5) bem como para o DBPS. Estes autores utilizaram o referido tratamento por ser um dos métodos eficientes para inativação da ricina, bem como dos componentes alergênicos, proveniente do farelo de mamona, e por ser um dos métodos mais antigos que se encontram relatos na literatura.

6. Conclusões

A torta e o farelo de mamona podem ser considerados co-produtos de boa qualidade por possuir altos teores de proteína e fibras. Assim, essas matérias primas podem ser usadas na produção de material biodegradável com aplicação na agricultura, e como componentes da ração animal, se destoxificados.

Os extratos proteicos liofilizados da torta de mamona constituíram concentrados protéicos, com proteínas de qualidade interessante para utilização na produção de materiais biodegradáveis. Além disso, essas proteínas foram relativamente ricas em arginina, lisina, histidina e tirosina, interessantes para eventuais modificações químicas com glicoxal e glutaraldeído que pode proporcionar materiais com melhores propriedades mecânicas.

Os resíduos obtidos no processo de extração continuaram apresentando elevados teores de proteínas, de fibras e de minerais. Por outro lado, o processo de extração das proteínas em meio alcalino constituiu bom tratamento contra a toxidez da torta da mamona. O aumento do pH, com NaOH, diminuiu a alergenicidade dos resíduos avaliado pelo teste de desgranulação de mastócitos obtidos do lavado peritoneal de ratos, o qual foi avaliado por análise da morfologia celular por microscopia óptica, demonstrando diminuição do poder alergênico dos resíduos. Além disso, não se observou a presença da ricina nesse material, nos resultados das análises por eletroforese.

Consequentemente, os resíduos da torta de mamona apresentam potencial para serem utilizados na alimentação animal; tendo boas características para substituir uma das principais matérias primas, de alto custo, utilizadas na formulação de ração para ruminantes, o farelo de soja.

Os resultados de todos os experimentos de extração das proteínas da torta de mamona permitiram escolher os melhores parâmetros de extração: temperatura = 50°C, velocidade de agitação = 400rpm, concentração da torta na solução extratora = 20%, pH = 12 e agente alcalinizante = NaOH.

Sugere-se que mais estudos possam ser conduzidos objetivando a utilização dos resíduos na alimentação animal, bem como garantir a sua destoxificação por meio de outros agentes físicos e/ou químicos, além dos utilizados nesta pesquisa.

7. 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**, Viçosa, MG, v.37, p.260-268, 2008.

ABUGOCH, L.E.; TAPIA, C.; VILLAMÁN, M.C.; YAZDANI-PEDRAM, M.; DÍAZ-DOSQUE, M. Characterization of quinoa protein–chitosan blend edible films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, GB, v.25, p.879-886, 2011.

AGBOOLA, S.; NG, D.; MILLS, D. Characterization and functional properties of Australian rice protein isolates. **Journal of Cereal Science**, London, GB, v.41, n.3, p.283-290, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO. **Boletim Mensal de Biodiesel – SRP de 01/12/2009 da Agência Nacional do Petróleo (ANP)**. Disponível em <<http://www.anp.gov.br/biodiesel/boletim>>. Acesso em: 17 out. 2011.

AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Control of plant-parasitic nematodes with organic and inorganic amendments in agricultural soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, NL, v.4, p.243-247, 1996.

ALBIN, R.C.; DAVIS, W.H.; ZINN, D.W. Castor meal for growing-finishing steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., v.28, n.1, p.133 (Abstract), 1969.

ALI, R.M.; ELFEKY, S.S.; ABBAS, H. Response of salt stresses *Ricinus communis* L., to exogenous application of glycerol and/or aspartic acid. **Journal of Biological Science**, Cincinnati, Ohio, v.8, n.1, p.171-175, 2008.

ALMEIDA, C.H.T.; AMORIM, H; CASTELLETTI, **C.E.M.**; **PERES, S.** Caracterização dos co-produtos de processamento de biodiesel de mamona para geração de energia térmica e elétrica. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília, 2006. p.68-72.

ALUKO, R. E.; YADA, R. Y. Structure-function relationships of cowpea (*Vigna unguiculata*) globulin isolate: influence of pH and NaCl on physicochemical and functional properties. **Food Chemistry**, London, GB, v.53, p.259-265, 1995.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 15th ed. Champaign: AOCS Press, 1998.

AMONSOU, E.; TAYLOR, J.; MINNAAR, A. Microstructure of protein bodies in maramba beans species. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology**, London, GB, v.44, n.1, p.42-47, 2011.

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

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. **As bases e os fundamentos da nutrição animal**. Os alimentos. São Paulo: Nobel, 1982. 395p.

ANVER, S.; ALAM, M.M. Biological control of soil nematodes associated with linseed. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.34, n.2, p.101-109, 2001.

ARMIÉN, A.G.; D'ANGELIS, F.H.F.; TOKARNIA, C.H. Experimental poisoning of sheep with seeds of *Ricinus communis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, RJ, v.16, p.99-106, 1996.

ASCHERI, J.L.R.; MACIEL, F.M.; CARVALHO, S.W.P.; FREITAS, S.C.; MACHADO, O.L.T. Destoxificação de torta de mamona por extrusão termoplástica: estudo preliminar. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2., 2007. Brasília. **Anais...** Brasília, 2007.

ASLANI, M.R.; MALEKI, M.; MOHRI, M.; SHARIFI, K.; NAJJAR-NEZHAD, V. AFSHARI, E. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. **Toxicon**, Elmsford, NY, v.49, p.400-406, 2007.

ASSIS, F.P.; NAUFEL, F.; TUNDISI, A.G.A.; ROCHA, G.L.; BRANCO, T.S.; BECKER, M.; CINTRA, B. Valor do farelo de torta de mamona atoxicada na alimentação de vacas leiteiras, em comparação com os farelos de tortas de algodão e de amendoim. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v.20, p.35-38, 1962.

ASSMANN, V. **Obtenção de compósitos termomoldados a partir da torta de mamona plastificada com glicerol, derivada do processo de transesterificação de óleos e gorduras**. 2009. 104f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16th ed. Arlington: AOAC, 1995.

ATHIÊ, I.; CASTRO, M.F.P.M.; GOMES, R.A.R.; VALENTIN, S.R.T. **Conservação de grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998. 236p.

AUDI, J.; BELSON, M.; PATEL, M.; SCHIER, J.; OSTERLOH, J. Ricin poisoning: A comprehensive review. **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, Ill., v.294, n.9, p.2342-2351, 2005.

ÁVILA FILHO, S.; DUARTE, F. R.; JESUS, D.S., MACHADOR, A., RIBEIRO, N.M., VELOSO, M.C.C. Métodos para determinação de toxinas presentes na torta de mamona. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília, 2006. v.1, p.24-27.

AYHLLON-MEIXUEIRO, F.; VACA-GARCIA, C.; SILVESTRE, F. Biodegradable films from isolate of sunflower (*Helianthus annuus*) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., v.48, p.3032-3036, 2000.

AZEVEDO, D.M.P.; BELTRÃO, N.E.M. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Campina Grande Embrapa Algodão, 2007. 506p.

BABITA, M.; MAHESWARI, M.; RAO, L.M.; SHANKER, A.K.; RAO, D.G. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, Pa., v.69, p.243-249, 2010.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, Oxford, UK, v.52, n.2, p.858-875, 2011.

BANDEIRA, D.A.; SANTOS, M.H.B.; CORREIA NETO, J.; NUNES, J.F. Aspectos de caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B. et al. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, Cap.1, p.1-9, 2004.

BARBIN, D.F.; NATCHI, A.; MÜLLER, K. Improvement of properties of rapeseed protein concentrates produced via alcoholic process by thermal and mechanical treatments. **Journal of food processing and preservation**, Westport, Conn., v.35, p.369-375, 2011.

BARNES, D.J.; BALDWIN, B.S.; BRAASCH, D.A. Degradation of ricin in castor seed meal by temperature and chemical treatment. **Industrial Crops and Products**. Amsterdam, NL, v.29, n.2-3, p.509-515, 2009.

BARROS, L.V.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; LOPES, S.A.; ROCHA, A.A.; VALENTE, E.E.L.; ALMEIDA, D.M. Replacement of soybean meal by treated castor meal in supplements for grazing heifer during the dry-rainy season period. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.40, n.4, p.843-851, 2011.

BAYMA, A.C. **Indústria da mamona**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1933. 29p.

BBCBRASIL.COM. Suspeitos de produzir ricina são acusados de terrorismo. 2003. Disponível em: <http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2003/030111_ricina-ae.shtml>. Acesso em: set. 2009.

BEERENS, P. **Screw-pressing of *Jatropha* seeds for fuelling purposes in les developed countries**, 2007. 87p. Thesis (Master in Sciences) - Eindhoven University of Technology, Eindhoven, 2007.

BELTRÃO, N. E. M.; MELO, F. B. **Ricinocultura consorciado com feijão vigna no semi-árido piauiense, visando a produção de biodiesel, emprego e renda**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 4p., 2002.

BELTRÃO, N.E.M. **Torta de mamona (*Ricinus communis* L.): fertilizante e alimento**. Comunicado Técnico n.171 da Embrapa de 2002. Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/plataforma_mamona/publicacoes/comunicacoes/04.PDF>. Acesso em: 02 set. 2008.

BELTRÃO, N.E.M.; CARTAXO, W.V. Considerações gerais sobre o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) e a necessidade urgente de pesquisas desenvolvimento e inovações tecnológicas para esta planta nas condições brasileiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 3., 2006. Varginha. **Anais...** Varginha, 2006.

BENESI, F.J. **Influência do farelo de mamona (*Ricinus communis* L.) destoxicado sobre o proteinograma sanguíneo e desempenho de suínos**. 1979. 63f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1979.

BERENCHTEIN, B. **Avaliação do farelo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) destoxicado na dieta de suínos.** 2012. 96f. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

BERENCHTEIN, B.; COSTA, L.B.; BRAZ, D.B.; ALMEIDA, V.V.; TSE, M.L.P.; MIYADA, V.S. Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.39, p.1491-1496, 2010.

BERTRAND, C.; LIZOT, J.F. Root knot nematode control in organic farming: a method based on oilseed cakes. In: **International IFOAM Scientific Conference**, Basel, Switzerland, p.13, 2000.

BESERRA JÚNIOR, J.E.A.; MARQUES, M.M.M.; BARGUIL, B.M.; LOPES Jr, C.A.F.; GUEDES, M.I.F. Imunogenicidade de proteínas do capsídeo do *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v.33, n.1, p.98-104, 2009.

BINDER, R.G.; APPLEWHITE, T.H.; KOHLER, G.O.; GOLDBLATT, L.A. Chromatographie analysis of seed oils: Fatty acid composition of castor oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, Ill., v.39, p.513-517, 1962.

BLAKESLEY, R.W.; BOEZI, J.A. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using coomassie brilliant blue G 250. **Analytical Biochemistry**, New York, NY, v.82, p.580-582, 1977.

BOMFIM, M.A.D.; SEVERINO, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; OLIVEIRA, A.; GOMES, G.M.F.; PEREIRA, L.S.; OLIVEIRA, S.Z.R. Avaliação da casca de mamona na alimentação animal de ovinos. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 4., 2004, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, 2006. p.936-939. (CD-ROM)

BOMFIM, M.A.D.; SILVA, M.M.C.; SANTOS, S.F. Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, PB, v.3, n.4, p.15-26, 2009.

BORA, P.S.; RIBEIRO, D. Note: Influence of pH on the extraction yield and functional properties of macadamia (*Macadamia integrofolia*) protein isolates. **Food Science and Technology International**, London, GB, v.10, p.263-267, 2004.

BOSE, M.L.V.; WANDERLEY, R.C. Digestibilidade e balanço metabólico da fração nitrogenada do farelo de mamona desintoxicado e de ferro de alfafa em ovinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.17, n.5, p.456-464, 1988.

BRADBERRY, S. Ricin and abrin. **Medicine**, London, GB, v.35, p.576, 2007.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, NY, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL. **Ministério de Minas e Energia. Boletim Mensal dos combustíveis renováveis**. n.20, 2009. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br>>. Acesso em: 02 maio 2009.

BRITO, M.F.; TOKARNIA, C.H. Intoxicação experimental pelas sementes trituradas de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, RJ, v.16, n.4, p.1-7, 1996.

BROOKER, D.B.; BAKKER-ARKEMA, F.W.; HALL, C.W. Theory and smulation of grain drying. In: BROOKER, D.B.; BAKKER-ARKEMA, F.W.; HALL, C.W. **Drying and storage of grains and oilseeds**. New York: Van Nostrand Reinholdy, 1992. p.205-240.

CÂNDIDO, M.J.D.; BOMFIM, M.A.D.; SEVERINO, L.S.; OLIVEIRA, S.Z.R. Utilização de co-produtos da mamona na alimentação animal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA. 2., Salvador. **Anais...** Salvador, 2008.

CANGEMI, J.M.; SANTOS, A.M.; CLARO NETO, S. A Revolução Verde da Mamona. **Química Nova na Escola**, São Paulo, SP, v.32, n.1, p.3-8, 2010.

CARLINI, C.R.; SÁ, M.F.G. Plant toxic proteins with inseticidal properties. A review on their potentialities as bioinseticides. **Toxicon**, Elmsford, NY, v.40, p.1515-1539, 2002.

CARLSON, K.D.; TOOKEY, H.L. Crambe meal as a protein source for feeds. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, Ill., v.60, p.1979-1985, 1983.

CARVALHO, A.V.; GARCÍA, N.H.P.; FARFÁN, J.A.; WADA, J.K.A. Caracterização de concentrado e isolado proteico extraído de sementes de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*, Schum). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, v.12, n.1, p.1-8, 2009.

CARVALHO, M.E.A. **Estudos para a obtenção de concentrados de proteínas da mamona desintoxicados e desalergenizados**. 1978. 78p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1978.

CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase glyoxal and formaldehyde. **Food Hydrocolloids**, Oxford, GB, v.18, n.5, p.717-726, 2004.

CASTELLANI, O.F.; MARTINEZ, E.N.; ANON, M.C. Structural modification of Amaranth globulin induced by pH and NaCl. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, DC, v.46, p.4846-4853, 1998.

CERRATE, S.; YAN, F.; WANG, Z. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Lasani Town, Pakistan, v.5, n.11, p.1001-1007, 2006.

CHAKRAVARTULA, S.V.S.; GUTTARLA, N. Amino acids of ricin and its polypeptides. **Natural Product Research**, Abingdon, GB, v.22, n.3, p.258, 2008.

CHEN, G.Q.; TURNER, C.; HE, X.; NGUYEN, T.; MCKEON, T.A.; LAUDENCIA-CHINGCUANCO, D. Expression profiles of genes involved in fatty acid and triacylglycerol synthesis in castor bean (*Ricinus communis* L.). **Lipids**, Champaign, Ill., v.42, n.3, p.263-274, 2007.

CHIERICE, G.O.; NETO, S.C. **Aplicação industrial do óleo. O Agronegócio da Mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. Cap.5, 116p.

CHO, S.Y.; RHEE, C. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractioned soy proteins with ultrafiltration. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology**, London, UK, v.37, n.8, p.833-839, 2004.

CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, GB, v.11, n.7, p.254-262, 2000.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/6graos_09.03.10.pdf. Acesso em 02 jun. 2010.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_09_22_11_31_10_mamonasetembro2011.pdf>. Acesso em: 02 set. 2011.

CONCEIÇÃO, M.M.; CANDEIA, R.A.; SILVA, F.C.; BEZERRA, F.C.; FERNANDES Jr., V.J.; SOUZA, A.G. Thermoanalytical characterization of castor oil biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.11, p.964-975, 2007.

CONDE, J.M.; ESCOBAR, M.D.M.Y.; JIMÉNEZ, J.J.P.; RODRÍGUEZ, F.M.; PATINO, J.M.R. Effect of enzymatic treatment of extracted sunflower proteins on solubility, amino acid composition, and surface activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa, v.53, p.8038-8045, 2005.

COSTA, F.X.; BELTRÃO, N.E.M.; LIMA, V.L.A.; LUCENA, A.M.A.; GUIMARÃES, M.M.B. Resposta ao efeito da compactação do solo adubado com torta de mamona nos macronutrientes das folhas da mamoneira. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL. 2., 2007, Brasília. **Anais...** Brasília: Empraba Informação Tecnológica, 2007. (CD-ROM)

COSTA, F.X.; SEVERINO, L.S.; BELTRÃO, N.E.M.; FREIRE, R.M.M.; LUCENA, A.M.A.; GUIMARÃES, M.M.B. Avaliação dos teores químicos da torta de mamona. **Revista Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, PB, v.4, n.2, 2004a.

COSTA, H.M.; RAMOS, V.D.; ABRANTES, T.A.S. ; CASTRO de, D.F. ; VISCONTE, L.L.Y. ; NUNES, R.C.R. ; FURTADO, C.R.G. Efeito do óleo de mamona em composições de borracha natural contendo sílica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, SP, v.14, n.1, p.46-50, 2004b.

CUSTODIO, D.P.; BRANDSTETTER, E.V.; OLIVEIRA, I.P.; OLIVEIRA, L.C.; SANTOS, K.J.G.; MACHADO, O.F.; ARAUJO, A.A. Ração: alimento animal perecível. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, São Luis de Montes Belos, GO, v.1, p.131-147, 2005.

DENAVI, G.; TAPIA-BLÁCIDO, D.R.; AÑON, M.C.; SOBRAL, P.J.A.; MAURI, A.N.; MENEGALLI, F.C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, Essex, GB, v.90, n.3, p.341-349, 2009.

DEUS-DE-OLIVEIRA, N.; FELIX, S.P.; CARRIELO-GAMA, C.; FERNANDES K.V.; DAMATTA R., A.; MACHADO, O.L. Identification of critical amino acids in the ige epitopes of Ric c 1 and Ric c 3 and the application of glutamic acid as an IgE blocker. **PLoS ONE**, San Francisco, Ca., v.6, n.6, e21455, 2011.

DINIZ, L.L.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.S.; PINA, D.S.; SILVA, L.D.; BENEDETI, P.B.; BAIÃO, G.F.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES R.F.D. Castor bean meal for cattle finishing: 1-Nutritional parameters. **Livestock Science**, Amsterdam, NL, v.135, p.153-167, 2011.

DIRECTORATE OF OILSEEDS RESEARCH. Diversified uses of Castor. In: International seminar on castor seed, castor oil and its value added products. **Proceedings...** Ahmedabad: The Solvent Extractors Association of India, p.50-57, 2004.

DRUMMOND, A.R.F., GAZINEU, M.H.P., ALMEIDA, L., SOUTO MAIOR, A. Metanol e etanol como solventes na extração de óleo de mamona. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1., 2006. Brasília. **Anais...** Brasília, 2006. p.3-7.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA – EPE. Plano Decenal de Energia – 2008-2017. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/Estudos/Paginas/>>. Acesso em: 17 nov. 2011.

ENDO, Y.; TSURUGI, K. RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. Mechanism of action of the toxic lectin ricin on eukaryotic ribosomes. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, MD, v.262, p.8128-8130, 1987.

ENDO, Y.; TSURUGI, K. The RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, MD, v.263, p.8735-8739, 1988.

EVANGELISTA, A.R.; ABREU, J.G.; PER, A.J. Avaliação da composição química de tortas de mamona e amendoim obtidas por diferentes métodos de extração de óleo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1., 2004, Campina Grande. **Anais ...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004. (CD-ROM).

EVERS, A.D.; BLAKENEY, A.B.; BRIEN, L.O. Cereal structure and composition. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, AU, v.50, n.5, p.629-650, 1999.

FARIA FILHO, D.E.; DIAS, A.N.; BUENO, C.F.D.; MATOS JUNIOR.; J.B.; COUTO, F.A.P. Subprodutos da mamona na alimentação de aves. **Revista Produção Animal – Avicultura**. Montes Claros, MG, n.33, p.24-26, 2010.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: chemistry ultrastructure and reactions**, Berlin: Walter de Gruyter. 1989. 615p.

FIRATLIGIL-DURMUS, E.; EVRANUZ, O. Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*). **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology**, London, GB, v.43, p.226-231, 2010.

FLORES, M.J.P.; PÉREZ, J.J. C.; FEBLES, V.G.; DOMINGUEZ, G.C.; ROJAS, E.T.; PÉREZ, J.A.M.; BUCIO, R.H. Microscopy techniques and image analysis for evaluation of some chemical and physical properties and morphological features for seeds of the castor oil plant (*Ricinus communis*).

FRANZ, D.R.; JAAX, K.K. Ricin toxin. In: SIDELL, F.R.; TAKAFUJI, E.T.; FRANZ, D.R. (Eds). **Medical aspects of chemical and biological warfare**. Walter Reed Army Medical Center, Washington, DC, p.631-642, 1997.

FREIRE, R.M.M. Ricinoquímica. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2001. Cap.13.

FREIRE, R.M.M.; NARAIN, N.; SANTOS, R.C.; FARIAS, S.R.; QUEIROZ, M.S.R. Composição centesimal de sementes de amendoim de três tipos botânicos. **Revista de oleaginosas e fibrosas**. Campina Grande, PB, v.1, n.1, p.135-142, 1997.

FREIRE, R.M.M.; SEVERINO, L.S.; MACHADO, O.L.T. Ricinoquímica e co-produtos. In: AZEVEDO, D.M.P.; BELTRÃO, N.E. D.M. (Eds.). 2. ed. **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p.501-529.

FREITAS, S.C.; ANTONIASSI, R.; OLIVEIRA, L.L.A.; LOPES, G.E.M.; ROSS JÚNIOR., I.G. Composição de farelo desengordurado de variedades de mamona cultivadas no município de Itaocara, RJ. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA. ENERGIA E RICINOQUÍMICA, 3., 2008, Salvador. **Anais...** Salvador, 2008.

FURTADO, R.N.; CARNEIRO, M.S.S.; CÂNDIDO, M.J.D.; GOMES, F.H.T.; PEREIRA, E.S.; POMPEU, R.C.F.F.; SOMBRA, W.A. Valor nutritivo de dietas contendo torta de mamona submetida a métodos alternativos de destoxificação para ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v.64, n.1, p.155-162, 2012.

GARDNER JR., H.K.; D'AQUIN, E.J.; KOLTUN, S.P.; McCOURTNEY, E.J.; VIX, H.L.E.; GASTROCK, E.A. Detoxification and deallergenization of Castor Beans. **Journal of the American Oil Chemists'Society**, Chicago, Ill., v.37, p.142-148, 1960.

GENTIL, R.M.; SERRA, J.C.V.; CASTRO, R.B. Resíduos sólidos orgânicos provenientes da extração de oleaginosas para biodiesel e seus potenciais de uso. **Revista eletrônica do curso de geografia. Jataí: GO**. n.18, 2012.

GODOY, M.G. GUTARRA, M.L.E; MACIEL, F.M.; FELIX, S.P.; BEVILAQUA, J.V.; MACHADO, O.L.T.; FREIRE, D.M.G. Use of a low-cost methodology for biodetoxification of castor bean waste and lipase production. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, NY, v.44, p.317-322, 2009.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis. **Agricultural Handbook**, n. 379. Washington, DC, 1970. 20p.

GOES, T.; ARAUJO, M.; MARRA, R. Novas fronteiras da cana-de-açúcar no Brasil. Revista de Política Agrícola. Publicação da Secretaria de Política Agrícola do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. 126p.

GOMES, M.A.B.; GOMES, F.H.T.; CÂNDIDO, M.J.D.; PEREIRA, E.S.; LOPES, J.W.B.; FEITOSA, J.V.; POMPEU, R.C.F.F. Composição bromatológica e degradação *in situ* de subprodutos da cadeia do biodiesel. **Revista Científica Produção Animal**, Fortaleza, CE, v.11, n.2, p.144-156, 2009.

GRAINGER, C.; CLARKE, T.; BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; ECKARD, R.J. Supplementation with whole cottonseed reduces methane emissions and can profitably increase milk production of dairy cows offered a forage and cereal diet. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, AU, v.48, n.2, p.73-76, 2008.

GUTARRA, M.L.E.; CAVALCANTI, E.D.; CASTILHO, L.R.; FREIRE, D.M.; SANT'ANNA, G.L. Lipase production by solid-state fermentation: cultivation conditions and operation of tray and packed-bed bioreactors. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.121, n.3, p.105-116, 2005.

GUTKOSKI, L.C.; TROMBETTA, C. Determinação de fibra alimentar insolúvel, solúvel e total em cariopses de aveia (*Avena sativa* L.). In: Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Aveia, 18. **Resumos...** 1998. p.63-67.

HELLER, J. **Physic nut (*Jatropha curcas* L.): promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute. 1996. 66p.

HEWETSON, J.F.; RIVERA, V.R.; CREASIA, D.A.; LEMLEY, P.V.; RIPPY, M.K; POLI, M.A. Protection of mice from inhaled ricin by vaccination with ricin or by passive treatment with heterologous antibody. **Vaccine**, Kidlington, GB, v.11, n.7, p.743-746, 1993.

HOLFELDER, M.G.A.; STECK, M.; KOMOR, E.; SEIFERT, K. Ricinine in phloem sap of *Ricinus communis*. **Phytochemistry**, New York, v.47, n.8, p.1461-1463, 1998.

HONG, I.H.; KWON, T.E.; LEE, S.K.; PARK, J.K.; KI, M.R.; PARK, S.I.; JEONG, K.S.. Fetal death of dogs after the ingestion of a soil conditioner, **Experimental and Toxicologic Pathology**, Jena, Germany, v.63, p.113-117, 2011.

HORAX, R.; HETTIARACHCHY, N.; KANNAN, A.; CHEN, P. Protein extraction, optimization characterization and functionalities of protein isolate from bitter melon (*Momordica charantia*) seed. **Journal of Food Chemistry**, v.124, p.545-550, 2011.

HORAX, R.; HETTIARACHCHY, N.S.; CHEN, P.; JALALUDDIN, M. Preparation and characterization of protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Journal of Food Science**, v.69, FCT114-FCT118, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed., São Paulo: IMESP.1985, p.59.

INTERNATIONAL CASTOR OIL ASSOCIATION. The processing of castor meal for detoxification and deallergenation. Ridgewood. (**Technical Bulletin, 1**). 1989. 75p.

JACKSON, L.S.; TOLLESON, W.H.; CHIRTE, S.J. Thermal inactivation of ricin using infant formula as a food matrix. **The Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v.54, n.19, p.7300-7304, 2006.

JAOAC, **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry**, v.72, n.6, p.912-916, 1989.

JARDIM, W.R. **Alimentos e alimentação do gado bovino**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 338p.

JOHANSEN, H.N.; KNUDSEN, K.E.B. Physico-chemical properties and the degradation of oat bran polysaccharides in the gut of pigs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, GB, v.73, n.1, p.81-91, 1997.

JORGENSEN, H.; ZHAO, X.Q.; EGGUM, B.O. The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of temperature in the hind-gut and energy metabolism in pigs. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, GB, v.75, p.365-378, 1996.

JORGENSEN, H.; ZHAO, X.Q.; KNUDSEN, K.E.; EGGUM, B.O. The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract digestibility and energy metabolism in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, GB, v.75, p.379-395, 1996.

JOSHI, C.; MATHUR, P.; KHARE, S.K. Degradation on phorbol esters by *Pseudomonas aeruginosa* PseA during solid-state fermentation of deoiled *Jatropha curcas* seed cake. **Bioresource Technology**, Essex, GB, v.102, p.4815-4819, 2011.

JU, Z.Y.; HETTIARACHCHY, N.S.; RATH, N. Extraction, denaturation, and hydrophobic properties of rice flour proteins. **Journal of Food Science**, v.66, p.229-232, 2001.

KHVOSTOVA, I.V. Ricin: The toxic protein of seeds. In: MOSHKIN, V.A. **Castor**. New Delhi: Amerind, 1986. p.85-92.

KIEHL, E. J. **Manual de edafologia: relações solo-planta**. São Paulo: Ceres, 1979. 460p.

KRISHNA, G. Nylon bag dry matter digestibility in agro-industrial by-products and wastes of the topics. **Agricultural Wastes**, Essex, GB, v.13, p.155-158, 1985.

KUMAR, O.; SUGENDRAN, K.; VIJAYARAGHAVAN, R. Oxidative stress associated hepatic and renal toxicity induced by ricin in mice. **Toxicon**, Elmsford, NY, v.41, p.333-338, 2003.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage-T4. **Nature**, London, GB, n.227, p.680-685, 1970.

LANA, R.P. **Nutrição e Alimentação Animal: mitos e realidades**. 2.ed. Viçosa: UFV. 2007. 344p.

LEAL, I.A.P.B. Resposta técnica SBRT no, 19/03/2007. **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas** - SBRT. Disponível em <[http:// www.sbirt.ibict.br/uploadsbirt](http://www.sbirt.ibict.br/uploadsbirt)>. Acesso em: 26 ago. 2008.

LEE, H.C.; HTOON, A.K.; UTHAYAKUMARAN, S.; PATERSON, J.L. Chemical and functional quality of protein isolated from alkaline extraction of Australian lentil cultivars: Matilda and Digger. **Food Chemistry**, London, GB, v.102, p.1199-1207, 2007.

LEITE, A.C.; CABRAL, E.C.; SANTOS, D.A.P.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. Isolamento do alcaloide ricinina das folhas de *Ricinus communis* (*Euphorbiaceae*) através de cromatografias em contracorrente. **Química Nova**, São Paulo, SP, v.28, n.6, p.983-985, 2005.

LESTARI, D.; MULDER, W.J.; SANDERS, J.P.M. *Jatropha* seed protein functional properties for technical applications. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, NL, v.53, p.297-304, 2011.

LEUNG, D.Y.C.; WU, X.; LEUNG, M.K.H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, London, GB, n.87, p.1083-1095, 2010.

LIMA, E.P. Estudo da estrutura e função da ricina e de tecnologia para o uso da torta de mamona como alimento animal. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA. 2., 2007, João Pessoa, **Anais...** João Pessoa, 2007.

LORD, J.M.; ROBERTS, L.M.; ROBERTUS, J.D. Ricin: structure, mode of action and some current applications. **The FASEB Journal**, Bethesda, Md., v.8, p.201-208, 1994.

LOTT, J.N.A.; GREENWOOD, J.S.; VOLLMER, C.M. Mineral reserves in Castor beans: the dry seed. **Plant Physiology**, Washington, DC, v.69, p.829-833, 1982.

LOUREIRO, M.C. Torta de semente da mamoneira na alimentação animal. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.11, n.66, p.290-294, 1962.

LUCENA, A.M.A.; SEVERINO, L.S.; BELTRÃO, N.E.M.; FREIRE, M.A.O.; NETO, J.D. Composição química de sementes de mamona separadas em classes pela cor do tegumento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA. 2., 2006, Aracajú. **Anais...** Aracajú, 2006.

MACEDO, A.L.; SANTOS, R.S.; PANTOJA, L.; PINTO, N.A.V.D.; SANTOS, A.S. Avaliação do aproveitamento do resíduo sólido da extração de óleo de mamona (*Ricinus communis* L.) para produção de bioetanol. **Revista de Estudos Universitários**, Sorocaba, SP, v.35, p.73-85, 2009.

MACIEL, F.M.; LABERTY, M. A.; DEUS-DE-OLIVEIRA, N.; FELIX, S.P.; SOARES, M.S.; VERÍCIMO, M.A.; MACHADO, O.L.T. A new 2S albumin from *Jatropha curcas* L. seeds and assessment of its allergenic properties. **Peptides**, New York, NY, v.30, n.12, p.2103-2107, 2009.

MACIEL, F.M.; MACHADO, O.L.T. Avaliação do potencial alergênico de sementes de *Jatropha curcas* L., pinhão-mansão. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2., 2007, Brasília. **Livro de resumos**. Brasília, DF, MCT/ABIPTI/2007, 2007.

MADAIL, J.C.M.; BELARMINO, L.C.; NEUTZLING, D.M. **Aspectos Econômicos da mamona**. Sistemas de Produção, 11. ISSN 1806-9207, 2007. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mamona/SistemaProducaoMamona/aspectos.htm>>. Acesso em: 09 set. 2008.

MADEIRA JÚNIOR., J.V.; MACEDO, J.A.; MACEDO, G.A. Detoxification of castor bean residues and the simultaneous production of tannase and phytase by solid-state fermentation using *Paecilomyces variotii*. **Bioresource Technology**, Essex, GB, v.102, p.7343-7348, 2011.

MAKKAR, H.P.S.; ADERIBIGBE, A.O.; BECKER, K. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. **Food Chemistry**, London, GB, v.62, p.207-218, 1998.

MANDAL, S.; MANDAL, R.K. Seed storage proteins and approaches for improvement of their nutritional quality by genetic engineering. **Current Science**, Bangalore, IN v.79, n.5, p.576-589, 2000.

MARNOCH, R.; DIOSADY, L.L. Production of mustard protein isolates from oriental mustard seed (*Brassica juncea* L.) **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, Ill., v.83, p.65-69, 2006.

MARQUIÉ, C. Chemical reactions in cottonseed protein cross-linking by formaldehyde, glutaraldehyde, and glyoxal for the formation of protein films with enhanced mechanical properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, PA, v.49, n.10, p.4676-4681, 2001.

MARQUIÉ, C.; TESSIER, A.M.; AYMARD, C.; GUILBERT, S. HPLC determination of the reactive lysine content of cottonseed protein films to monitor the extent of crosslinking by formaldehyde, glutaraldehyde, and glyoxal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., v.45, p. 922-926, 1997.

MARQUIÉ, C.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Biodegradable packaging made from cottonseed flour: formation and Improvement by chemical treatments with gossypol, formaldehyde, and glutaraldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., v.43, n.10, p.2762-2767, 1995.

MARTIN, C.; MOURE, A.; MARTÍN, G.; CARRILLO, E.; DOMÍNGUEZ, H., PARAJÓ, J. Fractional characterisation of jatropha, neem, moringa, trisperma, castor and candlenut seeds as potential feedstocks for biodiesel production in Cuba. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, GB, v.34, p.533-538, 2010.

MASHELA, P.W.; NITHANGENI, M.E. Efficacy of *Ricinus communis* fruit meal with and without *Bacillus* species on suppression of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. **Journal of Phytopatology**, v.150, p.399-402, 2002.

MELO, W.C.; PEREIRA JÚNIOR, N.; SANTOS, A. S.; SANTA ANNA, L. M. M. Acid and enzymatic hydrolysis of the residue from castor bean (*Ricinus communis* L.) oil extraction for ethanol production: detoxification and biodiesel process integration. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, SP, v.19, p.418-425, 2008b.

MELO, W.C.; SILVA, D.B.; PEREIRA JÚNIOR, N.; SANTA 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**, São Paulo, SP, v.31, p.1104-1106, 2008a.

MENDES, R.A. **A cadeia produtiva do biodiesel da mamona no Ceará**. Série BNB Teses e Dissertações, n.16, Fortaleza, CE, Banco do Nordeste, 2008.

MENDES, R.A. **Diagnóstico, análise e governança e proposição de gestão para a cadeia produtiva do biodiesel de mamona (CP/BDMA): o caso do Ceará**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

MIZUBUTI, I.Y., RIBEIRO, E.L.A.; PEREIRA, E.S.; PINTO, A.P.; FRANCO, A.L.C.; SYPERRECK, M.A.; DÓREA, J.R.R.; CUNHA, G.E.; CAPELARI, M.G.M.; MUNIZ, E.B. Cinética de fermentação ruminal in vitro de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do biodiesel pela técnica de produção de gás. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, PR, v.32, suplemento 1, p.2021-2028, 2011.

MIZUBUTI, I.Y.; BIONDO JÚNIOR, O.; SOUZA, L.W.O.; SILVA, R.S.S.F.; IDA, E.I. Response surface methodology for extraction optimization of pigeon pea protein. **Food Chemistry**, London, GB, v.70, p.259-265, 2000.

MONGEAU, R.; SIDDIQUI, I.R.; EMERY, J.; BRASSARD, R. Effect of dietary fiber concentrated from celery, parsnip, and rutabaga on intestinal function, serum, cholesterol, blood glucose response in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., v.38, n.2, p.195-200, 1990.

MOREIRA, J.F.C.; RODRÍGUEZ, M.; FERNANDES, P.C.C.; VELOSO, C.M.; SALIBA, E.O.S.; GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; BORGES, A.L.C.C. Concentrados protéicos para bovinos. 1. Digestibilidade *in situ* da matéria seca e da proteína bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v.55, n.3, p.315-323, 2003.

MORRE, M.A.; PARK, C.B.; TSUDA, H. Soluble and insoluble fiber influences on cancer development, **Critical Review in oncology and hematology**, Boca Raton, Fl., v.27, n.3, p.229-242, 1998.

MOSHKIN, V.A. **Castor**. New Delhi: Amerind, 1986, 315p.

MOTA, C.J.A.; PESTANA, C.F.M. Co-produtos da Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, RJ, v.3, n.5, p.416-425. 2011.

MOTTOLA, A.C.; MACKEY, B.; HERRING, V. Castor meal antigen deactivation pilot plant steam process. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, Ill., v.48, p.510-513, 1971.

MWASARU, M.A.; MUHAMMAD, K.; BAKAR, J.; MAN, Y.B.M. Effects of isolation technique and conditions on the extractability, physicochemical and functional properties of pigeon pea (*Cajanus cajan*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) protein isolates. I. Physicochemical properties. **Food Chemistry**, London, GB, v.67, p.435-443, 1999.

NARANG, U.; ANDERSON, G.P.; LIGLER, F.S.; BURANS, J. Fiber optic-based biosensor for ricin. **Biosensors & Bioelectronics**, Essex, GB, v.12, n.9, p.937-945, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 17th ed. Washington: National Academy Press, 2001. p.105-161.

NAUFEL, F.; ASSIS, F.P.; REZENDE, M.L.R.; ROCHA, G.L.; BECKER, M.; CAIELLI, E.L.; LEÃO, J.F.S.; KALIL, E.B. Efeitos comparativos da administração de farelos de torta de mamona atoxicada, de soja e de algodão na dieta de vacas em lactação. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v.20, p.47-53, 1962.

NEVES, V.A.; LOURENÇO, E.J.; SILVA, M.A. Extração, isolamento e fracionamento de proteína de tremçoço (*Lupinus albus*) var. Multolupa. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, SP, v.12, p.115-130, 2001.

OGUNNIYI, D.S. Castor oil: A vital industrial raw material. **Bioresource Technology**, Essex, GB, v.97, p.1086-1091, 2006.

OLIVEIRA, A.S. **Co-produtos da extração de óleo de sementes de mamona e de girassol na alimentação de ruminantes**. 2008. 166f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

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**, Amsterdam, NL, v.158, n.1, p.15-28, 2010b.

OLIVEIRA, A.S.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; SOUZA, S.M.; FONSECA, A.B.; AZEVEDO, J.A.G. Uso alternativo dos co-produtos da mamona. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL. 1., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília, 2006. v.2, p.8-13.

OLIVEIRA, A.S.; OLIVEIRA, M.R.C.; CAMPOS, J.M.S.; LANA, R.P.; MACHADO, O.L.T.; RETAMAL, C.A.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. *In vitro* ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, NL, v.157, p.41-54, 2010a.

OLSNES, S.; KOZLOV, J. Ricin. **Toxicon**, Elmsford, NY, v.39, n.11, p.1723-1728, 2001.

ORLIAC, O.; ROUILLY, A.; SILVESTRE, F.; RIGAL, L. Effects of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. **Polimer**, London, GB, v.43, p.5417-5425, 2002.

ORLIAC, O.; ROUILLY, A.; SILVESTRE, F.; RIGAL, L. Effects of various plasticizers on the mechanical properties, water resistance and aging of thermo-moulded films made from sunflower proteins, **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, NL, v.18, p.91-100, 2003.

OSTIN, A.; BERGSTRO, T.; FREDRIKSSON, S.A.; NILSSON, C. Solvent assisted trypsin digestion of ricin for forensic identification by LC-ESIMS/MS. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v.79, n.16, p.6271-6278, 2007.

PARAMAN, I., HETTIARACHCHY, N.; SCHAEFER, C.; BECK, M. I. Hydrophobicity, solubility, and emulsifying properties of enzyme-modified rice endosperm protein. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, Minn., v.84, n.4, p.343–349, 2007.

PASCUAL-ALBERTO, M.J.; PÉREZ-MUNUERA, I.; LLUCH, M.A. Estructura del cotiledón de la semilla de almendra (*Prunus amygdalus* L.) cruda, remojada y tostada. **Food Science and Technology International**, London, GB, v.4, p.189-197, 1998.

PENHA, M. N.C.; SILVA, M.D.P.; MENDONÇA, K.K.M.; BRANDÃO, K.S.R.; MACIEL, A.P.; SILVA, F.C. Caracterização físico-química da semente e óleo de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) cultivado no Maranhão. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2., 2007, Brasília. **Anais...** Brasília, 2007.

PEREA-FLORES, M.J.; CHANONA-PÉREZ, J.J.; GARIBAY-FEBLES, V.; CALDERÓN-DOMINGUEZ, G.; TERRÉS-ROJAS, E.; MENDOZA-PÉREZ, J.A.; HERRERA-BUCIO, R. Microscopy techniques and image analysis for evaluation of some chemical and physical properties and morphological features for seeds of the castor oil plant (*Ricinus communis*). **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 34, p.1057-1065, 2011.

PERRONE, J.C.; IACHAN, A.; DOMONT, G.B.; DISITZER, L.V.; CASTRO, V.R.O.; ROITMAN, R.; GOMES, S.M. **Contribuição ao estudo da torta de mamona**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Tecnologia, 1966. 51p.

PETERSON, M.P. Composition and nutritional characteristics oat grain and product. In: MARSHALL, H.G.; SOLLELLS, M.S. (Ed.) **Oat science and technology**. American Society Agronomic, 1992. p. 266-287.

PITA, R.; ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M.R. Ricina: uma fitotoxina de uso potencial como arma. **Critical Reviews in Toxicology**, Boca Raton, Fl., v.21, p.51-63, 2004.

PREGO, I.; MALDONADO, S.; OTEGUI, M. Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. **Annales Botanici Fennici**, Helsinki, FI, v.82, p.481-488, 1998.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. São Paulo: Nobel, 1980. 541 p.

RANGEL, L.P.; PERES, S. CASTELLETTI, C. E. M. Estudo da viabilidade técnica para geração de energia elétrica a partir dos resíduos da mamona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1., 2004, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande, 2004.

REIS, M.L. **Farelo de mamona destoxificado em dietas para terminação de ovinos em confinamento**. 2008. 30f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2008.

RIBEIRO, N. M.; AVILA, F. D. F. Métodos para desintoxicação de tortas de oleaginosas. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2007, Brasília. **Anais...** Brasília, 2006. v.1, p.34-37.

RICKERT, D.A.; MEYER, M.A.; HU, J.; MURPHY P.A. Effect of extraction pH and temperature on isoflavone and saponin partitioning and profile during soy protein isolate production. **Journal of Food Science**, Chicago, Ill., v.69, n.8, p. 623-631, 2004.

ROCKENBACH, I.I.; SILVA, G.L.; RODRIGUES, E.; KUKOSKI, E.M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, v.28, p.238-244, 2008.

ROELS, S.; COOPEMAN, V. VANHAELEN, P.; CORDONNIER, J. Lethal ricin intoxication in two adult dogs: toxicologic and histopathologic findings. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, Columbia, Nevada**, v.22, n.3, p.466-468, 2011.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.C.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, 3.ed., 2011. 252 p.

ROUILLY, A.; MÉRIAUX, A.; GENEAU, C.; SILVESTRE, F. RIGAL, L. Film extrusion of sunflower protein isolate. **Polymer Engineering and Science**, Stanford, Conn., v.46, p.1635-1640, 2006.

SÁ, R.M.; FRANCISCO, A.; SOARES, F.C.T. Composição química do cultivar de Aveia (*Avena sativa* L.) IAC 7 e influência do processamento térmico sobre suas características. **Brasilian Journal Food Technology**, Campinas, SP, v.1, n.1, p.53-58, 1998.

SALGADO, P.R.; ORTIZ, S.E.M.; PETRUCCELLI, S.; MAURI, A.N. Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds. **Food Hydrocolloids**, Oxford, GB, v. 24, p. 525-533, 2010.

SALIMON, J.; NOOR, D.A.M.; NAZRIZAWATI, A.T.; MOHD FIRDAUS, M.T.; NORAISHAH, A. Fatty acid composition and physicochemical properties of malaysian castor bean *ricinus communis* L. seed oil. **Sains Malaysiana**, Kelana Jaya, Malaysian, v.39, n.5, p.761-764, 2010.

SANTANA, O.P.; CALDAS, G.C.; ARAÚJO, P.E.S. Resposta comparativa de bovinos jovens em confinamento, ao farelo de mamona adubo e lex protéico. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1971, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 1971.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: guide for personal computer: version 9.1, Cary, NC, 2003. 235p.

SAVY FILHO, A. **Mamona Tecnologia Agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105 p.

SAVY FILHO, A. Melhoramento da mamona. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 385-485.

SCHOLZ, V.; SILVA, J.N. Prospects and risks of the rise of castor oil as a fuel, **Biomass and Bioenergy**, Oxford, GB, v.32, p.95-100, 2008.

SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K.H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: INTERNATIONAL RAPESEED CONGRESS, 10., 1999, Canberra. Gosford, Australia: Regional Institute, 1999. paper 241. Disponível em: <<http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/241.htm>>. Acesso em: 05 maio 2008.

SEED BIOLOGY PLACE. Endospermic Seed Structure (Eudicots): Euphorbiaceae – castor bean – *Ricinus communis*. 2000. Disponível em: <<http://www.seedbiology.de/structure.asp>>. Acesso em: 16 abril 2010.

SEVERINO, L. S.; MILANI, M.; BELTRÃO, N. E. M. **Mamona: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Campina Grande Embrapa Algodão, 2006.

SEVERINO, L.S. **O que sabemos sobre a torta de mamona**. Campina Grande: Embrapa Algodão, (**Documentos**, 134), p.31, 2005.

SEVERINO, L.S.; COSTA, F.X.; BELTRÃO, N.E.M.; LUCENA, A.M.A.; GUIMARÃES, M.M.B. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, PB, v.5, n.1, 2004.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: Propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SIDDIQUI, M.A.; ALAM, M.M. Integrated Management of plant parasitic nematodes with oilcakes, nematicides and ploughing. **Pakistan Journal of Nematology**, v.17, n.2, p.129-136, 1999.

SILVA FILHO, J.C.; AGUIRRE, M.J.A.; SILVA, A.G. Determinação da composição mineral de subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação animal, pela técnica de ativação neutrônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.34, n.2, p.235-241, 1999.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SILVA, P.R.F.; FREITAS, T.F.S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.38, n.3, p.843-851, 2008.

SOUSA, M.S.B.; VIEIRA, L.M; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, SP, v.14, p.202-210, 2011.

SOUZA, A.D.V.; FAVARO, S.P.; ITAVO, L.C.V.; ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-mansão, nabo-forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.44, n.10, p.1328-1335, 2009.

TAKAKURA, F.S. **Avaliação de fontes de amido para alimentos extrusados para cães**. 2003. 106f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

TANG, C.H.; TEN, Z.; WANG, X.S.; YANG, X.Q. Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa, v.54, p.8945-8950, 2006.

TAVASOLIAN, B.; NIKPOUR, S.; MAKANVAD, B. Isolated protein from castor bean, peanut, soy bean and sunflower meals. **Iranian Journal of Public Health.**, Republic Islamic of Iran, Iran, v.10, p.17-24, 1981.

TÁVORA, F.J.A.F. **A cultura da mamona**. Fortaleza: Empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará, 1982. p.111.

THARANATHAN, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v.14, p.71-78, 2003.

THE INTERNATIONAL CASTOR OIL ASSOCIATION. The processing of castor meal for detoxification & deallergenation. **Technical Bulletin**, n.1, 1989.

THORPE, S.C.; KEMEDY, D.M.; PANZANI, R.C.; MCGULR, B.; LORD, M. Allergy to castor bean II – identification of the major allergens in castor bean seeds. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Saint Louis, Mo., v.82, p.62-67, 1988.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. Imunidade cruzada pelas sementes de *Abrus precatoribus* e *Ricinus communis* em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, RJ, v.17, n.1, p.25-35, 1997.

TÖMÖSKÖZI, S.; LÁSZTITY, R.; HARASZI, R.; BATICZ, O. et al. Isolation and study of the functional properties of pea proteins. **Nahrung**, Berlin, DE, v.45, n.6, p.399-401, 2001.

TRUGO, N.M.F. **Isolamento e caracterização química e físico-química de alérgenos de mamona**. 1979. 110f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1979.

VAN CLEEF, E.H.C.B. **Tortas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) e pinhão-manso (*Jatropha curcas*): caracterização e utilização com aditivos na ensilagem de capim elefante**. 2008. 77f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

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

VAN SOEST, P.J.; FERREIRA, A.M.; HARTLET, R.D. Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia treated forages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, NL, v.10, p.156-164, 1984.

VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant-cell constituents. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, DC, v.50, p.50-55, 1967.

VANDERHOOF, J.A. Immunonutrition: The role of carbohydrates. **Nutrition Research**, Tarrytown, NY, v.14, n.7/8, p.595-598, 1998.

VARELA, P.; AGUILERA, J.M.; FISZMAN, S. Quantification of fracture properties and microstructural features of roasted *Marcona* almonds by image analysis. **Food Science and Technology**, London, GB, v.41, p.10-17, 2008.

VIEIRA, M.M.M.; CÂNDIDO, M.J.D.; BOMFIM, M.A.D.; SEVERINO, L.S.; PEREIRA, E.S.; BESERRA, L.T.; MENESES, A.J.G.; FERNANDES, J.P.B. Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com dietas contendo quatro níveis de farelo de mamona. **Revista Ceres**. Viçosa, MG, v.58, n.4, p.444-451, 2011.

VIEIRA, R.C.; CABRAL, L.C.; PAULA, A.C.O. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.34, n.7, p.1277-1283, 1999.

WALKER, A.R.P. Does the dietary fiber hypothesis really work? **Cereal Foods World**, Minneapolis, Minn., v.38, n.3, p.128-134, 1993.

WALLACE, R.J.; ONODERA, R.; COTTA, M.A. Metabolism of nitrogen-containing compounds. In HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds). **The rumen microbial ecosystem**, 2.ed. London: Chapman & Hall, 1997. p.283-328.

WALTER, M.; SILVA, L.P.; PERDOMO, D.M.X. Amido disponível e resistente em alimentos: Adaptado do método da AOAC 996.11. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, SP, v.16, n.1, p.39-43, 2005.

WANG, M.; HETTIARACHCHY, N. S.; QI, M.; BURKS, W.; SIEBENMORGEN, T. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Georgia, US, v.47, n.2, p.411-416, 1999.

WANG, M.L.; MORRIS, J.B; TONNIS, B.; PINNOW, D.; DAVIS, J., RAYMER, P.; PEDERSON, G.A. Screening of the entire USDA castor germplasm collection for oil content and fatty acid composition for optimum biodiesel production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Georgia, US, v.59, n.14, p.9250-9256, 2011.

WANI, A.A.; KAUR, D.; AHMED, I.; SOGI, D.S. Extraction optimization of watermelon seed protein using response surface methodology. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology**, v.41, p.1514-1520, 2008.

WÄSHE, A.; WURST, S.; BORCHERDING, A.; LUCK, T. Film forming properties of rape-seed protein after structure modification. **Nahrung**, Berlin, DE, v.42, p.269-271, 1998.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, London, GB, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

YOULE, R.J.; HUANG, A.H.C. Evidence that the castor bean allergens are the albumin storage proteins in the protein bodies of castor bean. **Plant Physiology**, Minneapolis, Minn., v. 61, n.6, p.1040-1042, 1978.

YOUNG, C.T.; SCHADEL, W.E.; PATTEE, H.E.; SANDERS, T.H. The microstructure of almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb cv. Nonpareil) cotyledon. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology**, London, GB, v.37, p.317-322, 2004.