



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS



Área de Concentração: Ciência de Alimentos

ANÁLISE DA DETOXIFICAÇÃO DO FARELO DE MAMONA E O
EFEITO ANTIOXIDANTE NA ALIMENTAÇÃO DE OVINOS
MESTIÇOS DA RAÇA SANTA INÊS

Autor: Ana Clara Guimarães Carvalho

Orientador: Prof. D. Sc. Leandro Soares Santos

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
2023

ANA CLARA GUIMARÃES CARVALHO

**ANÁLISE DA DETOXIFICAÇÃO DO FARELO DE MAMONA E O
EFEITO ANTIOXIDANTE NA ALIMENTAÇÃO DE OVINOS
MISTIÇOS DA RAÇA SANTA INÊS**

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. D. Sc. Leandro Soares Santos.
Co-Orientadora: Prof. Dra. Aline Cardoso Oliveira

**ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
2023**

636.085 Carvalho, Ana Clara Guimarães.
C321a Análise da detoxificação do farelo de mamona e o efeito antioxidante na alimentação de ovinos mestiços da raça Santa Inês. / Ana Clara Guimarães Carvalho. – Itapetinga-BA: UESB, 2023.

86f.

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Área de Concentração: Ciência de Alimentos. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Leandro Soares.

1. Ovinos – Farelo de mamona detoxicado. 2. Farelo de mamona detoxicado - Antioxidante. 3. Farelo de mamona – Ração – Ácidos graxos. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Santos, Leandro Soares. III. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Ovinos – Alimentação – Farelo de mamona detoxicado - Antioxidante

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "ANÁLISE DA DETOXIFICAÇÃO DO FARELO DE MAMONA E O EFEITO ANTIOXIDANTE NA ALIMENTAÇÃO DE OVINOS MISTIÇOS DA RAÇA SANTA INÉS."

Autor (a): ANA CLARA GUIMARÃES CARVALHO

Orientador (a): Prof. Dr. Leandro Soares Santos

Coorientador (a): Aline Cardoso Oliveira Visintin

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de *MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS*, pela Banca Examinadora.

 Documento assinado digitalmente
DANIELA OLIVEIRA DOS SANTOS
Data: 20/08/2023 09:53:08 -0300
Verifique em <https://validar.ig.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Daniela Oliveira dos Santos
UESB

 Documento assinado digitalmente
ALINE CARDOSO OLIVEIRA VISINTIN
Data: 20/08/2023 14:02:20 -0300
Verifique em <https://validar.ig.gov.br>

Prof.^a Dr.^a. Aline Cardoso Oliveira Visintin
UFAL

 Documento assinado digitalmente
LEANDRO SOARES SANTOS
Data: 27/08/2023 14:58:47 -0300
Verifique em <https://validar.ig.gov.br>

Prof. Dr. Leandro Soares Santos
Orientador - UESB
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 16 de agosto de 2023.

Uma semente cresce sem som, mais uma árvore cai com ruído enorme. A destruição tem ruído, mas a criação é silenciosa. Esse é o poder do silêncio. Crescer silenciosamente.

Confúcio

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que não me deixou desistir diante de tantas adversidades, dando a oportunidade de renascimento.

A meu filho, Ravi Teixeira Guimarães, que ainda em meu ventre me acompanhou durante essa jornada, dando força para que eu não desistisse.

Ao meu esposo, José Bonifácio Teixeira Filho, que abriu mão de tantos momentos juntos e das tantas viagens que fez para está comigo, possibilitando a realização dessa pós.

A minha família, em especial minha vó Natércia (In memoria) por toda força e confiança.

Ao meu orientador, Leandro Soares da Silva, pela paciência, zelo e ideias compartilhadas.

A minha co-orientadora, Aline, por todo o suporte e oportunidade para execução desse trabalho.

Aos colegas de laboratório, em especial, Amanda, Acsa, Roberta e Renata, por toda convivência e auxílio.

Aos colegas do Lep, em especial, Renatinha, Karine e Bella, colegas que lembrarei por toda uma vida.

As colegas do laboratório de leite, em especial a Jô por todo carinho e atenção.

Aos colegas de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Aos funcionários da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, em especial, Gil e Tarcísio que nos intervalos e finais de semana tornavam o trabalho ainda mais especial, obrigada por todas as conversas e risadas.

A todos que contribuíram de forma direta e indireta com esse trabalho.

A FAPESB, pela concessão da bolsa de estudos.

Obrigada!

ÍNDICE

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. Mamona: Aspectos Gerais	12
2.2 Mamona na Produção de Biodiesel	13
2.3. Toxicidade do Farelo de Mamona	15
2.4. Ricina	17
2.5. Destoxificação do Farelo de Mamona	19
2.6. Caracterização do processo fermentativo sobre as proteínas	20
2.7. Processo de Fermentação na Formação da Ensilagem.....	21
2.8. Capacidade antioxidante da mamona	22
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivo Geral	24
3.2. Objetivos Específicos	24
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	25

CAPÍTULO 2

1. INTRODUÇÃO	31
2. MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1. Detoxificação do farelo de Mamona por Hidróxido de Cálcio e por Ensilagem	33
2.2 Detoxificação da ricina por Hidróxido de Calcio e sua capacidade de desnaturação através do processo fermentativo por meio da ensilagem	33
2.3. Obtenção de extratos para análise de Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)	34
2.4. Extração e purificação da ricina para análise de Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)..	34
2.5. Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)	35

2.6. Fixação das proteínas.....	36
2.7. Obtenção de extratos para análise de Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC).....	36
2.8. Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC).....	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)	38
3.2 Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC)	42
4. CONCLUSÃO	47
5. REFERÊNCIAS	48

CAPÍTULO 3

1. INTRODUÇÃO	52
2. MATERIAL E MÉTODOS	54
2.1. Análise do lombo de ovinos mestiços da raça Santa Inês	54
2.2. Animais, delineamento experimental e instalações	54
2.3. Manejo e tratamentos	54
2.4. Composição e análise da dieta	54
2.5. Obtenção de extratos para análise antioxidante	55
2.6. Constituintes Fenólicos Totais - CFT	56
2.7. Constituintes Flavonoides Totais - FT	56
2.8. Determinação de atividade sequestradora do radical DPPH	57
2.9. Determinação da capacidade antioxidante in vitro pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno:ácido linoleico-BCAL	57
2.10. Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro - (FRAP)	58
2.11. Extração de lipídios totais da carne de ovinos alimentados com farelo de mamona acrescido de cana-de-açúcar	59

2.12. Transesterificação dos triacilgliceróis da carne de ovinos alimentados com farelo de mamona acrescido de cana-de-açúcar	59
2.13. Determinação e quantificação de ácidos graxos por cromatografia da carne de ovinos alimentados com farelo de mamona acrescido de cana-de-açúcar	60
2.14. Extração de lipídios totais das amostras com farelo de mamona acrescida de cana-de-açúcar	60
2.15. Transesterificação dos triacilgliceróis das amostras com farelo de mamona acrescida de cana-de-açúcar.....	60
2.16. Análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos por cromatografia das amostras com farelo de mamona acrescida de cana-de-açúcar.....	61
2.17. Extração de matéria graxa para análise de colesterol	61
2.18. Determinação e quantificação de colesterol por HPLC	62
2.19. Análise de oxidação lipídica nas carnes de ovino	62
2.20. Análise estatística dos dados	63
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	64
3.1. Constituintes fenólicos, flavonoides totais e capacidade antioxidante	64
3.2 Análise de ácidos graxos na ração	68
3.3. Perfil de ácidos graxos na carne	70
3.4. Teor de colesterol em ovinos alimentados com cana de açúcar acrescida de farelo de mamona tratada	74
3.5 Análise de oxidação lipídica da carne.....	75
4. CONCLUSÃO	77
5. REFERÊNCIAS	78

LISTA DE TABELA

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Principais produtores mundiais de mamona em 2010.....	12
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Composição percentual dos ingredientes nas dietas experimentais.....	55
Tabela 2 – Potencial antioxidante da silagem de cana-de-açúcar sem adição e com o farelo de mamona.....	64
Tabela 3 - Potencial antioxidante das amostras de silagens de cana-de-açúcar aditivadas com farelo de mamona tratado com hidróxido de cálcio e farelo de mamona tratado pelo processo fermentativo após o desdobramento. Médias de tratamento considerando a interação significativa.....	67
Tabela 4 - Médias de tratamento, considerando a interação não significativa.....	68
Tabela 5 – Composição de ácidos graxos no farelo de mamona e volumoso.....	69
Tabela 6 – Média das áreas dos picos de ácidos graxos da carne de ovinos mestiços Santa Inês, submetidos a dietas com diferentes níveis de farelo de mamona destoxificado.....	70
Tabela 7 – Perfil de ácidos graxos do lombo de ovinos alimentados com silagem de cana-de-açúcar aditivada de farelo de mamona destoxificada.....	73
Tabela 8 – Teor de colesterol do lombo de ovinos mestiços da raça Santa Inês, alimentados com silagens de cana-de-açúcar acrescida de farelo de mamona destoxificado.....	75
Tabela 9 – Teor de oxidação lipídica no lombo de ovinos mestiços da raça Santa Inês, alimentados com silagens de cana-de-açúcar acrescida de farelo de mamona destoxificado...	76

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1** - Aspectos visuais: Fruto da mamoeira (A), Semente de mamona (B); Farelo de mamona após a extração do óleo de ricino (C). Fonte: Própria autoria. 13
- Figura 2** - Fluxograma do processo de extração do óleo de mamona. Fonte: Campos; Santos, 2015 adaptada de Leiras, 2006. 15
- Figura 3** - Fórmula estrutural da ricinina. Fonte: Embrapa (2009) 16
- Figura 4** - Estrutura tridimensional da ricina. (A) cadeias polipeptídicas A e B; (B) Pontes de sulfeto e o sítio de ligação à galactose. Fonte: Embrapa 18
- Figura 5**- Estrutura da semente de mamona. Fonte: Seed Biology Place (2000)..... 18

CAPÍTULO 2

- Figura 1** - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de marcador de peso molecular (MM), mamona (MA) e padrão de Ricina extraída e purificada em laboratório (P). A cadeia A e B estão identificadas por setas.....38
- Figura 2** - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), controle (silagem de cana-de-açúcar sem adição de farelo de mamona (1), silagem de cana de açúcar com adição de 5% FMT (6), silagem de cana de açúcar com adição de 10% FMT (7), silagem de cana de açúcar.....39
- Figura 3** - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), matéria original com adição de 5% FMT, matéria original com adição de 10% FMT, matéria original com adição de 15% FMT e matéria original com adição de 20% FMT (13) tratada com hidróxido de cálcio sem o processo de ensilagem.....40
- Figura 4** - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), matéria original com adição de 5% FM (14), matéria original com adição de 10% FM (15), matéria original com adição de 20% FM sem o processo de ensilagem (16).....40
- Figura 5** - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), mini silo com 5% de FM (17), mini silo com 10% de FM (22), mini silo com 15% FM (27) e mini silo com 20% de FM (32) tratadas pelo processo fermentativo.....41
- Figura 6** - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular da amostra de farelo de mamona.....42
- Figura 7**- Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, contendo com farelo de mamona, controle (silagem de cana-de-açúcar sem adição de farelo de mamona (1), silagem de cana de açúcar com adição de 5% FMT (6), silagem de cana de açúcar com adição de 10% FMT (7), silagem de cana de açúcar com adição de 15% FMT (8) e silagem de cana de açúcar com adição de 20% FMT (9) tratadas com hidróxido de cálcio (A) e matéria original com adição de 5% FMT, matéria original com adição de 10% FMT, matéria original com adição de 15% FMT e matéria original com adição de 20% FMT (13) tratada com hidróxido de cálcio sem o processo de ensilagem (B).....43
- Figura 8** - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, com farelo de mamona, matéria original com adição de 5% FM, matéria original com adição de 10% FM, matéria original com adição de 20% FM sem o processo de ensilagem (A) e mini silo com 5% de FM (17), mini silo com 10% de FM (22), mini silo com 15% FM (27) e mini silo com 20% de FM (32) tratadas pelo processo fermentativo (B).....44
- Figura 9** - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, contendo farelo de mamona, amostras em repetição de mini silo com 5% de farelo de mamona tratada pelo processo

fermentativo (A) e amostras em repetição de mini silo com 10% de farelo de mamona tratada pelo processo fermentativo (B).....45

Figura 10 - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, contendo farelo de mamona, amostras em repetição de mini silo com 15% de farelo de mamona tratada pelo processo fermentativo (A) e amostras em repetição de mini silo com 20% de farelo de mamona tratada pelo processo fermentativo (B)45

LISTA DE ABREVIACOES

Abs – Absorbância

BCAL - Co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

CE₅₀ - concentração de efeito para inibir 50% do radical testado

CFT - constituintes fenólicos totais

°C – grau Celsius

cm - centímetro

DPPH - radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilil

FM – farelo de mamona

FMT – farelo de mamona tratada

FRAP – capacidade de redução férrica

FT - constituintes flavonoides totais

HCl – ácido clorídrico

IC – concentração inibitória

kDa – quiloDalton

Kg - quilograma

L - litro

MN – matéria natural

mg - miligrama

ml – mililitro

mm - milímetro

mmol/L - milimol

NaCl – cloreto de sódio

pH - Potencial Hidrogeniônico

PNPB - programa nacional de produção e uso de biodiesel

RCA - ricinus communis aglutinina

Rpm – rotação por minuto

RIP - proteína inativadora de ribossomos

SDS-PAGE - Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil- sulfato de sódio

μ m – Micrómetro

μ l – microlitro

% - porcentagem

RESUMO

CARVALHO, A. C. G. **Análise da detoxificação do farelo de mamona e o efeito antioxidante na alimentação de ovinos mestiços da raça Santa Inês.** Dissertação. (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).

O farelo de mamona, resíduo disponível após a extração do óleo, ostenta uma larga gama de benefícios, entre eles, quantidade proteica elevada. Sendo considerado uma excelente fonte para a alimentação animal. Contudo, apresenta em sua composição a ricina, proteína tóxica, que deve ser desnaturada para que o farelo possa ser ofertado de maneira segura aos animais. O presente estudo foi elaborado a partir de dois experimentos, analisando a realização de dois ensaios ocorridos na Universidade Federal de Alagoas, campus de Arapiraca – AL, o que desencadeou três capítulos. No **primeiro capítulo** descreveu-se sobre a mamona, toxicidade, desintoxicação, caracterização do processo fermentativo sobre as proteínas e aplicação na alimentação animal. Já no **segundo capítulo**, analisou-se a realização do ensaio 1, onde o farelo de mamona foi submetido a detoxicação por hidróxido de cálcio. Após esse procedimento, o FM foi acrescido a cana-de açúcar nos níveis de inclusão de (0, 5, 10, 15 e 20%), misturada, ensilada e moída. Além disso, amostras de FM, foram avaliadas quanto ao potencial do processo fermentativo em desnaturar a ricina por meio da ensilagem da cana-de-açúcar, onde a mistura de cana e farelo nos diferentes níveis (0, 5, 10, 15 e 20% de FM) foram armazenados em silos pelo período de 60 dias. Após esse intervalo, as silagens foram coletadas, levadas a estufa, moídas, acondicionadas em embalagens e enviadas a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia para posterior análise. As amostras tratadas com hidróxido de cálcio e através da fermentação, foram analisadas por meio da técnica eletroforética SDS-PAGE e cromatografia por exclusão de tamanho (SEC). Os resultados mostraram em ambas as técnicas de análise a remoção de bandas características da proteína ricina, tanto em amostras tratadas com hidróxido de cálcio como nas silagens. No **terceiro capítulo**, avaliou-se o ensaio 2, onde analisou-se a atividade antioxidante, através de constituintes fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT), atividade antioxidante por DPPH, poder redutor (PR) e proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico (BCAL), bem como avaliação da composição em ácidos graxos, teor de colesterol e oxidação lipídica do lombo de ovinos alimentados com silagens de cana-de-açúcar aditivada com farelo de mamona destoxificado em diferentes níveis de inclusão. As amostras tratadas com hidróxido de cálcio foram ofertadas aos animais, realizada no setor de caprinos e ovinos da UFAL. O período experimental foi de 74 dias, os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado e submetidos a cinco tratamentos (0, 5, 10, 15 e 20% FMT) com 8 repetições cada, alimentados por 60 dias. O farelo de mamona acrescido com cana apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) nas análises CFT, FT e BCAL, entretanto, contém baixa capacidade antioxidante, exceto na análise de β -caroteno/ácido linoleico (BCAL). O perfil de ácidos graxos e colesterol no lombo não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) com a inclusão do farelo de mamona, entretanto, a oxidação lipídica teve diferença significativa ($P < 0,05$) ao elevar os níveis de farelo.

Palavras-chave: Ricina; Proteína; SDS-PAGE;

ABSTRACT

CARVALHO, A. C. G. **Analysis of the detoxification of castor bean meal and the antioxidant effect in the diet of crossbred Santa Inês sheep.** Dissertation. (Master's in Food Science and Engineering, Area of Concentration in Food Science).

Castor bean meal, a residue available after oil extraction, has a wide range of benefits, including a high amount of protein. Being considered an excellent source for animal feed. However, its composition contains ricin, a toxic protein, which must be denatured so that the bran can be offered safely to animals. The present study was prepared from two experiments, analyzing the performance of two trials that took place at the Federal University of Alagoas, Arapiraca campus – AL, which triggered three chapters. The first chapter described castor beans, toxicity, detoxification, characterization of the fermentative process on proteins and application in animal feed. In the second chapter, the performance of test 1 was analyzed, where castor bean meal was subjected to detoxification by calcium hydroxide. After this procedure, FM was added to sugar cane at inclusion levels of (0, 5, 10, 15 and 20%), mixed, ensiled and ground. Furthermore, FM samples were evaluated for the potential of the fermentative process to denature ricin through sugarcane ensiling, where the mixture of sugarcane and bran at different levels (0, 5, 10, 15 and 20 % of FM) were stored in silos for a period of 60 days. After this interval, the silages were collected, taken to the greenhouse, ground, packed in packaging and sent to the State University of Southwest Bahia for further analysis. The samples treated with calcium hydroxide and through fermentation were analyzed using the electrophoretic technique SDS-PAGE and size exclusion chromatography (SEC). The results showed, in both analysis techniques, the removal of characteristic bands of the ricin protein, both in samples treated with calcium hydroxide and in silages. In the third chapter, assay 2 was evaluated, where the antioxidant activity was analyzed, through total phenolic constituents (CFT), total flavonoids (TF), antioxidant activity by DPPH, reducing power (PR) and protection of the β -system. carotene/linoleic acid (BCAL), as well as evaluation of the fatty acid composition, cholesterol content and lipid oxidation of sheep loins fed with sugarcane silages added with detoxified castor bean meal at different inclusion levels. The samples treated with calcium hydroxide were offered to the animals, carried out in the goat and sheep sector at UFAL. The experimental period was 74 days, the animals were distributed in a completely randomized design and subjected to five treatments (0, 5, 10, 15 and 20% FMT) with 8 repetitions each, fed for 60 days. Castor bean meal added with sugarcane showed a significant difference ($P < 0.05$) in the CFT, FT and BCAL analyses, however, they contain low antioxidant capacity, except in the β -carotene/linoleic acid (BCAL) analysis. The profile of fatty acids and cholesterol in the loin did not show a significant difference ($P > 0.05$) with the inclusion of castor bran, however, lipid oxidation had a significant difference ($P < 0.05$) when increasing the bran levels.

Keywords: Ricin; Protein; SDS-PAGE;

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

REFERENCIAL TEÓRICO

OBJETIVOS

1 INTRODUÇÃO

A mamona (*Ricinus communis L.*) apresenta-se como uma das culturas mais tradicionais cultivadas na região semiárida do Brasil, possuindo grande relevância econômica e social. Pode ser aplicada em diversos setores da indústria como: indústria de cosméticos, lubrificante automotivo e produção de biodiesel. O resíduo desse processo de extração, chamado de farelo, apresenta alto valor nutricional, o que possibilita sua utilização na alimentação animal (DINIZ et al., 2011). Por volta de 55% da massa de mamona, expõe-se como subproduto após a remoção do óleo. Entretanto, possui uma proteína, a ricina, considerada uma lectina, encontrada exclusivamente no esperma da semente, que apresenta efeito tóxico (GIONBELLI et al., 2014).

Estão presentes na mamona além da ricina, a ricinina, um alcaloide, a albumina 2S, um complexo alergênico e a *Ricinus communis* aglutinina (RCA), além de apresentarem menor toxicidade quando comparada com a ricina, estão presentes em outras partes da planta, como nas folhas, por esse motivo não apresentam tanta atenção (FURTADO et al., 2011; SEVERINO, 2005).

A ricina é composta por dois polipeptídios, cadeia A e B, que apresenta peso molecular de 32kDa e 34kDa, respectivamente, ligados por pontes de dissulfeto. A cadeia B, se liga aos carboidratos da membrana celular, permitindo a entrada da cadeia A por endocitose. Ao entrar na célula, a cadeia A promove a inativação dos ribossomos, impedindo a produção de ribossomos, o que ocasiona a morte celular (FONSECA et al, 2014; SILVA et al., 2012; DA SILVA FONSECA; 2009). Uma pequena dose é letal em animais, podendo levar o homem a morte. Por isso, muitos processos de inativação da toxicidade e dos alergênicos estão sendo desenvolvidos para tornar apropriada o uso em rações animais (GIONBELLI et al., 2014).

Tratamentos físicos, químicos e biológicos tem sido utilizado na destoxificação do farelo de mamona (FMT), mas nem sempre muito eficaz, entre eles, Ca(OH), ureia, altoclavagem e fermentação (GOMES et al., 2017). Por esse motivo é frequente comercializado como fertilizante natural.

Uma eficaz detoxificação do farelo de mamona, possibilita sua utilização como fonte proteica, barateado assim os custos na substituição aos principais ingredientes, considerados como alimentos nobres, como o milho e o farelo de soja, levando em consideração a sazonalidade desses insumos, principalmente na região semiárida. Quando aditivada na silagem de cana de açúcar pode melhorar o valor nutricional, bem como, atenuar ou eliminar as toxinas após o processo de ensilagem (PAULINO, 2017).

Avaliar a inativação da toxina por métodos distintos e seguros, possibilita garantir que o processo de detoxificação foi efetivo. A eletroforese em papel e gel de acrilamida, apresenta-se como uma técnica de grande sensibilidade e é bastante utilizada na separação e identificação de proteínas, bem como, a cromatografia dispõe de elevada acuidade, separando de maneira satisfatória os compostos de interesse (SILVA et al., 2012). Andrade et al. (2015), enfatiza que é difícil avaliar a presença das bandas de ricina unicamente pelo ensaio de eletroforese, uma vez que as cadeias apresentam massa molecular próximas.

As plantas são fontes de diversas substâncias bioativas que tem ação antioxidante. Os principais compostos ativos responsáveis pela atividade antioxidante de derivados de plantas são os compostos fenólicos, flavonóides, diterpenos fenólicos e taninos (ZHANG et al., 2010). Esses extratos são preparados a partir de plantas pelo uso de diferentes solventes e métodos de extração. Dentre os benefícios associados ao FM, está a atividade antioxidante, possuindo ainda poucos estudos disponíveis na literatura como o de Martinez (2019) e Wafa et al (2014) que realizaram análises em folhas e raízes da mamona, respectivamente. Promover uma eficaz detoxificação para ofertar na alimentação animal, pode ocasionar uma ampla gama de benefícios, entre eles, tornar o alimento funcional e promover estabilidade oxidativa dos leites e derivados (MONTANHA et al., 2015).

Sendo assim, objetiva-se avaliar se o processo fermentativo pela ensilagem é capaz de detoxificar o farelo de mamona, bem como avaliar, o efeito antioxidante e aspectos de composição de lipídios e colesterol na carne de ovinos alimentados com silagem de cana-de-açúcar aditivadas com farelo de mamona.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Mamona: Aspectos Gerais

A mamona apresenta importância cultural em todo o mundo, principalmente em territórios de clima tropicais e subtropicais (DRUMOND *et al.*, 2019). *Ricinus communis L.* é conhecido por vários nomes, incluindo: mamona, carrapateira ou palma-de-cristo. Acredita-se que tenha origem na África, de onde se espalhou para o Oriente Médio como planta selvagem. O clima tropical predominante no Brasil favorece a sua disseminação e possibilita com que ela seja encontrada hoje praticamente em quase todo o território nacional (BARROS *et al.*, 2020).

Segundo Drumond *et al.* (2019) a Bahia surge como grande produtor nacional de mamona. No Brasil, a estimativa da safra de 2020/2021 encontra-se em 47,7 mil hectares, tendo um aumento de 4,8% da safra anterior, conforme dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021). Sendo a região nordeste, principal produtora, com destaque para a Bahia, onde as lavouras espalham-se por todo centro-norte, e existe a possível obtenção de lavouras de primeiro e segundo ciclo (CONAB, 2021). De acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO) os principais produtores mundiais de mamona são Índia, China e em terceiro lugar o Brasil, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 - Principais produtores mundiais de mamona em 2010

Posição	País	Produção
1	Índia	1.150.000
2	China	180.000
3	Brasil	93.025
4	Moçambique	38.600
5	Paraguai	13.000
6	Tailândia	12.197
7	Etiópia	8.400
8	Angola	7.500
9	Vietnã	6.000
10	África do Sul	5.500

Fonte: Faostat (2012).

A mamona é uma biomassa lignocelulósica do reino Plantae, Sub-reino Tracheobinta, Classe Magnoliopsida e Ordem Euphorbiales. É uma planta oleaginosa não comestível que pertence à família Euphorbiaceae, onde inclui 6745 espécies distribuídas globalmente e 218 gêneros (KAUR & BHASKAR, 2020).

A planta dispõe de diversas características, entre elas, variação no tamanho e cor da semente, assim como, no teor de óleo. A semente apresenta características alongadas, oval, ovoide ou quadrada, com tamanho entre 0,5 e 1,5cm de comprimento. E a cor pode variar de vermelho a preto ou marrom, amarelada, branca ou cinza, como apresentado na Figura 1 (KAUR & BHASKAR, 2020).

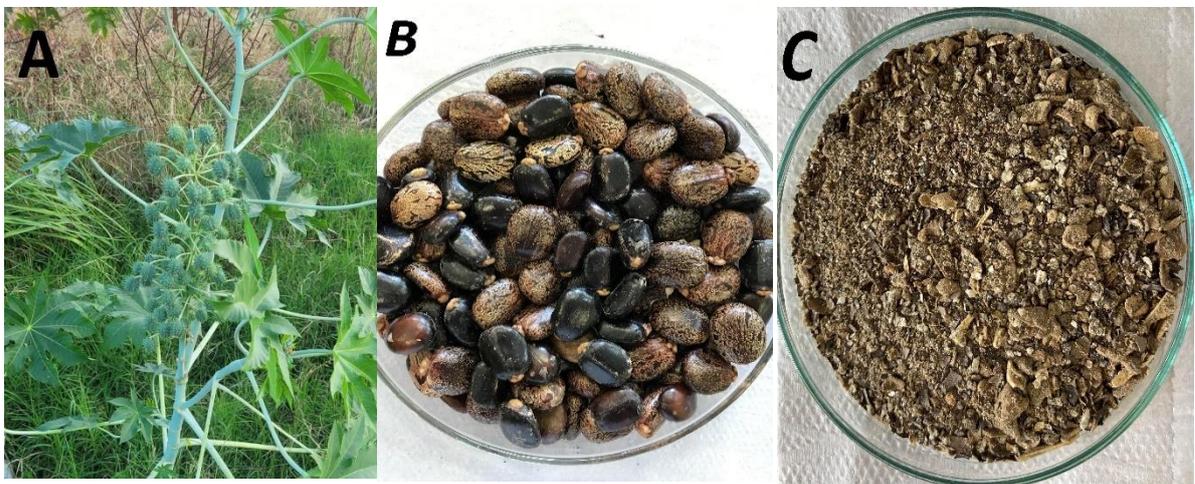


Figura 1 - Aspectos visuais: Fruto da mamoeira (A), Semente de mamona (B); Farelo de mamona após a extração do óleo de ricino (C). Fonte: Própria autoria.

2.2 Mamona na Produção de Biodiesel

Ricinus communis L. é uma oleaginosa cujo óleo apresenta grande potencial para utilização na produção do biodiesel, altamente valioso e de recurso renovável, pode ser cultivado para produção de bioenergia (RUIZ OLIVARES *et al.*, 2013).

A planta é considerada uma fonte importante de óleo por causa de suas sementes, que contêm cerca de 35–55% de óleo por peso. O óleo, também conhecido como “óleo de mamona”, possui uma enorme demanda anual em todo o mundo, estimada em 220.000 toneladas (PEREA-FLORES *et al.*, 2011). Este óleo é altamente viscoso, a sua coloração varia do amarelo pálido ao incolor, tem um odor suave e fraco e um sabor altamente desagradável, podendo se dissolver facilmente em álcool, éter, ácido acético glacial, clorofórmio, sulfato de carbono e benzeno. É composto pelos seguintes ácidos graxos: 91-95% de ácido ricinoleico, 4-5% de ácido linoleico e 1-2% de ácidos palmítico e esteárico (FALASCA; ULBERICH; ULBERICH, 2012).

Como consequência da eclosão do biodiesel no Brasil, a mamona, teve ampliação de áreas plantadas e consequentemente maior produção comercial (ARAÚJO *et al.*, 2019). Nesse sentido, a inquietude mundial com a dependência do petróleo nas matrizes energéticas, aumenta o interesse internacional para desenvolver tecnologias voltadas à produção e ao uso de energias limpas, possibilitando assim, a formação de uma nova matriz energética, em que haja a substituição progressiva do petróleo por energia renovável. Sendo o Brasil, um grande potencializador na fabricação dessas energias (SILVA *et al.*, 2011). Diante disso, o Governo Federal lançou em 2004, o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), com o objetivo de implementar de forma sustentável, técnica e econômica a produção e o uso do biodiesel no Brasil (MME, 2005).

O Governo Federal através da Lei 11.097 de 13 de Janeiro de 2005 determinou que até 2008 todo o óleo diesel consumido no Brasil deveria conter um percentual mínimo obrigatório de 2% de biodiesel (Brasil, 2005). Em relação à matriz energética global, predominam as fontes não renováveis, atualmente derivadas do petróleo, gás natural e carvão mineral, representando cerca de 80% do total de energia gerada. Este domínio suscita preocupações devido à dependência dessas fontes, seu possível esgotamento, e em relação às altas taxas de emissão de poluentes atmosféricos. Em 2017, foram consumidos mais de 98 milhões de barris diários, e as reservas descobertas representaram 1,7 trilhão de barris, desconsiderando o aumento anual de 1,8% no consumo. Essa mudança na matriz ocorre gradativamente, inserindo potenciais energéticos até então pouco explorados, e ainda buscando alternativas que resolvam problemas decorrentes como a poluição (DOMINKOVIĆ *et al.*, 2018). No entanto, a exploração de novos potenciais de energia é uma medida estratégica para reduzir a poluição, além de ser economicamente fundamental para os países anteciparem a escassez futura de fontes fósseis, especialmente importadores. Nesse cenário, surgem alternativas energéticas renováveis, mas seu aproveitamento depende de alguns fatores, como sua disponibilidade (VIEIRA; NADALETI; SARTO, 2021).

O custo de produção do biodiesel está amplamente associado à seleção da matéria-prima, o que significa que reduzir os custos do biodiesel é principalmente um exercício de encontrar matérias-primas mais baratas. O biodiesel produzido de óleo vegetal pode ser feito a partir de uma grande variedade de plantas e podem ser produzidos diretamente para uso de combustível (óleos virgens) ou reciclado de óleo vegetal. A produção de óleo virgem pode ser feito com óleos comestíveis, como mostarda, mamona, milho, palma, amendoim, óleos de semente de semente (canola), soja, girassol, cânhamo e algodão ou por óleos não comestíveis usados principalmente como fontes de combustível, como nozes de petróleo, bush de leite,

paraíso e jojoba (ROCHELLE; NAJAFI, 2019). Os resíduos gerados na extração do óleo, provenientes da semente de mamona são a farinha, bolo, glicerol, farelo e torta, que compreende cerca de metade do peso da mamona, como observado na Figura 2.

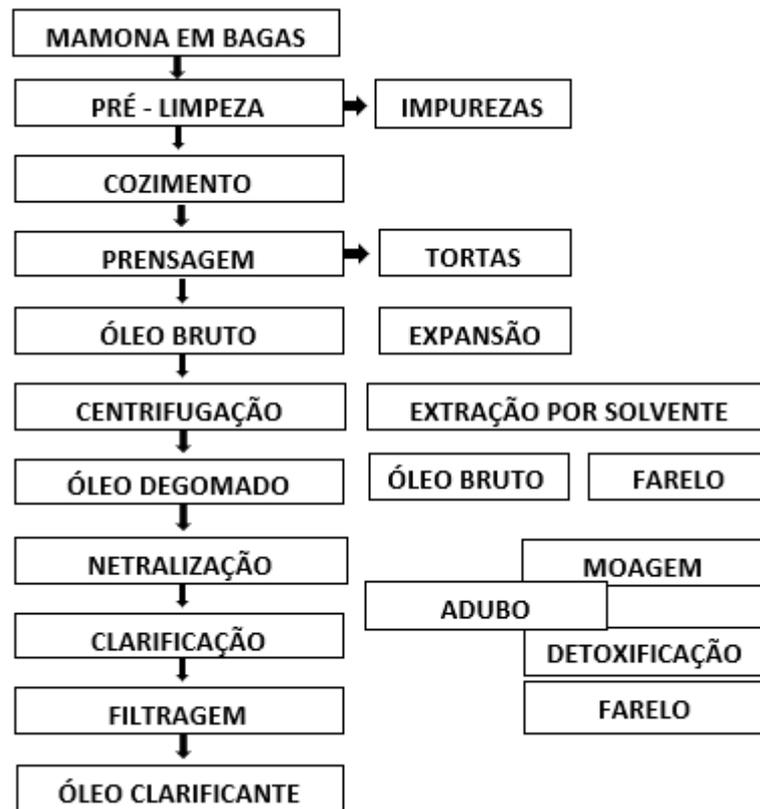


Figura 2 - Fluxograma do processo de extração do óleo de mamona. Fonte: Adaptado de Campos; Santos, 2015.

2.3 Toxicidade do Farelo de Mamona

Beltrão; Oliveira, (2009), pesquisadores da Embrapa, apresentam que o farelo da mamona dispõe de elevado valor nutritivo, sendo abundante em proteínas (41,51%), fibras (32,8%), materiais minerais (7,7%) e gorduras (2,6%). Já a proteína do farelo apresenta perfil de aminoácidos composto por: arginina (11,0%), cistina (3,5%), fenilalanina (4,2%), histidina (11,0%), isoleucina (5,3%), leucina (7,2%), lisina (3,1%), metionina (1,5%), tirosina (1,0%), treonina (3,6%), triptofano (0,6%) e valina (6,6%). Quando os grãos são descorticados, o teor de proteína da torta pode ser aumentado para 60%, tornando-se potencialmente uma excelente fonte de proteína para animais (SANTOS *et al.*, 2015).

O farelo de mamona é utilizada como fertilizante orgânico na adubação de solos, podendo ainda ser empregada como matéria-prima para a produção de aminoácidos, plásticos, em especial os biodegradáveis, colas, inseticidas, entre outros produtos (ARAUJO *et al*, 2020).

O alto valor proteico do farelo de mamona torna a atraente como alternativa para a produção de ração. Embora apresente grande potencial na alimentação de ruminantes, como substituto de fontes proteicas, como por exemplo a soja, a mamona disponibiliza em sua composição a presença de um alcaloide, a ricinina, um complexo alergênico, a albumina 2S e um composto tóxico, a ricina. Sendo assim, a presença das proteínas tóxicas presentes na semente tem inviabilizado seu uso (FURTADO et al., 2011; SEVERINO, 2005). Além da ricina como proteína toxica, outra lectina, a *Ricinus communis* aglutinina (RCA) também é encontrada nas sementes da mamona, ambas específicas por galactose e letais para células eucariontes, entretanto, a RCA apresenta menor toxicidade quando comparada com a ricina (MICHAEL LORD; SPOONER, 2011). A destoxificação, seja por processos químicos, físicos ou químico-físicos é um procedimento indispensável para a viabilização do farelo de mamona como ração, haja vista que a toxicidade da ricina é bastante alta.

A ricinina, alcaloide encontrado em todas as partes da planta, foi isolada a primeira vez por Tuson, em 1864, e teve sua estrutura determinada por Henry, em 1949. Apresenta pequena capacidade de toxicidade, devido a sua baixa concentração, que pode variar bastante entre partes da planta: 1,3% nas folhas (matéria seca), 2,5% em plântulas estioladas, 0,03% no endosperma da semente e 0,15% na casca da semente. No fruto, o teor de ricinina é alto na cápsula externa, médio na casca da semente e pequeno no endosperma. Dispõe de fórmula molecular $C_8H_8N_2O_2$, com nome químico 3-ciano-4-metoxi-N-metil-2-piridona, como apresentado na Figura 3. Os sintomas de envenenamento são caracterizados por vômito, diarreia, sede extrema, batimentos acelerados, convulsões e até morte (SEVERINO, 2005)

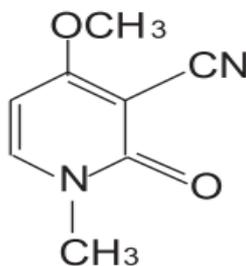


Figura 3 - Fórmula estrutural da ricinina. Fonte: Embrapa (2009)

De acordo com Beltrão; Oliveira (2009), houve a identificação de um complexo de proteínas e polissacarídeos designados CB-1A ("Albuminas 2S"), termo que surgiu de Castor Beans, significando semente de mamona, em inglês, onde 1A representa o processo que foi desenvolvido por Spies e Coulson (1943), a partir da solubilidade em água e insolubilidade em

álcool a 75%. O alergênico é composto por aproximadamente 20 isoformas de proteínas com massa molecular entre 10 e 14 kDa, pertencentes à classe das albuminas 2S, bem como, apresenta 2 cadeias polipeptídicas diferentes de 3-5 kDa e de 8-10 kDa ligadas por duas pontes dissulfeto; além de duas ligações intra-cadeias, implicando em proteínas muito estáveis e compactas. Estão presentes na semente em torno de 3% a 6%, no pólen e as partes vegetativas da planta de mamona, sendo responsáveis por reações alérgicas no homem, mas não constatada a ocorrência em animais. As albuminas 2S (10.000 Da - 18.000 Da) são resistentes à desnaturação térmica e química, podendo, mesmo após os tratamentos de destoxificação desencadear alergia por contato ou por inalação.

Outra proteína perigosa nas sementes de mamona é a *Ricinus communis* aglutinina (RCA), sendo considerada cerca de 100 a 2000 vezes menos tóxica que a ricina, quando comparada, uma única molécula de cadeia A da RCA é capaz de inativar cerca de 100 ribossomos por minuto, em contrapartida a ricina inativa cerca de 1500 (WORBS *et al.*, 2011). É uma proteína constituída por duas cadeias A e duas cadeias B, o que permitiu identificá-la devido sua alta capacidade de hemaglutinação, onde suas duas cadeias permitem aglutinar-se a duas cadeias alvos. Tanto a ricina quanto a *Ricinus communis* aglutinina, são sintetizadas no estágio de desenvolvimento, estando localizadas nos vacúolos de armazenamento da semente madura (MICHAEL LORD; SPOONER, 2011).

2.4 Ricina

A ricina é classificada como lectina, onde compõe o grupo das proteínas inovadoras de ribossomos (RIPs), apresentando dois tipos distintos, a do tipo 1 monomérica e tipo 2 dimérica. É heterodimérica constituída por duas cadeias, A e B, ligadas covalentemente por pontes de dissulfeto, como apresentada na Figura 4. A cadeia A é responsável pela inibição da síntese proteica nas células eucarióticas, onde apresenta peso molecular de 32kDa, enquanto a cadeia B com peso molecular 34kDa, é uma lectina, inativa cataliticamente, mas que serve para permitir a entrada do complexo proteico AB para o citosol (FONSECA; SOTO-BLANCO, 2014; SILVA *et al.*, 2012). Foram relatados também por outros autores as duas subunidades, ambas apresentando 32kDa (HOFFMAN *et al.*, 2007).

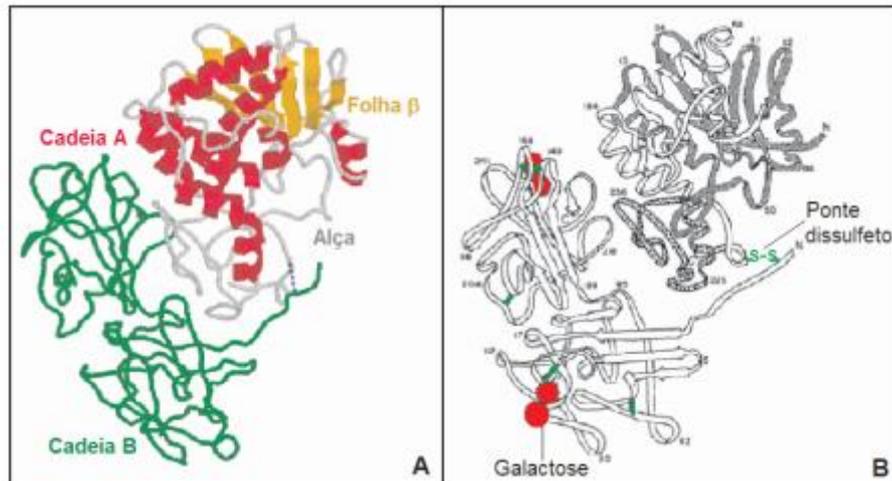


Figura 4 - Estrutura tridimensional da ricina. (A) cadeias polipeptídicas A e B; (B) Pontes de sulfeto e o sítio de ligação à galactose. Fonte: Embrapa

Caracteriza-se por apresentar um pó branco na sua forma pura, solúvel em água, estável em temperatura ambiente, mas termolábil. Encontra-se em maior quantidade no endosperma das sementes onde representa 1,5 a 4% do conteúdo proteico total da semente, como apresentado na Figura 5, local onde é sintetizada, em menor quantidade nas outras partes da planta. Sua função biológica é servir como uma proteína de armazenamento, além da sua potente toxicidade que impede a predação (FONSECA; SOTO-BLANCO, 2014).

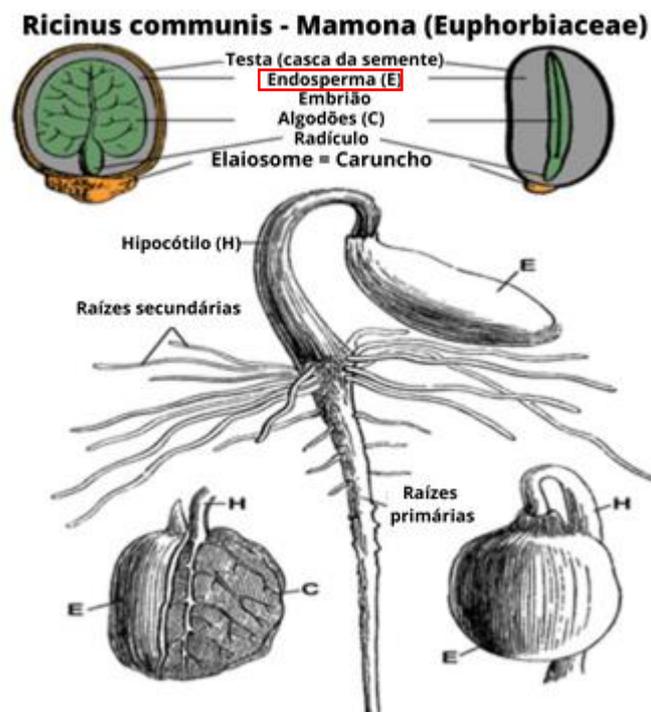


Figura 5- Estrutura da semente de mamona. Fonte: Seed Biology Place (2000)

Morais e Medeiros (2009), enfatizaram que a ricina é uma proteína extraordinariamente citotóxica para as células de seres eucariontes, sendo considerada uma das mais letais proteínas da natureza, capaz até de ser usada como arma biológica. A proteína purificada é considerada a terceira substância mais tóxica para o homem, atrás somente do plutônio e da toxina botulínica. Podendo acarretar danos locais como descamações cutâneas, inflamação pulmonar, gastroenterite, além de necrose do fígado, do baço, dos rins, com severa desidratação, falha renal, queda da pressão sanguínea e hemorragias. Todos esses riscos associados à ricina levam-na a ser classificada pelo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) como uma arma biológica de terrorismo nível B (moderadamente fácil de se disseminar e resulta em taxas moderadas de morbidade e baixas taxas de mortalidade). A toxina é potencialmente letal para os seres humanos se inalada, ingerida ou injetada (SILVA *et al.*, 2012).

Devido a importância proteica e baixo custo da matéria prima, a destoxificação do farelo de mamona, é um procedimento indispensável para a viabilização como ração, haja vista que a toxicidade da ricina é bastante alta (FURTADO *et al.*, 2011).

2.5 Destoxificação do Farelo de Mamona

O desenvolvimento de métodos para inativação da ricina são estudados a décadas. Existem diversas técnicas para promover a destoxificação, entre eles métodos físicos, químicos e biológicos, capazes de promover a destruição completa da proteína tóxica, entretanto, também possui a capacidade de reduzir o teor de nutrientes, inclusive o proteico, impossibilitando o uso na alimentação de ruminantes (MENEZES *et al.*, 2015; FONSECA; SOTO-BLANCO, 2014).

Entre os métodos físicos estão a: imersão (3, 6 e 12 h), ebulição (30 e 60 min), vaporização (30 e 60 min) ambos em água, aquecimento (100 °C por 30 min; 120 °C por 25 min) e autoclave (15psi por 30 min; 15psi por 60 min) (FONSECA; SOTO-BLANCO, 2014). Ao testar autoclave, cozimento, aquecimento, fervura e embebição, Anandan *et al.* (2005), observou que a autoclave em 15 psi por 60 minutos foi capaz de desnaturar 100% da ricina presente no farelo de mamona.

Como exemplo de métodos químicos: aplicação de amônia (7,5 e 12,5 ml/kg de torta de ricina); de formaldeído (5 e 10 g/ kg), cal (10, 20 e 40 g/kg); cloreto de sódio (5, 10 e 20 g/kg); ácido tânico (5 e 10 g/kg) e hidróxido de sódio (2,5, 5 e 10 g/kg). Andrade *et al.* (2019) avaliou dez compostos químicos na desnaturação da ricina e apenas hidróxido de sódio, utilizando 90% do composto e 2500ml de água e o óxido de cálcio utilizando 90% do composto e 2500ml de água, proporcionaram 100% e 98,38% na redução das lectinas citotóxicas.

Além destes métodos, estudos utilizando métodos biológicos de destoxificação, tem se destacado por apresentar alternativas menos onerosas e com menor impacto ambiental, quando comparada aos métodos químicos e físicos. Os fungos têm a capacidade de usar a ricina como uma fonte de nutrientes, causando uma redução do seu teor a níveis não detectáveis. A inativação por fermentação de fungos, têm sido realizados para que se torne possível o aproveitamento dos subprodutos de mamona na alimentação animal (FONSECA; SOTO-BLANCO, 2014). Godoy *et al.* (2009), utilizou fungo filamentosos *Penicillium simplicissimum* em estado sólido no farelo de mamona, observando a redução no teor de ricina a níveis não detectáveis, agregando valor a torta de mamona. Por ser um processo laborioso, exigindo cultivo prévio e utilização de cultivos complexos de fungos, podem restringir o uso na utilização para a alimentação animal.

2.6 Farelo de mamona na alimentação animal

O farelo de mamona se apresenta como uma alternativa para alimentação de ruminantes. Sua utilização surge como alternativa na redução de custos para produção animal, além de proporcionar uma grande contribuição para sustentabilidade da cadeia produtiva da mamona (SANTOS *et al.*, 2013).

Ao estudar diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificada em ovinos mestiços, observou-se que a substituição influenciou no comportamento ingestivo dos mesmos, enfatizando que a FMT pode substituir o farelo de soja na alimentação de borregas (VIEIRA; NADALETI; SARTO, 2021).

Diniz *et al.*, (2011), ao testar a farinha de mamona destoxificada com óxido de cálcio na alimentação de gado em substituição ao farelo de soja, observou resultado satisfatório mesmo estando presente uma porção máxima de 2,72g/Kg de ricina. Possibilitando a sobra de uma pequena porção dessa toxina sem trazer malefícios a saúde de ruminantes. Como enfatizado no estudo de Gomes *et al.*, (2017) que compararam os diferentes tratamentos de destoxificação, como calcário calcítico, ureia, fosfato monobicálcico, autoclavada e a mamona não tratada. Os autores identificaram que a solução com fosfato monobicálcico apresentou maior potencial para desnaturação da ricina, além disso, nas unidades analisadas, não foram observados sintomas clínicos de intoxicação nos borregos e borregas. Esse fato provavelmente ocorreu devido à microbiota ruminal ser capaz de degradar a ricina, reduzindo sua ação tóxica no animal hospedeiro.

Giobelli *et al.* (2014) avaliaram cordeiros alimentados com torta de mamona destoxificada com hidróxido de cálcio. Os autores utilizaram metodologia acessível, empregando-se um tratamento de 18 horas em temperatura ambiente, na forma úmida, sem secagem ao sol ou em estufa, onde foi possível recomendar a substituição total do farelo de soja pela torta de mamona sem efeitos negativos de peso, digestibilidade, ingestão e função hepática.

Assim como, Furtado *et al.*, (2012), verificaram utilizando torta de mamona, tratadas com calcário calcítico, ureia, fosfato monobocálcico e por autoclave, que em nenhum dos tratamentos foi possível a completa remoção das subunidades de ricina. Contudo, a torta sem tratamento de destoxificação pode ser utilizada nas dietas de ovinos como alimento proteico alternativo, participando em até 8% da ração total, sem modificação expressiva no consumo e digestibilidade.

Na literatura, alguns trabalhos têm utilizado o hidróxido de cálcio ou o processo fermentativo como alternativa na desnaturação da ricina, possibilitando a utilização na alimentação animal, entre eles, Andrade *et al.*, (2019), Gionbelli *et al.*, (2014), Madeira; Macedo; Macedo, (2011), Fernandes *et al.*, (2010), Barnes; Baldwin; Braasch (2009); Godoy *et al.*, (2009) e Anandan *et al.*, (2005).

2.7 Efeitos do processo fermentativo sobre as proteínas

A fermentação desempenha diversas funções, que incluem prolongamento de vida útil, disponibilidade de nutrientes e alteração de valores proteicos. Sementes oleaginosas, como a mamona, permitem que a atividade enzimática atue sobre elas através da fermentação, resultando em condimentos, devido hidrólise dos carboidratos e proteínas (ISHIWU; ANIH; VICTOR-ADULOJU, 2015). HAFIZ *et al* (2021) ao analisar os mecanismos de degradação na proteína através da fermentação de sementes leguminosas destacou que a proteólise é o principal evento bioquímico que ocorre durante a fermentação, está depende da ruptura das ligações dissulfeto. Além disso, a degradação de lectinas na fermentação depende das reações de troca de tiol, estas são catalisadas pelas glutatonas.

A adição do farelo de mamona na cana-de-açúcar torna-se uma alternativa interessante, diante do baixo teor proteico da cana. Sua utilização como silagem despertou interesse dos pesquisadores devido vários benéficos, entre eles, operacionalidade da técnica (MARTINS *et al.*, 2015). Aditivos acrescidos a cana de açúcar, reduzem significativamente a fermentação alcoólica, devido à redução de acidificação da massa ensilada, resultando em redução no crescimento de leveduras (ITALO *et al.*, 2010).

2.8 Capacidade antioxidante da Mamona

Em sua composição, a semente de mamona apresenta alto valor nutricional, em virtude da abundante quantidade de ácidos graxos monoinsaturados e componentes da vitamina E, entre eles, tocoferóis, fosfolipídios, fenólicos entre outros (YEBOAH *et al.*, 2020). Diante disso, essa planta tem amplo potencial antioxidante e os pesquisadores estão dedicando cada vez mais atenção a ela em todo o mundo (ZHANG *et al.*, 2015).

De acordo com Silva *et al* (2017), os antioxidantes são compostos que possuem a capacidade de diminuir ou inibir ação dos radicais livres. Essas substâncias retardam a velocidade do processo oxidativo, diante da produção excessiva de radicais de oxigênio, sejam eles por fatores patofisiológicos ou ambientais. Os radicais livres são gerados endogenamente ou adquiridos de forma exógena, e naturalmente, seu excesso gera o estresse oxidativo. Existe uma crescente busca por alternativas naturais que consigam inibir esse processo, antioxidantes naturais provenientes dos extratos vegetais, principalmente a partir de plantas aromáticas e medicinais, consideradas fontes de antioxidantes naturais. Os compostos fenólicos, que são metabólitos secundários, também agem inibindo a formação de radicais livres. Os flavonóides são um exemplo desses compostos com alto poder antioxidante e uma infinidade de plantas possuem em sua composição esse antioxidante natural (SILVA *et al.*, 2018; MORAIS *et al*; 2009).

Alguns estudos demonstraram que alguns desses compostos podem ser isolados de diferentes partes da mamona. Zhang *et al.* (2015), analisou raízes, caules e folhas da mamona onde encontrou enzimas que atuam em processos antioxidantes, como a superóxido dismutase, catalase e peroxidase (ZHANG *et al.*, 2015).

Em seu estudo Wafa *et al.* (2014), descrevem que a mamona possui atividades biológicas como hepatoprotetora, anti-inflamatório, diurética, anticâncer, antibacteriano, inseticida, hipoglicemiante e na eliminação de radicais livres. Foram encontrados flavonoides em folhas de mamona, como kaempferol-3- O- beta-D-rutinósido e kaempferol-3- O- beta-D-xilopiranoide. Taninos e dois alcaloides também foram extraídos das folhas de mamona. Esses alcaloides são ricinina e Ndemetilricinina. No mesmo estudo, os pesquisadores analisaram folhas, raízes e sementes de mamona que foram coletadas em cinco regiões diferentes da Tunísia, identificando presença de ácido genticóico, catequina, rutina e ácido vanílico na análise de compostos fenólicos. Bem como, foi encontrada atividade antioxidante (IC 50 = 0,65 g / ml para extrato de folhas, 1,03 g / ml para extrato de raízes e 0,587mg / ml para óleo). O que enfatiza a necessidade de mais estudos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia de detoxificação do farelo de mamona, bem como, o potencial antioxidante de silagens aditivadas com farelo de mamona na alimentação de ovinos.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a eficácia do processo de detoxificação do farelo de mamona com uso de hidróxido de cálcio - Ca(OH)_2 ;
- Avaliar o processo de ensilagem sobre a detoxificação do farelo de mamona;
- Analisar a capacidade antioxidante do farelo de mamona;
- Mensurar os possíveis efeitos do farelo de mamona detoxificada sobre o índice de oxidação do lombo de ovinos mestiços Santa Inês terminados em confinamento;
- Avaliar a composição dos ácidos graxos do lombo de ovinos mestiços Santa Inês terminados em confinamento, alimentados com farelo de mamona detoxificado.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANANDAN, S.; ANIL KUMAR, 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**, v. 120, n. 1–2, p. 159–168, 2005.
- ANDRADE, I. R. A. DE., CÂNDIDO, M. J. D., POMPEU, R. C. F., FEITOSA, T. S., BOMFIM, M.A. D.; SALLES, H. O.; EGITO, A. S. DO. Inactivation of lectins from castor cake by alternative chemical compounds. **Toxicon**, v. 160, n. October 2018, p. 47–54, 2019.
- ARAUJO, R. F.; ZONTA, J. B.; ARAUJO, E. F.; LEAL, C. A. M. Tratamentos alternativos para conservação de sementes de mamona (*Ricinus communis L.*). **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 1, p. 89–96, 2019.
- ARAUJO, R. A.; NEIVA, J. N. M.; ROGERIO, M. C. P.; CÂNDIDO, M. J. D.; EGITO, A. S., PEREIRA, P. L.; LUCAS, R. C.; POMPEU, R. C. F. F. Detoxificação e perfil nutricional da torta de mamona por diferentes soluções alcalinas. *Zootecnia e Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 5, 2020.
- 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**, v. 29, n. 2–3, p. 509–515, 2009.
- BARROS, A. P. DA S.; COELHO, C. B., DA SILVA, P. B.; JUNIOR, C. DE L.; LIMA, R. L. F. DE A. Micorrizas Arbusculares E Mamoneira (*Ricinus Communis L.*): 1. Produção De Mudanças Em Solo Natural Inoculado Ou Não Com Fungos Micorrízicos Arbusculares / Arbuscular Mycorrhizae and *Ricinus Communis L.*: 1. Seedling Production in Natural Soil Inoculated or No. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 99010–99023, 2020.
- BELTRÃO, N. E. DE M.; OLIVEIRA, M. I. P. Detoxificação e Aplicações da torta de mamona. **Embrapa, documento 217**, p. 1-35, 2009.
- BRASIL, Lei. n. 11.097, de 13 de Janeiro de 2005. **Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira**, DOU, 14/01/2005, Seção 1, p. 08.
- CAMPOS, E. DOS S. DE C.; SANTOS, V. M. L.; Estudo de processos de extração de óleo de mamona em cooperativas do pólo São Francisco. **Engevista**, v.17, n.4, p. 477-490, Dezembro, 2015.
- CONAB (Companhia Brasileira de Abastecimento Informações sobre safra de 2022). **Brasil**, 2021. Disponível em: Acesso em 9 de Maio. de 2022.
- DINIZ, L. L.; FILHO, S. C. V.; DE OLIVEIRA, A. S.; PINA, D. S.; DA 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**, v. 135, n. 2–3, p. 153–167, 2011.

DRUMOND, A. A. L.; SALES, J. DE F.; ZUCHI, J.; CAMELO, G. N.; SOUZA, M. M. V. Physiological quality of castor seeds (*Ricinus communis L.*) after processing. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 2, p. 224–232, 2019.

FALASCA, S. L.; ULBERICH, A. C.; ULBERICH, E. Developing an agro-climatic zoning model to determine potential production areas for castor bean (*Ricinus communis L.*). **Industrial Crops and Products**, v. 40, n. 1, p. 185–191, 2012.

FONSECA, N. B. da S.; SOTO-BLANCO, B. Toxicidade da ricina presente nas sementes de mamona. **Semina: Ciência Agrária**, v. 35, n. 3, p. 1415-1424, maio/jun. 2014.

FURTADO, R. F.; GUEDES, M. I. F.; ALVES, C. R.; MOREIRA, A. C. DE O. M.; FELIX, W. P.; DUTRA, R. A. F. Produção de anticorpos policlonais anti-ricina Production of polyclonal anti-ricin antibodies. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 124–130, 2011.

FURTADO, R. N.; CARNEIRO, M. S. S.; CÂNDIDO, M. J. D.; GOMES, F. H. T.; PEREIRA, E. S.; POMPEU.; 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**, v. 64, n. 1, p. 155–162, 2012.

GIONBELLI, T. R. S.; VELOSO, C. M.; GIONBELLI, M. P.; NOVAIS, M. A.S.; SILVA, A. L.; ESPECHIT, C. J. B.; CAMPOS, J. M S.; VALADARES FILHO, S .C.; PEREIRA, O. G., CUNHA, C. S.; ALCÂNTARA, P. H.; VIRGÍNIO JUNIOR, G. F.; DUARTE, M. S. Utilization of castor bean meal treated with calcium hydroxide, fed wet or dry, by lambs. **Livestock Science**, v. 168, p. 76–83, 2014.

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 biotransformation of castor bean waste and lipase production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 44, n. 5, p. 317–322, 2009.

GOMES, F. H. T.; CÂNDIDO, M. J. D.; CARNEIRO, M. S. DE S.; FURTADO, R. F.; PEREIRA, E. S. Consumo, comportamento e desempenho em ovinos alimentados com dietas contendo torta de mamona. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 48, n. 1, p. 182–190, 2017.

HAFIZ, A. S.; YONGFU, C.; CHUANTAO, P.; XIA, C.; MUHAMMAD, I.; E HEPING, Z. **Impact of Fermentation on Antinutritional Factors and Protein Degradation of Legume Seeds: A Review**, Food Reviews International, v.39, n.3, p.1227-1249, 2021.

HOFFMAN, L. V.; DANTAS, A. C. A.; MEDEIROS, E. P.; SOARES, L. S. Ricina: um Impasse para Utilização da Torta de Mamona e suas Aplicações. **Embrapa**, v. 1, p. 26, 2007.

INSHIWU, C.N.; ANIH, J. C.; VICTOR-ADULOJU, T. **Effect of fermentation period on nutrients castor bean (*Ricinus communis*)**. Original Research Article, v.3 (10), pp. 178-183, October, 2015.

ITALO, L. C. V. et al. Composição química e parâmetros fermentativos de silagens de capim-elefante e cana-de-açúcar tratadas com aditivos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 11, n. 3, p. 606-617, 2010.

KAUR, R.; BHASKAR, T. Potential of castor plant (*Ricinus communis*) for production of biofuels, chemicals, and value-added products. **Waste Biorefinery**, p. 269-310, 2020.

MADEIRA, 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**, v. 102, n. 15, p. 7343–7348, 2011.

MARTINS, S. C. S. G.; CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, R. R.; LEITE, L. C.; PEREIRA, F. M.; MOTA, A. D. S.; NICORY, I. M. C.; CRUZ, C. H. Qualitative parameters of sugarcane silages treated with urea and calcium oxide. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 1135-1144, 2015.

MENEZES, D. R.; COSTA, R. G.; ARAÚJO, G. G. L.; PAREIRA, L. G. R.; NUNES, A. C. B.; HENRIQUE, L. T.; RODRIGUES, R. T. S. Cinética ruminal de dietas contendo farelo de mamona destoxificado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 636–641, 2015.

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

MME – **Ministério de Minas e Energia**. Disponível em < 2005. www.mme.gov.br >. Acesso em 12 de jun. de 2022.

MORAIS, J. P. S.; MEDEIROS, E. P. Perspectiva para o desenvolvimento de sensores da ricina. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Centro Nacional de Pesquisa de Algodão. Campina Grande, PB. 2009.

PAULINO, A. S. Farelo de mamona destoxificado na ensilagem de cana-de-açúcar. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias**, Universidade Federal de Alagoas, Arapiraca, 2017.

PEREA-FLORES, M. J.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; GARIBAY-FEBLES, V., CALDERÓN-DOMINGUEZ, G.; TERRÉS-ROJAS, E.; MENDONZA-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**, v. 34, n. 1, p. 1057–1065, 2011.

ROCHELLE, D.; NAJAFI, H. A review of the effect of biodiesel on gas turbine emissions and performance. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 105, n. June 2018, p. 129–137, 2019.

RUIZ OLIVARES, A.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, MA. DEL C. A.; HERNÁNDEZ, R. M. S. Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production. **Journal of Environmental Management**, v. 114, p. 316–323, 2013.

SANTOS, P. A. DOS.; LUDKE, M. DO C. M. M.; LUDKE, V. J.; SANTOS, M. J. B. DOS.; MELO, A. G. DA S.; OLIVEIRA, A. DA C.; CAVALCANTI, A. S. A. Farelo de manona da alimentação de não ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 10, n. 217, p. 2814–2827, 2013.

SANTOS, P. A. DOS.; LUDKE, M.C. M .M., LUDKE, J. V.; RABELLO, C. B.V.; DOS SANTOS, M. J. B.; TORRES, T. R. **Characterization and Digestibility of Detoxified Castor Oil Meal for Japanese Quails**. Revista Brasileira de Ciência Avícola. Outubro-Dezembro. 2015.

SEVERINO, L. S. O que sabemos sobre a torta da mamona. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Documentos 134**, Brasília: Embrapa, p. 1–32, Campina Grande, PB, 2005.

SILVA, M. S.; MACEDO, L. C.; DOS SANTOS, J. A. B.; MOREIRA, J. DE J. DA S.; NARAIN, N.; DA SILVA, G. F. Aproveitamento de co-produtos da cadeia produtiva do biodiesel de mamona. **Exacta**, v. 8, n. 3, p. 279–288, 2011.

SILVA, B. A.; STEPHAN, M. P.; KOBLITZ, M. G. B.; ASCHERI, J. L. R. Influência da concentração de NaCl e pH na extração de ricina em torta de mamona (*Ricinus communis L.*) e sua caracterização por eletroforese. **Ciencia Rural**, v. 42, n. 7, p. 1320–1326, 2012.

SILVA, N. L.; ARAÚJO, I. P. C.; BATISTA, M. R. F.; SANTOS, T. B. A.; FERNANDO, W. L.; AMARAL, F. R. Determinação da atividade antioxidante e do teor de flavonoides totais equivalentes em quercitina em extrato aquoso de folhas de *Cymbopogon citratus (d.c) stapf* e *Melissa officinalis lam* obtidos por decocção. **Conexão Ciência**. vol. 12, n 1, p. 46-53, Faculdade Alis – Bom despacho. 2017.

SILVA, L. A. DA.; RAPOSO, J. D. A.; CAMPOS, L. P. G.; CONCEIÇÃO, E. C. DA.; OLIVEIRA, R. B. DE.; MOURÃO, R. H. V. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey) DC. Por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β -caroteno/ácido linoleico). **Revista Fitos**. Rio de Janeiro. V. 12, n. 2, p. 117-126. 2018.

VIEIRA, B.; NADALETI, W. C.; SARTO, E. The effect of the addition of castor oil to residual soybean oil to obtain biodiesel in Brazil: Energy matrix diversification. **Renewable Energy**, v. 165, p. 657–667, 2021.

Wafa, G. AMADOU, D.; LARBI, K. M.; HÉLA, E. F. O. Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis L.* **Industrial Crops and Products**, v. 56, p. 43–51, 2014.

WORBS, S.; KOHLER, K.; PAULY, D.; AVONDET, MA.; SCHAER, M.; DORNER, MB.; DORNER, BG. **Intoxicações por *Ricinus communis* em Medicina Humana e Veterinária – Um Resumo de Casos Reais**. *Toxinas*, v.3, n.10, p.1332-1372, 2011.

YEBOAH, A.; YING, S.; LU, J., XIE, Y.; AMOANIMAA-DEDE, H.; BOATENG, K. G. A.; CHEN, M.; YIN, X. Castor oil (*Ricinus communis*): a review on the chemical composition and physicochemical properties. **Food Science and Technology**, v. 2061, 2021.

ZHANG, W.; XIAO, S.; SAMARAWEERA, H.; LEE, E. J.; AHN, D. U. Improving functional value of meat products. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 15–31, 2010.

ZHANG, H.; GUO, Q.; YANG, J.; SHEN, J.; CHEN, T.; ZHU, G.; CHE, H.; SHAO, C. Subcellular cadmium distribution and antioxidant enzymatic activities in the leaves of two castor (*Ricinus communis L.*) cultivars exhibit differences in Cd accumulation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 120, p. 184–192, 2015.

CAPÍTULO 2

ARTIGO 1

Ação detoxificante do farelo de mamona ensilado e tratado com hidróxido de cálcio.

RESUMO

No presente estudo objetivou-se avaliar a efetiva desnaturação da ricina após a fermentação e através da detoxificação com hidróxido de cálcio – Ca(OH)_2 em silagens de cana de açúcar, com diferentes níveis de inclusão do farelo de mamona. O farelo de mamona foi submetido a desintoxicação por hidróxido de cálcio (1 Kg para 10 litros de água), na quantidade de 60 gramas Ca(OH)_2 por Kg de farelo. Após esse procedimento o FMT e FM foi acrescido de cana de açúcar nos níveis de inclusão de (0, 5, 10, 15 e 20%), misturada, ensilada, moída e após 60 dias os silos foram abertos e procedeu-se a amostragem, das silagens que foram pré-secas, moídas, acondicionadas em embalagens e enviadas a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia para posterior análise. Com as amostras de FM, avaliou-se o potencial do processo fermentativo em desnaturar a ricina por meio da ensilagem da cana-de-açúcar aditivada com farelo de mamona não tratado, onde a mistura de cana e farelo nos diferentes níveis (0, 5, 10, 15 e 20% de FM) foram armazenados em silos pelo período de 60 dias. Após esse intervalo, as silagens foram coletadas, levadas a estufa de pré-secagem por 72 horas, à 65°C, moídas, acondicionadas em embalagens e enviadas a UESB para posterior análise. Através da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE) e Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC), observou-se que houve a completa remoção da ricina nas amostras, em ambos os processos, a desnaturação através do hidróxido de cálcio – Ca(OH)_2 e do tratamento com a ensilagem, tornando esse alimento favorável para o consumo animal.

Palavras-chave: ricina; fermentação; hidróxido de cálcio

1. INTRODUÇÃO

Estimasse que as reservas de energia renováveis sofram carência nos próximos cinquenta anos, incentivando a busca por fontes alternativas mais rentáveis. Lançado pelo Governo federal em 2004, o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel possibilita a utilização de algumas oleaginosas para a geração de óleo, acarretando subprodutos, entre eles os farelos e tortas, que possuem capacidade de oferta na alimentação de ruminantes (MME, 2005). Em destaque aparece a mamona (*Ricinus communis L.*) que no Brasil encontrou condições favoráveis para sua disseminação e atualmente é o terceiro maior produtor mundial e o segundo exportador de óleo obtido a partir das sementes dessa oleaginosa (CONAB, 2021; FAO).

A torta da mamona é utilizada como adubo orgânico, devido seu alto teor de nitrogênio e a presença de fibras, contribuindo para o fortalecimento da matéria orgânica do solo. O farelo, resultado da última prensagem, é moído e dispõe de elevada capacidade na restauração de terras esgotadas, bem como apresenta elevado teor proteico, possibilitando seu uso na alimentação animal (SANTOS *et al.*, 2015; BELTRÃO, OLIVIERA., 2009). A presença de um alcaloide (ricinina), de um complexo alergênico (CB-1A) e principalmente da proteína ricina (toxoalbumina) são os principais fatores que impedem a utilização desse coproduto como fonte proteica (FURTADO *et al.*, 2011).

A ricina encontra-se exclusivamente no endosperma da semente, pertencente à família das proteínas inibidoras de ribossomo, formada pelas subunidades A e B, apresentando peso molecular de 32 kDa e 34 kDa, respectivamente. Apresenta como mecanismos de ação, paralisando os ribossomos interrompendo assim a produção de proteínas ((FONSECA; SOTO-BLANCO, 2014). Desde a década de 1960 um processo de detoxificação de escala industrial foi desenvolvido e a partir dele outros métodos físico, químicos e biológicos foram testados, alguns com 100% de eficácia, contudo alguns desses processos são muito laboriosos e ainda dispõe de elevado impacto ambiental, tornando necessário alternativas com maior viabilidade técnico-econômica (GOMES *et al.*, 2017).

Dentre os métodos mais utilizados estão os tratamentos químicos, em destaque Anandan *et al.*, (2005) avaliou seis diferentes tipos de tratamentos químicos e Oliveira *et al.* (2007) utilizou o farelo de mamona destoxificado por meio do tratamento alcalino com 6%, ambos obtiveram efetiva remoção da ricina. Além disso, a utilização de processos biológicos tem sido utilizada para inativação da ricina em produtos da mamona, a exemplo de Godoy *et al.*, (2009) utilizando a cepa *P. simplicissimum* que foi fechada em 30° C por um período de 7 dias

contendo alguns suplementos entre eles, amido solúvel e a mamona como meio de cultura em estado sólido, o processo de fermentação foi capaz de remover o ricino, reduzindo seu potencial alergênico, utilizando uma metodologia a baixo custo e tornando possível a aplicação como ração animal. Da mesma forma, Madeira *et al.*, (2011) e Jain; Naik, (2018) utilizaram cepas na redução da proteína tóxica.

Os altos custos de energia para o processamento da torta, a redução na qualidade da alimentação da torta tratada e a falta de métodos adequados para quantificar de forma rápida e barata a ricina residual na torta são barreiras para a desintoxicação em escala industrial (MENEGUELLI DE SOUZA *et al.*, 2018). O processo de ensilagem torna-se uma alternativa atraente diante da possibilidade de realização do procedimento em longa escala, baixo custo e melhoria do composto, diante da elevada quantidade proteica presente da torta de mamona (PAULINO *et al.*, 2017).

Objetivou-se com esse estudo, avaliar o potencial de detoxificação do farelo de mamona pelo hidróxido de cálcio e pelo processo fermentativo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Detoxificação do Farelo de Mamona por Hidróxido de cálcio e pelo processo de Ensilagem.

O experimento foi conduzido no setor de caprinos e ovinos da Universidade Federal de Alagoas – Campus Arapiraca -UFAL, localizada no município de Arapiraca e posteriormente avaliados na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, localizada em Itapetinga-Ba. Foram avaliados a presença ou não da ricina de silagens de cana-de-açúcar aditivadas com farelo de mamona não tratado e com farelo de mamona tratado com hidróxido de cálcio. Os tratamentos foram distribuídos conforme delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 5 (farelo de mamona sem tratamento e farelo de mamona tratada com 60g de cal hidratada) nos níveis de inclusão de (0%, 5%, 10%, 15% e 20%) do aditivo com base na matéria natural, em 5 repetições.

2.2. Detoxificação da ricina por hidróxido de cálcio e sua capacidade de desnaturação através do processo fermentativo por meio da ensilagem.

Para a destoxificação do farelo de mamona, utilizou-se solução de hidróxido de cálcio – Ca(OH)_2 (1 kg para 10 litros de água), na quantidade de 60 gramas de Ca(OH)_2 /kg de farelo, na base da matéria natural, conforme descrito por Oliveira et al (2007). Após esse processo, a cana de açúcar foi adicionada aos FMT nos níveis de inclusão de (0%, 5%, 10%, 15% e 20%), misturada e ensilada.

As silagens, cana aditivada com farelo de mamona não tratada nos níveis de inclusão de (0%, 5%, 10%, 15% e 20%), foram produzidas a partir do material que foi picado em ensiladeira em aproximadamente 2 cm. Na incorporação do farelo de mamona, o mesmo foi imediatamente adicionado, logo após o corte da cana e o fracionamento das partículas na ensiladeira, sendo a proporção adicionada com base na matéria natural.

A mistura (cana + farelo de mamona) nos diferentes níveis foi armazenada durante 60 dias em silos com 32 cm de altura e 88 cm de diâmetro, com tampas providas de válvula de Bunsen, para saída de gases oriundos da fermentação. Para captação dos efluentes gerado durante o processo de ensilagem foram utilizados 3,0 kg de areia no fundo de cada silo. A compactação foi realizada de modo a se obter densidade de 600 kg.m^{-3} , e os silos foram vedados e pesados.

Após o período de 60 dias, os silos foram abertos, de onde foram coletas as amostras de silagem, as quais foram congeladas para análise posterior. Uma parte das amostras foi descongelada à temperatura ambiente, acondicionada em saco de papel e levada à estufa de pré-secagem, por 72 horas, à 65 °C.

Em ambas as amostras FMT e FM, foram moídas em moinho de facas tipo Willye, peneiradas (malha de 1mm), acondicionadas em embalagens e enviadas para a UESB para posterior análise.

2.3. Obtenção de extratos para análise de Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)

Na UESB, campus Itapetinga – Ba, foram preparados os extratos utilizando as amostras com adição do farelo de mamona tratada ou não na ensilagem da cana-de-açúcar.

Utilizando 2g de amostra aos quais foram adicionados 40ml de solução tampão tris-HCL com pH=8,0. A solução foi agitada (shaker) por 3 horas e posteriormente filtrada em papel filtro, aproximadamente 10ml foram acondicionadas em tubos falcon e colocadas em geladeiras até posterior análise (BRITO, 2005).

Foram avaliados a presença de ricina dos farelos de mamona acrescidos de cana, tratadas com hidróxido de cálcio – Ca(OH)_2 e o potencial do processo fermentativo em destoxificar o farelo de mamona não tratada.

2.4. Extração e purificação da ricina para análise de Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)

Amostras de farelo de mamona foram doadas pela empresa BIO-ÓLEO, localizada na região metropolitana de Salvador/Ba, para ser empregada na extração e purificação da ricina. Seguindo a metodologia proposta por Anandan et al. (2005). Para a extração da ricina foram utilizados aproximadamente 500 g de farelo de mamona, 2,5 L de água acidificada com HCl a um pH de 3,8. Essa mistura foi agitada em mesa agitadora em um frasco cônico por 6 h. Após esse período aguardou-se a sedimentação do material sólido e o sobrenadante, foi filtrado através de papel de filtro Whatman-1. O resíduo foi tratado com 1,5 L de água destilada, agitado por 3 hora e o sobrenadante novamente filtrado. Esse procedimento foi repetido mais uma vez. Este filtrado deverá conter toda a ricina e porções de ricinina que são solúveis em HCl diluído a frio. Em seguida, o filtrado foi evaporado em evaporador rotativo até um a temperatura de

40°C até um pequeno volume, de aproximadamente 10ml. O filtrado foi saturado com cloreto de sódio, onde a cada 100ml foram adicionados cerca de 32g de cloreto de sódio – (NaCl) e, posteriormente centrifugado a 4000 rpm por 20 min para separação do precipitado, contendo apenas ricina.

Após o processo de extração, aproximadamente 11g do precipitado foram adicionadas a 45ml de água deionizada e agitado de forma manual, até dissolução. Logo após, foi adicionado uma solução de sulfato de amônio, a fim de obter completa saturação. Essa mistura foi colocada sob refrigeração por 3 horas e após esse período foi centrifugada a 4000rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi descartado, processo repetido mais duas vezes. Aproximadamente 7,80g do precipitado foram adicionadas a 66 ml de água deionizada e colocadas em uma membrana de diálise 110 (HIMEDIA). Onde ficou imersa em bacia contendo solução tampão Tris ajustado para pH 6,8 com fosfato de sódio, a solução era cem vezes o peso da amostra, ficando sobre refrigeração em 4 °C por um período de 72 h. O tampão foi trocado uma vez a cada 2 horas nas primeiras 12 horas e, subsequentemente, uma vez a cada 6 horas no período restante. Após 72 h, o dialisado foi centrifugado a 6000 rpm por 20 min para separar a matéria insolúvel da solução límpida contendo ricina. A amostra de ricina foi acondicionada em tubo Falcon e congelada até a realização das análises.

2.5. Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)

A SDS-PAGE foi realizada de acordo o método proposto por Laemmli (1970). As amostras submetidas a análise foram o extrato de farelo de mamona, adquirida da BIO ÓLEO, purificada e extraído a fim de obtenção da proteína ricina, bem como, amostras com adição do farelo de mamona tratada ou não, acrescidas de cana-de-açúcar, disponibilizadas pela UFAL. Em eppendorf, 0,004g de cada amostra foram pesadas, dissolvidas em 1,6 µl de solução tampão Tris-HCL (pH = 6,8), na presença de 0,1% de SDS e 5% de β – mercaptoetanol. Em seguida, após a completa dissolução, foram aquecidas a 100°C por 3 minutos e acrescidas de 400 µl de solução de 10% de glicerol e 0,1% de azul de bromofenol. Por fim, foram congeladas a 20 °C até o momento da utilização nas corridas eletroforéticas.

A caracterização eletroforética foi realizada, segundo metodologia recomendada por Egito et al. (2006), por meio da técnica em gel de poliacrilamida em condições desnaturantes com a adição de SDS, em aparelho para eletroforese vertical da marca Apelex.

Utilizou-se géis de separação com 15% de poliacrilamida em 380 mmol/L de tampão Tris – HCl (pH 8,8), contendo 0,1% de SDS e géis de concentração/empilhamento de 5% de poliacrilamida em 125mmol/L de tampão Tris-HCl (pH 6,8).

Após a preparação do gel de separação, o mesmo foi adicionado entre as placas de vidro até a polimerização. Após a polimerização do gel de concentração, aproximadamente 20µg do extrato de cada amostra foi injetado nos poços. Para avaliar a massa molar das frações proteicas presentes nas amostras, foi utilizado marcador de massa molar SDS-PAGE (BIO-RAD), composto de aprotinin (6,5 kDa), lisozima (14,4 kDa), inibidor tripsina (21,5 kDa), anidrase carbônica (31 kDa), ovalbumina (45 kDa), albumina sérica (66,2 kDa), fosforilase b (97,4 kDa), β-galactosidase (116,2 kDa) e miosina (200 kDa).

Para migração das proteínas utilizou-se corrente elétrica constante de 250 V, amperagem de 30 mA e temperatura controlada entre 4 °C e 8 °C por aproximadamente 1 hora.

2.6. Fixação das proteínas

Terminada a corrida eletroforética, o gel foi retirado das placas de vidro e as proteínas foram fixadas com 12% (m/v) de ácido tricloroacético (TCA) durante 30 min e, em seguida, imersas em solução corante com 0,1% de azul de Coomassie Brilhante G250, dissolvido em uma mistura de 50% de metanol e 2% de TCA, por 180 min. A descoloração foi realizada durante uma noite com solução de 30% de metanol e 7,5% de ácido acético. Os processos de fixação, coloração e descoloração foram realizados sob agitação lenta constante em mesa agitadora. A seguir, o gel foi fotografado e, posteriormente, submetido a uma nova coloração com Nitrato de Prata, segundo protocolo adaptado de Bloom et al. (1987) com modificações. Para este procedimento o gel de poliacrilamida, corado com azul de Coomassie Brilhante G250, foi submetido a um processo de lavagem com água destilada em 3 incubações de 20 minutos. Após esta etapa, o gel foi incubado em solução de Tiosulfato de sódio por 1 minuto. Posteriormente, o gel foi imerso a uma solução de nitrato de prata 0,1% durante 30 minutos, sob ausência de luz. Após esta etapa, adicionou-se ao gel solução reveladora até o aparecimento das bandas coradas. Todas as fases do processo foram realizadas sob agitação lenta e constante. A reação foi interrompida com adição de ácido acético 1%.

2.7. Obtenção do extrato para análise de Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC)

A obtenção dos extratos foi feita utilizando as amostras com adição do farelo de mamona (TM) tratada ou não na ensilagem da cana-de-açúcar e do farelo de mamona adquirida da BIO ÓLEO. Utilizando 2g de amostra aos quais foram adicionados 40ml de solução tampão tris-HCL com pH=8,0. A solução foi agitada (shaker) por 3 horas e posteriormente filtrada em papel de filtro, acondicionas em tubos falcon e colocadas em geladeira até posterior análise (BRITO, 2005).

2.8. Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC)

Para separação dos grupos proteicos em relação ao tamanho molecular, foi realizada análise em cromatografia Líquida de Alta Eficiência por Exclusão de Tamanho (HPLC-SEC). 1 mL de cada extrato foi coletado, filtrado em membrana 0,45 μ m e transferido para vial. Utilizando uma coluna analítica de exclusão de tamanho molecular SRT-C 300 (7,8 x 300 mm) da Sephadex G-50, usando um sistema HP Agilent 1260 Infinity. Como fase móvel, foi utilizada solução tampão fosfato de sódio a 0,02mol com pH 7, numa vazão de 0,2ml/min por 35 minutos. O tempo de retenção foi utilizado para a determinação da massa molar das frações proteicas, no comprimento de onda em 214 nm.

Para melhor visualização e comparação dos picos, utilizou-se o SigmaPlot, na versão 14.5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE)

A técnica de análise de eletroforese em gel de poliacrilamida foi realizada no presente estudo com intuito de verificar se o tratamento realizado no farelo de mamona utilizando hidróxido de cálcio – $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e o processo fermentativo foram eficientes na desnaturação da toxina, ricina. A fim de verificar a presença de ricina no farelo da semente de mamona e no padrão, apresentada na figura 1, observar-se uma fração de proteína com peso molecular $> 22\text{KDa}$ nas duas amostras, também foi observado uma fração proteica com peso molecular $> 32\text{KDa}$ em ambas. Variação do peso molecular da ricina, foram relatadas na literatura, entre eles, por Anandan et al., (2005) onde duas bandas foram expressas em seu estudo, apresentando peso molecular em 29 kDa e outro em 35 kDa. Respaldo nos estudos anteriores, é possível afirmar que as frações apresentadas sejam realmente de ricina.

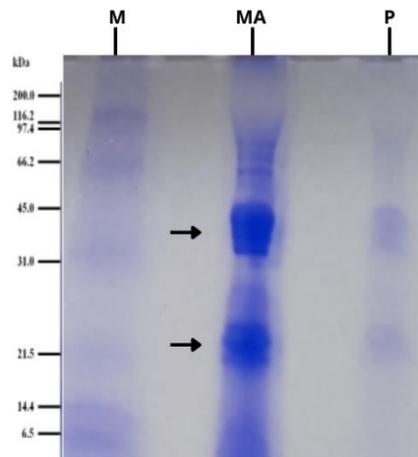


Figura 1 - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de marcador de peso molecular (M), mamona (MA) e padrão de Ricina extraída e purificada em laboratório (P). A cadeia A e B estão identificadas por setas.

Para que seja possível a oferta do farelo de mamona em substituição a parte proteica na alimentação de ruminantes é necessário a destoxificação. A desnaturação da proteína ricina, já foi realizada através de diversas metodologias, entre elas, Anandan *et al.* (2005), Andrade *et al.* (2019), Godoy *et al.* (2009), entretanto, os mecanismos a qual essa degradação ocorre são escassos. Meneguelli de Souza et al., (2018), elucidam em seu estudo as mudanças estruturais que ocorrem, afirmando não serem claros os meios de inativação da ricina.

A fim de certificar a eficácia dos tratamentos nas amostras de farelo de mamona, foi utilizado amostra do padrão extraída e purificada em laboratório como comparativo. Nas Figuras 2A e 2B, em que estão presentes o padrão da ricina extraída e purificada (P), a amostra

controle (silagem de cana-de-açúcar sem adição de farelo de mamona) (0%), silagem de cana-de-açúcar com 5%, 10%, 15% e 20% de torta de mamona destoxificada com hidróxido de cálcio. Nas silagens destoxificada, as bandas de ricina não foram observadas nos alimentos, indicando que o procedimento foi eficiente em todas as concentrações. O desaparecimento da subunidades da ricina, está relacionado com a degradação da proteína, acarretando conseqüentemente a inativação do efeito tóxico da ricina (OLIVEIRA et al., 2010).

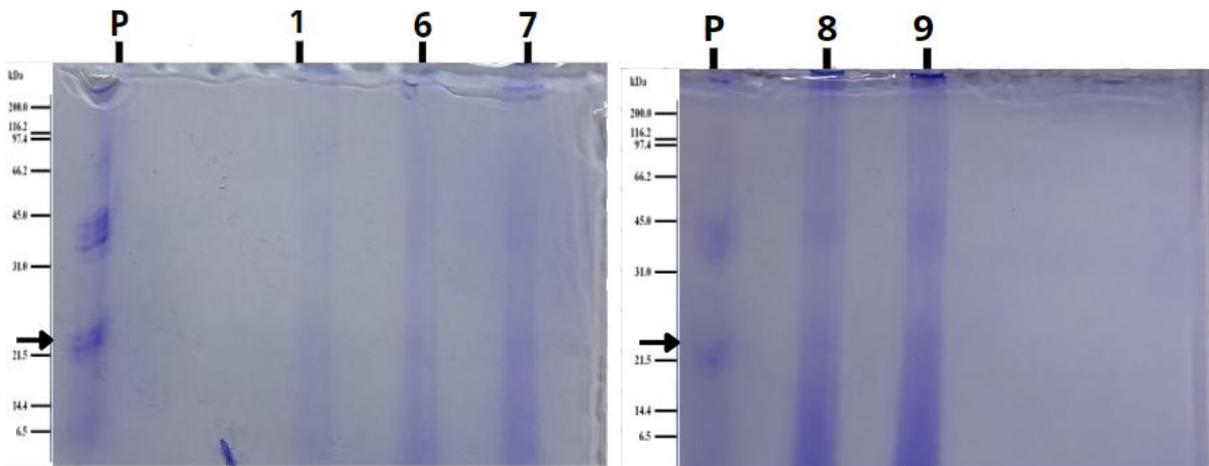


Figura 2 - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), controle (silagem de cana-de-açúcar sem adição de farelo de mamona (1), silagem de cana de açúcar com adição de 5% FMT (6), silagem de cana de açúcar com adição de 10% FMT (7), silagem de cana de açúcar com adição de 15% FMT (8), silagem de cana de açúcar com adição de 20% FMT (9)

Como relatado por Anandan et al (2005), a eficácia ao utilizar 40g de hidróxido de cálcio/Kg de torta de mamona em solução de 3 g/ml de água, foi observado 100% de destoxificação da ricina, já para o tratamento de 10g de hidróxido de cálcio/Kg de torta observou-se 91% de degradação. Já Araújo et al (2020), conseguiu 100% da destoxificação utilizando 90g de Ca(OH)_2 diluída em 2.000mL de água, ao utilizar também 60g de Ca(OH)_2 e 1.000, 1500 e 2500mL de água.

Ao analisar a matéria original, apresentada na Figura 3, com a adição de 5%, 10%, 15% e 20% de farelo de mamona tratadas com solução de hidróxido de cálcio - Ca(OH)_2 sem o processo de ensilagem, é possível notar na análise que as amostras não apresentaram presença de ricina em sua composição. Demonstrando que o processo foi eficaz, bem como, não foram verificadas frações proteicas > 35 nas duas amostras.

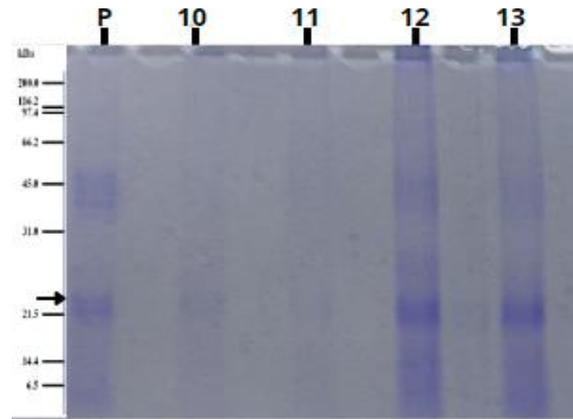


Figura 3 - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), matéria natural com adição de 5% FMT (10), matéria natural com adição de 10% FMT (11), matéria natural com adição de 15% FMT (12) e matéria natural com adição de 20% FMT (13) tratada com hidróxido de cálcio sem o processo de ensilagem

De acordo com a Figura 4, onde estão presentes padrão de ricina (P), matéria natural FM nas proporções 5%, 10% e 20%, é possível observar que apenas na amostra que contém 20% de FM é possível notar bandas características da ricina, além disso, foi verificada fração proteica > 35 . Paulino *et al* (2017), cita que existem pelo menos dois mecanismos que podem ser utilizados para justificar a degradação da ricina durante o processo de ensilagem. O primeiro mecanismo poder ser atribuído a combinação de dois fatores essenciais ao processo de desnaturação proteica, aumento de temperatura e redução do pH, que ocorrem simultaneamente durante o processo de fermentação e potencializam a desnaturação das proteínas, como a ricina. Por último, as bactérias lácticas e as leveduras, responsáveis pela conversão dos açúcares fermentescíveis em álcool e esse em ácido lático, acético e outros, utilizam as fontes proteicas presentes na silagem como fonte de nutrientes o que resulta na hidrólise da ricina e redução/eliminação do seu potencial toxicológico. (HOFFMAN *et al.*, 2007).

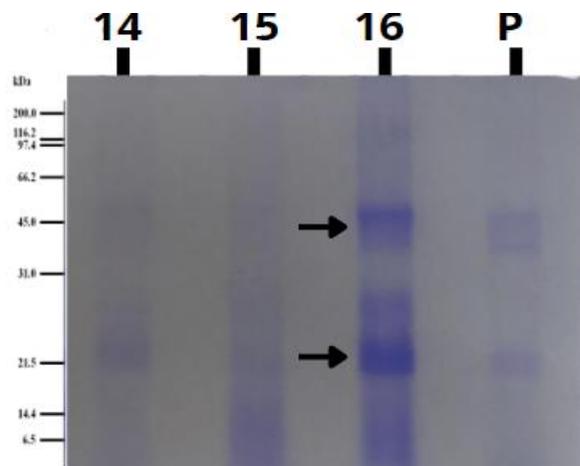


Figura 4 - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), matéria natural com adição de 5% FM (14), matéria natural com adição de 10% FM (15) e matéria natural com adição de 20% FM (16) sem o processo de ensilagem.

Na Figura 5, não se observou a presença das bandas de ricina, confirmando assim a eficácia do processo fermentativo por meio da ensilagem em desnaturar a ricina presente no farelo. Além disso, não foram verificadas frações proteicas > 35 nas amostras farelo de mamona.

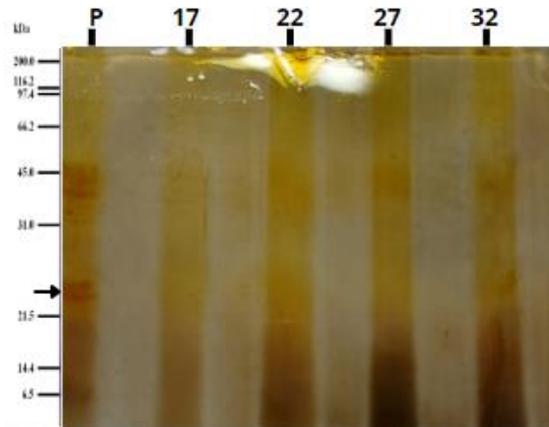


Figura 5 - Perfil eletroforético (SDS-PAGE) de padrão (P), silagem com 5% de FM (17), silagem com 10% de FM (22), silagem com 15% FM (27) e silagem com 20% de FM (32) tratadas pelo processo fermentativo

O tratamento utilizando a fermentação, apresentam diversas vantagens tecnológicas importantes quando comparado a outras técnicas que tratam de detoxificação da torta de mamona. Primeiro que o processo de ensilagem é amplamente empregado, reduz a necessidade de etapas prévias de desintoxicação, custo extras pelo uso de reagentes químicos como o hidróxido de cálcio. Além disso, a ensilagem de cana-de-açúcar, apresenta susceptibilidade ao ataque de leveduras, microrganismos responsáveis pela fermentação alcoólica, tornando a silagem com alta produção de etanol e redução significativa dos carboidratos solúveis, o que consequentemente ocasiona perda da matéria seca, elevando assim os constituintes fibrosos. A adição de aditivos como a torta de mamona tem se tornado uma alternativa vantajosa, a fim de evitar esse mecanismo e favorecer a fermentação láctica por bactérias aeróbicas, apresenta estabilidade. Além disso, o farelo dispõe de elevado teor proteico, o que é escasso na cana-de-açúcar (PAULINO et al., 2017; HOFFMAN et al., 2007).

Anosike e Egwuatu (1980) associam a destoxificação da semente de mamona a hidrólise sofrida durante o processo de fermentação. Com o objetivo de estudar a desintoxicação biológica dos resíduos da mamona, Godoy et al., (2009), observaram que os fungos foram capazes de reduzir a quantidade de ricina, provavelmente utilizando-a como fonte de nutriente, a níveis não detectáveis. Ao avaliarem o potencial alergênico após o tratamento, foi possível observar uma degranulação de mastócitos, após 72 horas de fermentação, reduzindo o potencial alergênico em quase 16%.

Do mesmo modo, Madeira et al. (2011), usando cepa de *Paecilomyces variotti*, alcançando alta produção de fitase e tanase, revelou uma redução nas bandas de ricina após 24 de fermentação e após o período de 48 horas, as bandas não eram mais visíveis. Justificando que provavelmente a ricina é utilizada pelos fungos como forma de nutriente.

E notório que existem poucos estudos sobre os mecanismos da bio-destoxificação na literatura, evidenciando o crescente interesse pelo tema.

3.2. Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC)

A cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) é uma análise apropriada para separar e quantificar misturas de proteínas, onde as moléculas com maior peso molecular eluem primeiro e as moléculas menores, passam mais tempo nos poros e eluem mais tarde (FEKETE et al., 2014). A metodologia foi utilizada para identificar a presença da ricina nos alimentos estudados. O perfil cromatográfico para o extrato de mamona, é apresentado na Figura 6. O farelo de mamona disponibilizou um pico mais definido, sendo identificado com um tempo de retenção de 10 minutos. O cromatograma de farelo de mamona, foi utilizado para comparar as amostras tratadas utilizando hidróxido de cálcio – $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e a ensilagem, objetivando avaliar a eficácia do processo de desnaturação na ricina.

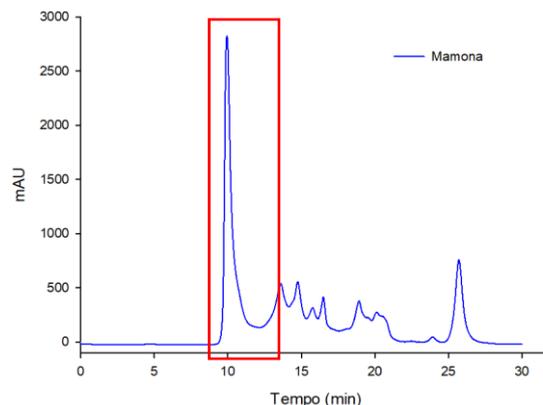


Figura 6 - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular da amostra de farelo de mamona.

Com o objetivo de verificar a desnaturação da ricina nas amostras tratadas utilizando hidróxido de cálcio – $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e por processo de ensilagem após a análise de eletroforese em

gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio, as mesmas amostras de cana de açúcar acrescidas de farelo de mamona foram utilizadas.

A partir da Figura 7A, que apresenta a análise de amostras de silagens de cana-de-açúcar aditivada com 0%, 5%, 10%, 15% e 20% de farelo de mamona tratada com hidróxido de cálcio, pode-se observar que as amostras não apresentam frações compatível com o cromatograma da ricina, no tempo de retenção de 10 minutos. Na figura 7B, que dispõe de amostras de amostras de matéria natural FM com diferentes concentrações de farelo de mamona estando em 5%, 10%, 15% e 20%, pode-se constatar que as amostras 12 e 13, apresentam picos característicos de ricina, bem como, as amostras 10 e 11, dispõe de picos com menos intensidade. Esses resultados confirmam o que foi observado nas análises de eletroforese, por se tratar de uma amostra natural em que não ocorreu tratamento, é notório observar as frações no tempo de retenção da ricina.

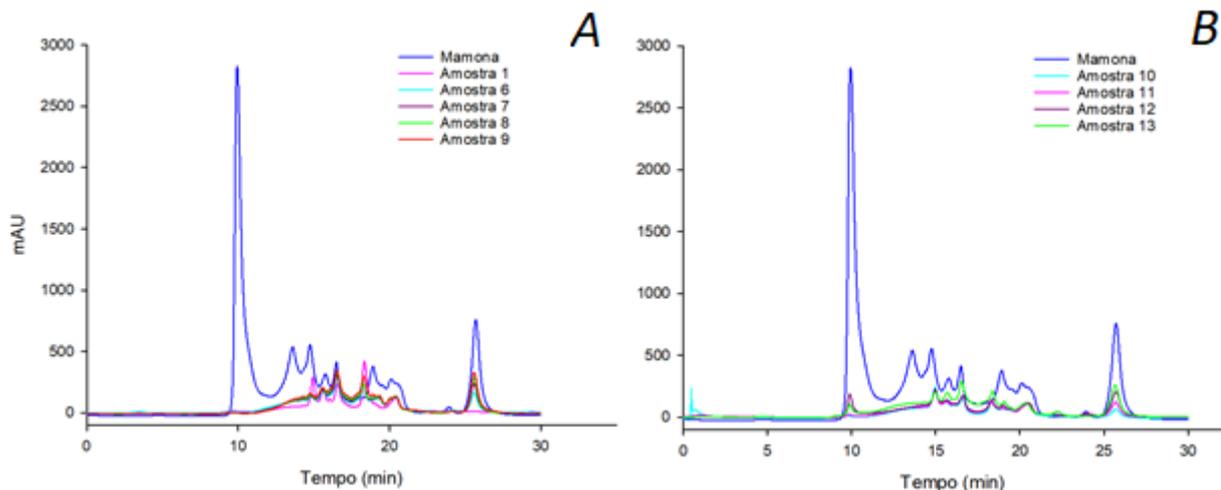


Figura 7- Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, contendo farelo de mamona, controle (silagem de cana-de-açúcar sem adição de farelo de mamona (1), silagem de cana de açúcar com adição de 5% FMT (6), silagem de cana de açúcar com adição de 10% FMT (7), silagem de cana de açúcar com adição de 15% FMT (8) e silagem de cana de açúcar com adição de 20% FMT (9) tratadas com hidróxido de cálcio (A) e matéria natural com adição de 5% FMT, matéria natural com adição de 10% FMT, matéria natural com adição de 15% FMT e matéria original com adição de 20% FMT (13) tratada com hidróxido de cálcio sem o processo de ensilagem (B)

As frações eluídas de matéria original FM observadas na figura 8A, apresentam porções de 5, 10 e 20% de farelo de mamona que não foram tratadas por nenhum processo de desnaturação, onde é possível observar que as amostras apresentam mesmo que em pequenas concentrações, presença de ricina em suas amostras. A fim de constar como expressos nas

análises de eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio, que essas amostras estão em concordância com outros estudos para o tempo de retenção da ricina. Na figura 8B, que apresenta silagens com porções de 5, 10, 15 e 20% de farelo de mamona tratadas pelo processo fermentativo, foi possível verificar que não houve elevação no tempo de retenção de 10 minutos, o que demonstra a eficácia do tratamento.

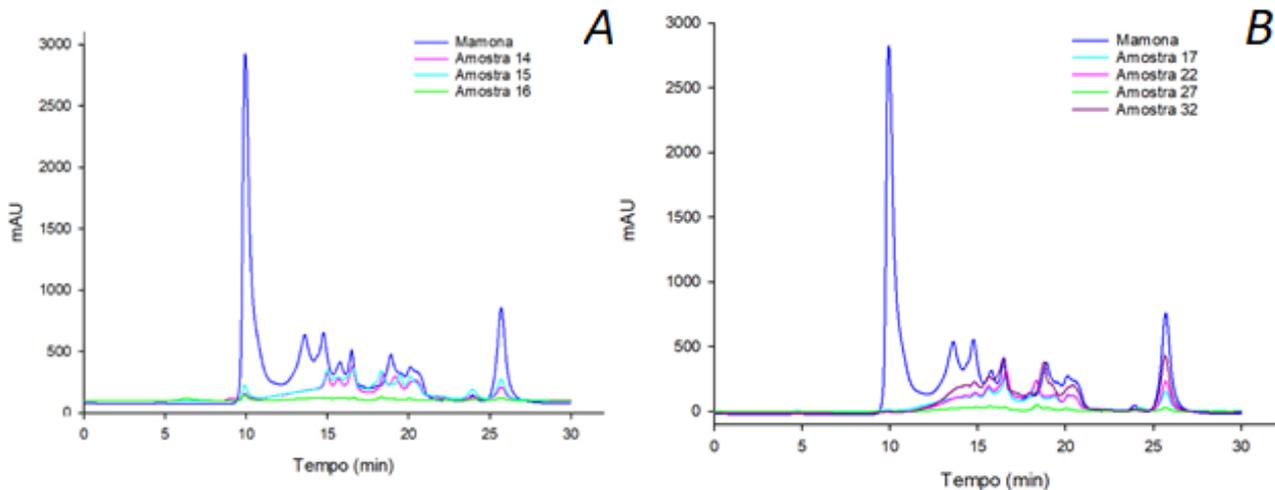


Figura 8 - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, com farelo de mamona, matéria original com adição de 5% FM, matéria original com adição de 10% FM, matéria original com adição de 20% FM sem o processo de ensilagem (A) e silagens com 5% de FM (17), silagens com 10% de FM (22), silagens com 15% FM (27) e silagens com 20% de FM (32) tratadas pelo processo fermentativo (B)

Na figura 9A estão apresentadas as silagens aditivadas de 5% FM em quatro repetições, tratadas pelo processo fermentativo, bem como, na figura 9B, as amostras de silagem contêm 10% FM com quatro repetições, tratadas pelo processo fermentativo, é possível observar que o cromatograma não apresenta picos de ricina, no tempo de retenção de 10 minutos, levando a crer que nessas amostras o processo fermentativo, foi capaz de desnaturar por completo a proteína, ricina.

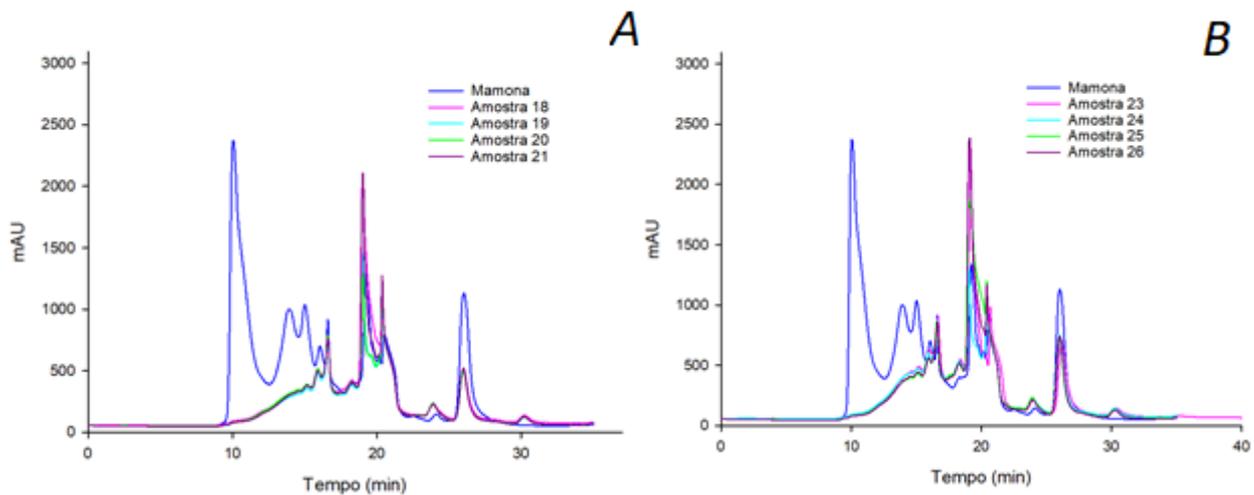


Figura 9 - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, contendo farelo de mamona, amostras em repetição de mini silo com 5% de farelo de mamona tratada pelo processo fermentativo (A) e amostras em repetição de mini silo com 10% de farelo de mamona tratada pelo processo fermentativo (B)

Na figura 10A, estão apresentadas porções de silagens de cana de açúcar nas porções de silagens com a adição de 15% FM com quatro repetições, tratadas pelo processo fermentativo, além disso, na figura 10B, as amostras com porções de silagens adicionados de 20% FM com quatro repetições, tratadas pelo processo fermentativo, não apresenta picos característicos de ricina, no tempo de retenção de 10 minutos, levando a crer que nessas amostras o processo fermentativo, também foi capaz de desnaturar por completo a proteína.

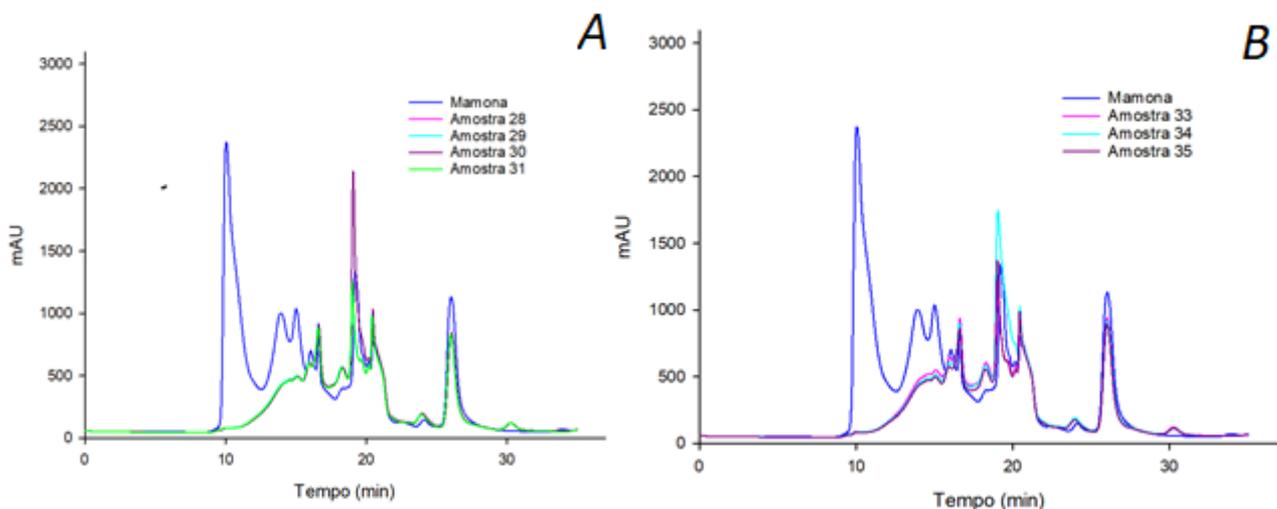


Figura 10 - Perfil da cromatografia líquida de exclusão molecular, contendo farelo de mamona, amostras em repetição de silagens com 15% de farelo de mamona tratada pelo processo fermentativo (A) e amostras em repetição de silagens com 20% de farelo de mamona tratada pelo processo fermentativo (B)

Analisando a correlação das análises de Cromatografia por exclusão de tamanhos (HPLC-SEC) e Eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE) é possível notar compatibilidade dos resultados apresentados. Podendo afirmar que o tratamento com hidróxido de cálcio – Ca(OH)_2 e o da ensilagem com o objetivo de desnaturar a ricina foi totalmente eficiente, observado principalmente em amostras com maior proporção de farelo, tornando esse alimento apropriado na utilização como substituição proteica na alimentação de ruminantes.

4. CONCLUSÃO

A partir de dois tratamentos distintos utilizando processo químico, o hidróxido de cálcio e do processo biológico, utilizando a ensilagem do farelo de mamona, foi possível verificar que os tratamentos foram eficientes na completa desnaturação da proteína ricina, evidente através de duas análises precisas, a eletroforese e cromatografia de exclusão de tamanhos.

5 REFERÊNCIAS

- ANANDAN, S.; ANIL KUMAR, 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**, v. 120, n. 1–2, p. 159–168, 2005.
- BELTRÃO, N. E. D. M.; OLIVEIRA, M. I. P. DE. Detoxificação e aplicações da torta de mamona. **Embrapa Algodão Documento 2017**, p. 35, 2009.
- BRITO, N. M. Métodos de identificação e quantificação de ricina e ricinina na torta de mamona. p. 108, **Tese (Doutorado)- Universidade Federal de São Carlos**, São Carlos, SP, 2005.
- CONAB (Companhia Brasileira de Abastecimento Informações sobre safra de 2022. **Brasil**, 2022. Disponível em: Acesso em 9 de Maio. de 2022.
- FEKETE, S.; BECK, A.; VEUTHEY, J-L.; GUILLARME, D. Theory and practice of size exclusion chromatography for the analysis of protein aggregates. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 101, p. 161–173, 2014.
- FONSECA, N. B. da S.; SOTO-BLANCO, B. Toxicidade da ricina presente nas sementes de mamona. **Semina: Ciência Agrária**, v. 35, n. 3, p. 1415-1424, maio/jun. 2014.
- FURTADO, R. F.; GUEDES, M. I. F.; ALVES, C. R.; MOREIRA, A. C. DE O. M.; FELIX, W. P.; DUTRA, R. A. F. Produção de anticorpos policlonais anti-ricina Production of polyclonal anti-ricin antibodies. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 124–130, 2011.
- 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 biotransformation of castor bean waste and lipase production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 44, n. 5, p. 317–322, 2009.
- GOMES, F. H. T.; CÂNDIDO, M. J. D.; CARNEIRO, M. S. DE S.; FURTADO, R. F.; PAREIRA, E. S. Consumo, comportamento e desempenho em ovinos alimentados com dietas contendo torta de mamona. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 48, n. 1, p. 182–190, 2017.
- HOFFMAN, L. V.; DANTAS, A. C. A.; MEDEIROS, E. P.; SOARES, L. S. Ricina: um Impasse para Utilização da Torta de Mamona e suas Aplicações. **Embrapa**, v. 1, p. 26, 2007.
- JAIN, R.; NAIK, S. N. Adding value to the oil cake as a waste from oil processing industry: Production of lipase in solid state fermentation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 15, p. 181–184, 2018.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, n.5259, p.680-685, 1970.
- MADEIRA, 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**, v. 102, n. 15, p. 7343–7348, 2011.

MENEGUELLI DE SOUZA, L. C.; CARVALHO, L. P.; ARAÚJO, J. S.; MELO, E. J. T.; MACHADO, O. L. T. Cell toxicity by ricin and elucidation of mechanism of Ricin inactivation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, n. 2017, p. 821–828, 2018.

MME – **Ministério de Minas e Energia**. Disponível em < 2005. www.mme.gov.br >. Acesso em 12 de jun. de 2022.

OLIVEIRA, A. S.; OLIVEIRA, M. R. C.; CAMPOS, J. M. S.; LANA, R. P.; MACHADO, O. L. T.; RETAMAL, C. A.; DETMANN, E.; FILHO, S. C. V. In vitro ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, p. 41 - 54, 2010.

OLIVEIRA, A. S.; OLIVEIRA, M. R. S.; CAMPOS, J. M. S et al. Eficácia de diferentes métodos de destoxificação da ricina do farelo de mamona. In: II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2007. **Anais**: CD_ROM Brasília:MCT/ABIPTI, p.1-6, 2007.

PAULINO, A. S. Farelo de mamona destoxificado na ensilagem de cana-de-açúcar. 2017. 71 p. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias**, Universidade Federal de Alagoas, Arapiraca, 2017.

SANTOS, P. A. DOS.; LUDKE, M.C. M .M., LUDKE, J. V.; RABELLO, C. B.V.; DOS SANTOS, M. J. B.; TORRES, T. R. **Characterization and Digestibility of Detoxified Castor Oil Meal for Japanese Quails**. Revista Brasileira de Ciência Avícola. Outubro-Dezembro. 2015.

CAPÍTULO 3

ARTIGO 2

Avaliação do potencial antioxidante do farelo de mamona, análise do perfil lipídico e da oxidação de carnes de ovino alimentados com farelo de mamona destoxificado

RESUMO

O presente estudo objetivou avaliar a composição de ácidos graxos no lombo de ovinos mestiços da raça Santa Inês alimentados com silagens de cana-de-açúcar acrescida de farelo de mamona destoxificado em diferentes níveis de inclusão. Foram utilizados 40 ovinos, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e oito repetições. Os tratamentos constituíram cinco níveis de inclusão de farelo de mamona desintoxicado (0, 5, 10, 15 e 20%) em substituição ao farelo de soja. Para a destoxificação do farelo de mamona, foram utilizadas solução de hidróxido de cálcio – Ca(OH)_2 . O período experimental foi de 74 dias, sendo 60 dias de oferta das dietas. Após esse período, os animais foram abatidos, embalados e enviados a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia para posterior análise. Bem como, foram avaliados o potencial antioxidante do farelo de mamona e das amostras de volumoso, através das análises de constituintes fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT), atividade antioxidante por DPPH, poder redutor (PR) e proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico (BCAL), apontando resultado significativo ($P < 0,05$) para CFT, FT e BCAL, entretanto, o FM apresenta baixa atividade antioxidante, exceto na determinação da atividade antioxidante pela proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico nas adições de 5 e 10% de FM. Não foram observados efeitos significativos ($P > 0,5$) após a inclusão do farelo de mamona na análise do perfil de ácidos graxos. O ácido oleico, seguido pelo ácido palmítico e esteárico, apresentaram maior área entre os ácidos encontrados. O teor de colesterol não foi influenciado ($P > 0,5$) pela adição do farelo detoxificado. Entretanto, o teor de oxidação lipídica da carne apresentou aumento linear ($P < 0,05$) encontrando valores entre 0,89 a 3,05. A substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona em seu nível máximo (20%) não interferiu na qualidade da carne, como composição de ácidos graxos e colesterol, todavia potencializou a quantidade na oxidação lipídica, sendo possível inclusive indicar a inclusão de maiores níveis de farelo a fim de verificar seu uso na alimentação de ruminantes.

Palavras-chave: ácidos graxos, oxidação lipídica; colesterol;

1. INTRODUÇÃO

Diante das condições tropicais presentes no Brasil, é comum a utilização de insumos como árvores, arbustos e grãos inapropriados para o consumo humano na alimentação animal, a exemplo do farelo de mamona, visto que apresenta de forma geral alto valor proteico e preço inferior aos alimentos tradicionais, como a soja e milho, possibilitando o fortalecimento da ovinocultura (PALMA et al., 2019; BERNARDES et al., 2015).

A mamoeira, destaca-se na região nordeste, e é utilizada normalmente para a extração do óleo, que possui em sua composição cerca de 40-53% de ácidos ricinoleico, esteárico isoricinoleico e diidroxisteárico. O resíduo proveniente, chamado de farelo, apresenta admirável valor nutricional, cerca de 30% de proteína bruta e fonte de fibra. É regulamente utilizada na adubação de plantas, fabricação de tintas, ceras, pomadas. Bem como, dispõe de elevada toxicidade, o que impossibilita sua oferta aos animais (HERRERA et al., 2021; FONSECA; SOTO-BLANCO, 2014).

Ao analisar as características bioativas da *R. communis*, Santos, et al (2018), encontraram cerca de oitenta e três compostos em sua composição, que incluem flavonoides, compostos fenólicos, alcalóides e ácidos graxos. Nessa conjuntura, Rampadarath; Puchooa; Ranghoo-Sanmukhiya (2014) avaliaram o teor polifenólico e atividade antioxidante do *Ricinus*, detectando nas folhas maior quantidade de compostos fenólicos totais (632,33y19,20) µg GAE/g quando comparado com *J. integerrima*. Já o conteúdo de flavonóide extraído com álcool etílico apresentou valor de (7,61y1,88). Em ambos é possível notar características bioativas significativas para esse fruto.

Segundo Vieira et al. (2017) a alta produção de resíduos possibilita a utilização como fonte alternativa na suplementação de animais, como os ovinos. Que além de reduzir o impacto ambiental, ocasiona a redução de custos. Se bem balanceada, as dietas contendo resíduos conseguem atender as exigências nutricionais dos animais, sem prejuízo a rentabilidade da atividade (MEDEIROS et al., 2015).

A influência da dieta dos animais tem sido cada vez mais estudada, diante de consumidores mais exigentes torna-se necessário a busca por alternativas que estendam a vida de prateleira e diminuam os teores de colesterol e ácidos graxos nas carnes. A oxidação lipídica, caracteriza por sabor e odor de ranço, tem início após o abate e circulação sanguínea, bem como a ação microbiana em condições aeróbicas acarretam a deterioração e perecibilidade, afetando a aceitabilidade pelo consumidor (DE LIMA JÚNIOR et al., 2013).

A utilização de antioxidantes naturais, como o farelo de mamona torna-se uma alternativa a fim de reduzir a ação dos radicais livres no processo oxidativo, estudos já evidenciam a presença de compostos fenólicos em diferentes partes da planta (SILVA et al., 2017). Alguns estudos demonstraram que a utilização do sistema de terminação (pastagem ou confinamento) atuam diretamente na quantidade de ácidos graxos na carne de ruminantes, onde ao se aumentar a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados, conseqüentemente ocorre a redução nos teores de ácidos graxos saturados e trans-monoinsaturados. Em contrapartida, os ácidos graxos mono e poliinsaturados são considerados efetivos na diminuição da concentração de colesterol no sangue humano (GEAY et al., 2001; MIR et al. 2000; ROWE et al. (1999).

Foram exploradas alternativas em diferentes concentrações do farelo de mamona na alimentação de ovinos, objetivando não só a utilização como alternativa proteica, mais também visando melhoramento na qualidade da carne, a fim de prolongar a sua vida útil.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Análise do lombo de ovino mestiços da Raça Santa Inês

O experimento foi conduzido no setor de caprinos e ovinos da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus Arapiraca. Os procedimentos realizados foram conduzidos de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), sob a licença 32/2018.

2.2. Animais, delineamento experimental e instalações

Para o ensaio II, foram utilizados quarenta ovinos mestiços Santa Inês, com peso médio de 20 kg, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e oito repetições. O período experimental foi de 74 dias, sendo os 14 primeiros dias de adaptação e 60 de período experimental.

Os animais foram confinados em baias individuais cobertas, com piso de concreto, providas de comedouro e bebedouro.

2.3. Manejo e tratamentos

Ao início do período de adaptação, os animais foram tratados contra ecto e endoparasitas e foram distribuídos nos tratamentos que consistiram em silagens de cana-de-açúcar aditivadas com diferentes níveis de farelo de mamona destoxificada.

O farelo de mamona utilizada para confecção das silagens foi destoxificada conforme metodologia descrita por Oliveira et al. (2010). O alimento foi oferecido na forma de mistura completa, duas vezes ao dia, à vontade, de modo a permitir 10% de sobras.

2.4. Composição e análise da dieta

As dietas tinham uma relação volumoso: concentrado de 60:40. O concentrado foi constituído basicamente de farelo de soja e milho, fornecido igualmente para todas as dietas. As proporções dos ingredientes das dietas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1- Composição percentual dos ingredientes nas dietas experimentais

Ingredientes	Níveis de farelo de mamona na silagem (%) ¹				
	0	5	10	15	20
Silagem de cana-de-açúcar	60	57	54	51	48
Farelo de Mamona	0,00	3	6	9	12
Milho grão moído	5,23	7,75	10,29	12,82	15,33
Farelo de soja	32,60	30,08	27,54	25,01	22,50
Uréia/Sulfato de amônia	1,42	1,42	1,42	1,42	1,42
Mistura mineral	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Total	100	100	100	100	100

¹ Nível de substituição à silagem de cana.

² Mistura Mineral composta: fosfato bicálcico; calcário; sal comum; flor de enxofre; sulfato de zinco; sulfato de cobre; sulfato de cobalto; sulfato de manganês; iodato de potássio; selenito de sódio, calculadas

³ Proporção de 9 partes de ureia para 1 de sulfato de amônia

Foram colhidas, diariamente, amostras de silagem e de sobras, por animal e, semanalmente, amostras dos concentrados, por tratamento. As amostras diárias de silagem e das sobras foram agrupadas, de forma proporcional, em cada período de 14 dias, constituindo-se uma amostra composta. Posteriormente, as amostras foram pré-secas, em estufa ventilada a 60° C, moídas em moinho com peneira dotada de crivos de 1 mm, acondicionadas em frasco com tampa e armazenadas até serem analisadas.

Para a avaliação de carcaça após o período de confinamento, os animais foram pesados e casualizados em uma ordem de abate e submetidos a jejum de sólidos por 14 horas. Foram abatidos, segundo Brasil (2000) e posteriormente os lombos foram embalados e enviados em temperatura adequada para a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, para análise.

2.5. Obtenção de extrato para análise antioxidante

A obtenção dos extratos foi realizada de acordo com a metodologia de Wafa et al (2014) com adaptação, onde foi utilizado 10g de amostras com adição do farelo de mamona (TM)

tratada ou não na ensilagem da cana-de-açúcar e do farelo de mamona, onde foi adicionado 100 ml de metanol a 80%. A solução foi agitada em mesa agitadora (shaker) por 24 horas e posteriormente filtrada em papel de filtro, acondicionadas em tubos falcon e colocadas em geladeira até posterior análise.

2.6. Constituintes Fenólicos totais - CFT

O conteúdo fenólico total foi determinado usando o reagente de Folin Ciocalteau (SINGLETON; ROSSI JR., 1965; SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1998). A reação foi preparada com uma alíquota de 0,5 mL de extrato de farelo de mamona, 2,5 ml de solução aquosa de Folin-Ciocalteau a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi introduzida em banho-maria com regulação térmica a 45°C durante 15 minutos; em seguida, a mistura foi retirada e mantida ao abrigo da luz e temperatura ambiente por 30 minutos. A absorvância foi medida em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV Mini 1240) a 750 nm. A quantidade de constituintes fenólicos totais foi expressa como equivalente de ácido gálico (EAG) (mg EAG / g de amostra ou extrato), através de uma curva de calibração preparada com soluções de concentrações conhecidas do padrão de ácido gálico (0,01 a 0,1 mg ácido gálico.ml⁻¹ de solução) nas mesmas condições ($\lambda = 750$ nm).

2.7. Constituintes Flavonoides totais - FT

Os constituintes flavonoides totais foram quantificados por espectrofotometria UV/Vis de acordo com o método descrito por Sakanaka; Tachibana & Okada (2005), utilizando cloreto de alumínio. A análise foi realizada adicionando-se em tubos de ensaio, 0,5 mL do extrato, 2,5 mL de água destilada e 0,15 mL de nitrito de sódio 5%. Essa mistura foi homogeneizada por agitação em vórtex e mantida em repouso por 6 minutos a abrigo de luz. Em seguida, foi adicionado 0,3 mL de uma solução metanólica de cloreto de alumínio 10%, a mistura foi novamente agitada e mantida em repouso e abrigo de luz por 5 minutos. Logo depois adicionou-se 1 mL de hidróxido de sódio 1M e 0,55 mL de água destilada afim de se obter um volume final de 5 mL. A leitura de absorvância foi realizada a 510 nm, para o branco utilizou-se etanol absoluto no lugar da amostra. A quantidade de constituintes flavonoides totais foi expressa como equivalente de catequina (mg de eq. Catequina. g de amostra⁻¹), através de uma curva de calibração preparada com soluções de concentrações conhecidas do padrão de catequina (0,02 a 0,51 mg catequina.ml⁻¹ de solução) nas mesmas condições.

2.8. Determinação de atividade sequestradora do radical DPPH

A atividade antioxidante foi baseada no método de redução do radical 2,2'-difetil-1-picrilhidrazilo (DPPH.). Os resultados foram expressos como EC₅₀, que é a quantidade de antioxidantes necessária para diminuir em 50% a concentração inicial de DPPH da solução. Dessa forma, quanto menor o valor do EC₅₀, menor terá sido o valor do extrato utilizado para reduzir o radical DPPH• e maior a sua atividade antioxidante (ORLANDA; VALE, 2015).

O teor de antioxidantes foi determinado segundo a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Resumidamente, a capacidade antioxidante da mamona foi avaliada utilizando o método de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilil (DPPH•) por antioxidantes. Onde uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição de extrato foi transferida para tubos de ensaio com 3,9 mL da solução etanólica (etanol - álcool absoluto 99,8%) do radical DPPH•, o qual teve a absorbância inicial ajustada para a faixa de 0,6 a 0,7 em espectrofotômetro a 515 nm. Após 30 minutos de incubação no escuro e à temperatura ambiente, a redução do radical livre DPPH• foi medida através da leitura da absorbância a 515 nm. A absorbância da solução etanólica (etanol - álcool absoluto 99,8%) do radical DPPH era lida entre os intervalos de uma amostra para outra. Foram feitas análises em duplicata. A quantidade de radical DPPH remanescente na solução foi calculada a partir da razão entre a absorbância da amostra e a média das absorbâncias da solução controle no tempo de IC₅₀ (Equação 1).

$$AA (\%) = 100 - \{[(Absamostra - Absbranco) \times 100] / Abscontrole\}, \text{ (Equação 1)}$$

A porcentagem de redução foi obtida pela diferença entre a porcentagem total de radical no início da reação (100%) e o percentual de radical remanescente (Equação 2). Calculando as médias das duplicatas.

$$\% \text{ DPPH}_{\text{remanescente}} = 100 - \% \text{ DPPH} \quad \text{(Equação 2)}$$

2.9. Determinação da capacidade antioxidante *in vitro* pelo método da co-oxidação do sistema β-caroteno:ácido linoleico – BCAL

O método de análise antioxidante pelo sistema β-caroteno:ácido linoleico utilizado foi descrito por Miller (1971). Para o preparo da mistura reativa, adicionou-se 50 µg de ácido linoleico, 200 mg de Tween 40, 1 mL de solução de β-caroteno a 1 mg.mL⁻¹ em clorofórmio. Posteriormente, a mistura foi submetida ao evaporador rotativo a 50°C por 10 minutos para a

completa evaporação do clorofórmio. A esta mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se aos poucos 50 mL de água previamente saturada com oxigênio durante 30 minutos agitando-se vigorosamente. A mistura reativa, assim preparada, apresentou absorvância entre 0,6 e 0,7 em 470 nm. Outra mistura reativa foi preparada de forma semelhante com exceção da adição da solução de β -caroteno para o branco.

Alíquotas de 5 mL da emulsão foram transferidos para tubos contendo 0,5 mL dos extratos diluídos a 1 mg.mL^{-1} em etanol, realizados em triplicata. Feita a mistura os tubos foram agitados e imediatamente lidas as absorvâncias a 470 nm. Após a primeira leitura, os tubos foram incubados em banho-maria a 50°C para favorecer a reação de oxidação, e em intervalos de quinze minutos até completar 120 minutos, a leitura a 470 nm, foi repetida.

Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da oxidação. A redução da absorvância do sistema sem amostra (Equação 3) é considerada como como 100% da oxidação.

$$\text{Redução da absorvância} = Abs_{inicial} - Abs_{final} \quad (\text{Equação 3})$$

O decréscimo da leitura da absorvância das amostras é correlacionado com o sistema e estabelece a percentagem de oxidação (Equação 4), subtraindo-se a percentagem de oxidação de cada amostra de 100 (Equação 5).

$$\%Oxidação = \frac{[(Redução Abs)_{amostra} \times 100]}{(Redução Abs)_{sistema}} \quad (\text{Equação 4})$$

$$\%Proteção = 100 - (\%Oxidação) \quad (\text{Equação 5})$$

2.10. Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro – (FRAP)

Avaliou-se o poder redutor conforme o procedimento descrito por Rufino et al (2007), com adaptações, em duplicata. Resumidamente, uma alíquota de $50\mu\text{l}$ de extrato diluído foi transferido para tubos de ensaio, onde posteriormente foi adicionado $150\mu\text{l}$ de água, seguida pela adição de $1500\mu\text{l}$ da solução FRAP, homogeneizada em agitador de tubos e mantida em banho-maria a 37°C . Após 30 minutos, a leitura da absorvância foi realizada a 595 nm, utilizando o reagente FRAP como branco para calibração do espectrofotômetro. A partir da absorvância obtida das diferentes diluições de extrato, realizada em duplicata, a determinação da quantidade de atividade antioxidante total método de redução do ferro (FRAP) foi expressa em μM de sulfato ferroso/g de amostra através de uma curva de calibração preparada com soluções de concentrações de sulfato ferroso ($500\mu\text{l}$, $1000\mu\text{l}$, $1500\mu\text{l}$, $2000\mu\text{l}$ e $2500\mu\text{l}$) nas mesmas condições.

2.11. Extração de lipídios totais da carne de ovinos alimentados com farelo de mamona acrescido de cana-de-açúcar

A extração da fração lipídica foi feita com uma mistura de clorofórmio, metanol e água, respectivamente (2:2:1,8 v/v/v), de acordo com metodologia descrita por Bligh & Dyer (1959), no qual foram pesadas cerca de 15g ($\pm 0,1$ mg) de amostra em um béquer de 250 mL e adicionado 15 mL de clorofórmio e 30 mL de metanol. Após agitação por 5 minutos, foram adicionados mais 15 mL de clorofórmio, agitados por mais 2 minutos e acrescidos 15 mL de água destilada e agitado novamente por mais 5 minutos. Posteriormente, o homogeneizado foi filtrado por meio de um filtro de papel Whatman n° 1 acoplado em um funil Buchner usando pressão a vácuo.

Após a filtração foi adicionado ao resíduo mais 10 mL de clorofórmio, mantendo sob agitação por 5 minutos. Uma nova filtração foi realizada fazendo-se uso do mesmo papel de filtro e o béquer lavado com 10 mL de clorofórmio. O filtrado obtido foi transferido para um funil de separação. Após a separação das fases, a inferior contendo o clorofórmio e a matéria graxa foi drenada para um balão previamente pesado vazio, e levado para o rota-vapor (banho-maria a 33°-34°).

O resíduo de solvente foi eliminado com fluxo de nitrogênio. A matéria restante no balão foi pesada e o teor de lipídios determinado gravimetricamente. O resíduo restante foi acondicionado em microtubos tipo eppendorf, para posterior análise cromatográfica.

2.12. Transesterificação dos triacilgliceróis da carne de ovinos alimentados com farelo de mamona acrescido de cana-de-açúcar

O procedimento seguiu a metodologia descrita por Bonnon et al., (1982). Pesou-se aproximadamente 150 mg de lipídios extraídos de cada amostra, colocou-se em tubos com tampas rosqueáveis, adicionou-se 5 mL de solução de metóxido de sódio 0,25 mol/L-1 em metanol-dietil éter (1:1), e agitou por 3 minutos. A essa mistura, foram adicionados 2 mL de iso-octano e 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio. O tubo foi agitado novamente e deixado em repouso para que houvesse a separação das fases, a parte sobrenadante foi coletada e transferida para microtubos tipo eppendorf, devidamente identificados, para realização da análise cromatográfica.

2.13. Determinação e quantificação de ácidos graxos por cromatografia da carne de ovinos alimentados com farelo de mamona acrescido de cana-de-açúcar

Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa, em um equipamento modelo GC-2010 Plus marca Shimadzu com Detector de Ionização de Chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida Rt-2560 (100m, 0,25mm d.i). As vazões dos gases (White Martins) foram de 40 mL.min⁻¹ para o gás de arraste (H₂); 30 mL.min⁻¹ para o gás auxiliar (N₂) e 400 mL.min⁻¹ para o ar sintético da chama. A razão da divisão da amostra foi de 90:10. Os parâmetros de funcionamento foram estabelecidos após verificação da condição de melhor resolução. As temperaturas do injetor e detector foram 225°C e 260°C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada a 140°C por 5 minutos, seguido por uma rampa de 3°C/min até atingir 245°C por 20 minutos. O tempo total de análise foi de 60 minutos. As injeções foram realizadas em duplicata e os volumes das injeções foram de 1,0 µL. As áreas dos picos dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinadas através do software GCSolution®.

2.14. Extração dos lipídios totais das amostras com farelo de mamona acrescida de cana-de-açúcar

Para extração da matéria graxa do volumoso e determinação do perfil de ácidos graxos, foi utilizada a metodologia adaptada de Floch et al., (1957).

2.15. Transesterificação dos triacilgliceróis das amostras com farelo de mamona acrescida de cana-de-açúcar

O procedimento seguiu a metodologia descrita por Bonnon et al., (1982). Pesou-se aproximadamente 150 mg de lipídios extraídos de cada amostra, colocou-se em tubos com tampas rosqueáveis, adicionou-se 5 mL de solução de metóxido de sódio 0,25 mol/L-1 em metanol-dietil éter (1:1), e agitou por 3 minutos. A essa mistura, foram adicionados 2 mL de iso-octano e 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio. O tubo foi agitado novamente e deixado em repouso para que houvesse a separação das fases, a parte sobrenadante foi coletada e transferida para microtubos tipo eppendorf, devidamente identificados, para realização da análise cromatográfica.

2.16. Análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos por cromatografia das amostras com farelo de mamona acrescida de cana-de-açúcar

Os ésteres de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa, em um equipamento modelo GC-2010 Plus marca Shimadzu com Detector de Ionização de Chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida Rt-2560 (100m, 0,25mm d.i). As vazões dos gases (White Martins) foram de 40 mL.min⁻¹ para o gás de arraste (H₂); 30 mL.min⁻¹ para o gás auxiliar (N₂) e 400 mL.min⁻¹ para o ar sintético da chama. A razão da divisão da amostra foi de 90:10. Os parâmetros de funcionamento foram estabelecidos após verificação da condição de melhor resolução. As temperaturas do injetor e detector foram 225°C e 260°C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada a 140°C por 5 minutos, seguido por uma rampa de 3°C/min até atingir 245°C por 20 minutos. O tempo total de análise foi de 60 minutos. As injeções foram realizadas em duplicata e os volumes das injeções foram de 1,0 µL. As áreas dos picos dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinadas através do software GCSolution®.

2.17. Extração da matéria graxa para análise de colesterol

A determinação do colesterol na carne seguiu a metodologia descrita por Saldanha et al., (2004). No procedimento realizado para extração da matéria insaponificável, utilizaram-se tubos falcon, com capacidade de 50 mL, onde foram adicionados 2,0g de amostra de carne trituras e homogeneizadas, 4,0 mL de solução aquosa de hidróxido de potássio (KOH) a 50% (m/v) e 6,0 mL de álcool etílico P.A. Após agitação em vórtex por um minuto, a mistura permaneceu em repouso durante 22 horas, ao abrigo da luz e a temperatura ambiente. Posteriormente, foi adicionada a mistura 5,0 mL de água destilada e 10 mL de n-hexano P.A, e novamente agitados por 5 minutos em vórtex. Em seguida, essa nova mistura foi adicionada em um funil de decantação e após a completa separação das fases foi coletada a fase hexânica em balão de fundo redondo e rotaevaporado os solventes voláteis, restando um resíduo (matéria graxa total) no qual foi diluído em 2,5 mL de fase móvel constituída pela mistura dos solventes acetonitrila e isopropanol na proporção (85:15, v /v). O resíduo diluído na fase móvel foi filtrado por meio de uma membrana de fluoreto de polivinilidieno (PVDF), com diâmetro do poro de 0.45 µm sendo acondicionadas em microtubos tipo eppendorf sob refrigeração para posterior análise por cromatografia líquida.

2.18. Determinação e quantificação de colesterol por HPLC

Para a determinação do colesterol foi utilizado um cromatográfico líquido de alta eficiência (HPLC) (Shimadzu) equipado com desgaseificador (DGU – 20 A5) e duas bombas (LC-20 AT com detector UV-Visível. A coluna analítica utilizada foi uma C18 (250 mm x 4,6mm x 3,5 µm). A fase móvel constituiu-se de acetonitrila e isopropanol (85:15), na vazão de 2 mL/min, sendo o tempo de análise de 30 minutos. Os cromatogramas foram processados a 202nm. Foram construídas curvas analíticas para todos os analitos por injeção de soluções padrão dos compostos, relacionando a solução à concentração com a resposta do equipamento (área do pico), e as concentrações das amostras dos analitos foram calculadas pela interpolação de seus sinais analíticos nas curvas analíticas. A identificação do colesterol foi realizada por meio da comparação do tempo de retenção das amostras, com o padrão e a quantificação através das áreas correspondentes dos picos. Os dados cromatográficos foram processados com o Software LabSolutions® (Shimadzu).

2.19. Análise de oxidação lipídica na carne de ovino

Para a análise de oxidação lipídica utilizou-se a metodologia proposta por Raharjo, S.; Sofos, J.N.; Schimidt, G.R.(1992). Onde 10g da amostra foi acrescida de 40 ml de ácido Tricloroacético 5% (TCA) e 1 ml de BHT 0,15%, homogeneizado por 1 minuto em turrax e filtrado em papel de filtro, posteriormente, o volume foi ajustado para 50ml com TCA 5%, foi retirada uma alíquota de 2ml e transferida para tubo de ensaio, onde foi adicionado 2ml de ácido Tiobarbitúrico 0,08 Molar (TBA), a solução foi homogeneizada e mantida em banho-maria fervente por aproximadamente 5 minutos, resfriada e realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 532 nm contra um branco contendo 2mL TCA 5% e 2mL TBA 0,08 Molar. Utilizando o fator de conversão 7,38, os resultados foram expressos em mg de malonaldeído/kg amostra.

2.20. Análise estatística dos dados

A análise de atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos, teor de colesterol e oxidação lipídica foram realizadas em duplicata, avaliando diferentes concentrações de farelo de mamona, sendo 0, 5, 10, 15 e 20%, utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados coletados a partir do lombo de ovinos foram analisados por um esquema fatorial 5x8

em que foi avaliada alterações a partir de diferentes inclusões do farelo de mamona na alimentação dos animais e o número de repetições, a fim de verificar a interação significativa entre esses fatores. Os dados de atividade antioxidante do farelo de mamona foram analisados por um esquema fatorial 2x4 em que foi avaliada a diferença entre os dois tipos de tratamento (hidróxido de cálcio e fermentação) nas 4 diferentes concentrações de farelo de mamona (5%, 10%, 15% E 20%), a fim de avaliar o efeito dessas adições. Os resultados em relação ao tratamento ofertado foram verificados e interpretados por uma análise de regressão levando-se em consideração a significância para modelos de regressão ($p \leq 0,05$), a não significância da falta de ajuste do modelo ($p > 0,05$) e coeficientes de determinação. A diferença entre as concentrações foi realizada por teste F, ao nível de 5% de significância para as médias externas, em que essa era levada em consideração quando não havia a existência de interações significativas. Para esses procedimentos foi utilizado o programa Statistical Analysis System (SAS)[®] Studio (SAS Enterprise Miner 13.1. SAS Institute Inc., Cary, NC).

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1. Constituintes fenólicos, flavonoides totais e capacidade antioxidante

Objetivando avaliar a capacidade antioxidante do farelo de mamona, é possível observar na Tabela 2, que estão apresentados os valores médios, \pm os desvios padrão encontrados na amostra de cana-de-açúcar e no farelo de mamona para o teor de constituintes fenólicos totais, flavonoides totais, atividade antioxidante por DPPH, poder redutor (PR) e proteção da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Tabela 2 – Potencial antioxidante da silagem de cana-de-açúcar sem adição e com o farelo de mamona.

Amostra	Potencial antioxidante				
	CFT (mg ácido gálico. g ⁻¹ de amostra)	FT (mg cate- quina.g ⁻¹ de amostra)	DPPH (% de inibição da oxidação)	FRAP (mg Fe ²⁺ /g de amostra)	BCAL (% Proteção da amostra)
Cana-de- açúcar	0,85 \pm 0,01	0,022 \pm 0,06	39,71 \pm 1,12	3,15 \pm 0,47	65,19 \pm 20,10
Farelo de mamona puro	0,41 \pm 0,00	0,026 \pm 0,06	46,12 \pm 0,95	1,88 \pm 0,12	47,98 \pm 4,61

Fonte: Próprio autor (2021). Os valores correspondem à média das repetições em duplicata. Valores médios \pm desvio padrão.

A cana-de-açúcar, amostra contendo 0% de farelo de mamona, apresentou teor de compostos fenólicos em 0,85 \pm 0,01, resultados semelhantes aos observados no presente trabalho foram encontrados por Feng et al., (2014) ao analisar diferentes partes e cultivares da cana (0,67 a 0,99). Com relação a composição de flavonoides totais, a silagem apresentou 0,022 \pm 0,06, valores inferiores encontrados pelos mesmos autores (0,65 a 0,68). Diversos fatores podem desencadear essa alteração de valores, entre eles, decomposição de fenólicos pelo efeito de elevação da temperatura, alteração de ph, bem como, consumo por parte dos microrganismos durante o processo de ensilagem.

Valores superiores de β -caroteno foram mencionados por Duarte-Almeida et al., (2011) ao avaliarem diferentes colmos e produtos derivados da cana, na faixa de 72,1 \pm 3,2, nesse estudo foram encontrados 65,19 \pm 20,10. Já com relação a DPPH que apresentou 47,98 \pm 4,61, valores foram inferiores, aos citados pelos mesmos autores (33,2 \pm 2,8). Resultados variaram entre 14,45 \pm 0,41 a 93,32 \pm 0,19 por Feng et al., (2014) ao analisar diferentes partes e cultivares

da cana. Já o valor de FRAP, variou entre 0,76 a 9,70 mg, a variar a parte da planta. Entre os valores apresentados no presente estudo e citados Feng et al., (2014) em ambos os valores se aproximaram do nó da cana-de-açúcar. Citando que diversos fatores podem influenciar na variação da atividade antioxidante, entre eles, detalhes estruturais e composição fenólica. A literatura apresenta diversos trabalhos com subprodutos derivados da cana, necessitando assim de mais dados, afim comparativo.

O farelo de mamona apresentou composição fenólica total ($0,41 \pm 0,00$) e flavonoide total ($0,026 \pm 0,06$), demonstrando baixa atividade antioxidante e poder inibitório. Não há registro de estudos até o momento utilizando farelo de mamona para o teor de constituintes fenólicos totais, flavonoides totais, DPPH, poder redutor (PR) e proteção da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Wafa et al. (2014), ao analisarem folhas e raízes da variação de 5 amostras de mamona coletadas na Tunísia, a fim de verificar a composição fotoquímica, observaram ampla variação ao se comparar os teores de compostos fenólicos, de 623,7 mg a 174,26 mg. No que diz respeito ao conteúdo de flavonoide total houve variação entre 178,53 mg até 96,5 mg, constatando maior conteúdo de CFT e FT nas folhas em comparação com as raízes.

Nesse estudo, a análise de DPPH foi expressa em EC_{50} , quantidade necessária de antioxidante para diminuir em 50% a concentração inicial da solução de DPPH (RUFINO et al, 2007). Foi observado que a amostra de mamona obteve baixa redução ($46,12 \pm 0,45$), demonstrando baixa atividade antioxidante primária.

As análises de poder redutor e percentual de proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico sinalizam a ação de atividade antioxidante secundária. O poder antioxidante de redução, analisado pelo método FRAP, mede a capacidade dos antioxidantes na redução do ferro (RUFINO et al., 2006). Uma baixa concentração de extrato do farelo de mamona foi usada para a redução dos íons de ferro ($1,88 \pm 0,12$), demonstrando que a TM apresenta capacidade de quelar íons de ferro. Já o método de oxidação do β -caroteno/ácido linoleico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Para β -caroteno/ácido linoleico, uma baixa concentração de extrato (0,5ml) foi utilizada, para a redução de apenas $47,98 \pm 4,61$ de proteção da oxidação nas moléculas.

Quando comparado os dados apresentados no farelo de mamona e nas diferentes partes da planta, disponível na literatura, é possível notar diferença significativa nos resultados, o FM apontou baixa atividade antioxidante, exceto na determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução de ferro. Os antioxidantes tornam-se essências para retardar o estresse

oxidativo, possibilitando assim, sua utilização em diversas alternativas, entre elas, a alimentação animal.

Foram avaliadas 23 amostras, apresentadas na Tabela 3 e Tabela 4, contendo diferentes concentrações de FMT (0%, 5%, 10%, 15% e 20%) e com dois tratamentos distintos, objetivando estimar diferença entre os dois fatores de tratamento (hidróxido de cálcio - Ca(OH)_2 e fermentação). Foram avaliados o teor de constituintes fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT), atividade antioxidante por DPPH, poder redutor (PR) e proteção da co-oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico (BCAL).

Ao analisar os resultados de fatorial, somente CFT, FT e BCAL, tiveram interações significativas em relação aos níveis de inclusão e tratamento, apresentados na Tabela 3. Após o desdobramento, foi possível avaliar qual desnaturação foi melhor para cada nível de adição de farelo de mamona. Quando considera-se os fenólicos totais, apenas na adição de TM com 15%, os resultados demonstraram que as médias diferem entre si. Ao comparar os resultados, observou-se que as silagens desnaturadas pelo processo fermentativo obtiveram maiores valores quando comparado ao tratamento com hidróxido de cálcio.

Com relação aos flavonoides totais as inclusões de 5%, 15% e 20% de FM diferiram significativamente ($p < 0,5$), a desnaturação através do processo fermentativo, obteve maiores valores, demonstrando maior concentração de flavonoides totais. Não foram encontrados estudos utilizando as técnicas de análise utilizadas, afim comparativo. Podendo julgar que o processo fermentativo é capaz de preservar os compostos, seja ela pela ação dos microrganismos presentes ou demais fatores.

No sistema β -caroteno/ácido linoleico, a adição de 5% e 10% foi possível verificar a diferença entre as médias, a desnaturação através do processo fermentativo obteve maiores resultados. Em 5% os resultados demonstraram baixa redução de proteção da oxidação nas moléculas, nos dois tipos de desnaturação. Em 10% foi possível notar uma redução 30,83% de proteção da oxidação nas moléculas através do processo utilizando hidróxido de cálcio, entretanto, pelo processo fermentativo a redução foi de 88,98%, demonstrando uma melhor inibição. Em 15% e 20% os resultados apresentaram inibição com menores valores quando comparado o processo fermentativo com tratamento de hidróxido de cálcio.

Tabela 3 - Potencial antioxidante das amostras de silagens de cana-de-açúcar aditivadas com farelo de mamona tratado com hidróxido de cálcio e farelo de mamona tratado pelo processo fermentativo após o desdobramento. Médias de tratamento, considerando a interação significativa.

CFT (mg ácido gálico. g⁻¹ de amostra)						
Desnaturação	5%	10%	15%	20%	Eq. Regressão	R²
Hidróxido de Cálcio	1,24 ^a	1,75 ^a	0,97 ^b	1,19 ^a	$\hat{Y} = Y = 1,29$	ns*
Fermentação	1,13 ^a	1,39 ^a	1,35 ^a	1,19 ^a	$\hat{Y} = Y = 1,27$	ns*
Média	1,18	1,57	1,16	1,19	-	-

FT (mg catequina. g⁻¹ de amostra)						
Desnaturação	5%	10%	15%	20%	Eq. Regressão	R²
Hidróxido de Cálcio	2,33 ^b	2,89 ^a	1,96 ^b	2,68 ^b	$\hat{Y} = Y = 2,46$	ns*
Fermentação	2,84 ^a	2,95 ^a	2,81 ^a	2,86 ^a	$\hat{Y} = Y = 2,87$	ns*
Média	2,59	2,92	2,39	2,77	-	-

BCAL (%Proteção do extrato)						
Desnaturação	5%	10%	15%	20%	Eq. Regressão	R²
Hidróxido de Cálcio	75,65 ^b	30,83 ^b	31,62 ^a	37,35 ^a	$\hat{Y} = 206.75 - 37.56 + 2.53 - 0,054$	0,950
Fermentação	120,84 ^a	88,98 ^a	34,96 ^a	35,86 ^a	$\hat{Y} = 53.49 + 28.52 - 3.52 + 0,10$	0,868
Média	98,24	59,90	33,29	36,61	-	-

* Médias seguidas de mesma letra subscrita na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F; ns*: não significativo

Após a análise de regressão foi verificado que as amostras de DPPH e PR, apresentados na Tabela 4 através das médias externas, não diferem entre si. A determinação da capacidade antioxidante in vitro pelo método de DPPH revelou aumento gradativo ao se adicionar o farelo, exceto nas amostras com 15%, retratando melhor atividade antioxidante primária.

A determinação da capacidade antioxidante pelo método de redução dos íons ferro (PR), expressos em $\mu\text{M/g}$, apresentam melhor capacidade de quelar íons de ferro aos resultados encontrados no farelo de mamona pura ($3,28^A \pm 0,45$), exceto na amostra contendo 15% FMT, quando comparado ao processo fermentativo.

Tabela 4 - Médias de tratamento, considerando a interação não significativa.

Desnaturação	DPPH (% de inibição)				Média ±	Eq. Regressão	R ²
	5%	10%	15%	20%	desvio padrão		
Hidróxido de Cálcio	55,61	56,18	51,89	64,10	56,95 ^A ± 5,13	$\hat{Y}=Y=56,94$	ns*
Fermentação	54,82	59,05	58,32	56,58	57,19 ^A ± 1,89	$\hat{Y}=Y=57,19$	ns*
Média	55,21	57,61	55,10	60,34	-	-	-

Desnaturação	PR (µM de sulfato ferroso/g)				Média ±	Eq. Regressão	R ²
	5%	10%	15%	20%	desvio padrão		
Hidróxido de Cálcio	3,60	3,67	2,69	3,15	3,28 ^A ± 0,45	$\hat{Y}=Y=3,27$	ns*
Fermentação	3,51	2,86	3,18	2,77	3,08 ^A ± 0,33	$\hat{Y}=Y=3,08$	ns*
Média	3,55	3,26	2,93	2,96	-	-	-

* Médias externas seguidas de mesma letra subscrita na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F; ns*: não significativo

Pereira et al., (2018) e Wafa et al., (2014), destacam que diversos fatores podem influenciar no potencial antioxidante, dentre eles, método de extração, origem ou adição de compostos.

3.2. Análise de ácidos graxos na ração

Na Tabela 5 é possível observar os resultados do perfil de ácidos graxos dos alimentos utilizados na alimentação dos ovinos. A carne de animais ruminantes tem sido associada ao aparecimento de doenças cardiovasculares devido alto valor de ácidos graxos saturados e baixo quantidade de monoinsaturados. Na análise de ácidos graxos na ração foram encontrados maiores valores em ácidos graxos monoinsaturados, variando de 0,37 a 67,03 e os saturados (0,01 a 10,94) (LOPES et al, 2012). Valores elevados de ácido oleico (C18:1n-9t) e ácido eicosapentaenóico – EPA (C20:5n-3) foram encontrados no farelo de mamona (43,50 e 36,17, respectivamente), acarretando conseqüentemente elevação no perfil de ácidos monoinsaturados e poliinsaturados. O ácido oleico é encontrado em farta quantidade em sementes, o que pode explicar sua grande concentração no farelo de mamona, atua como redutor na hipercolesterolemia (Castro, 2016; Farfan, 1996). O ácido graxo poliinsaturado, em especial o ácido eicosapentaenóico, pode ser encontrado nas plantas, atuando como anti-inflamatório, é considerado essencial em humanos devido a não presença de enzima apropriada para

sintetização, necessitando da ingestão para suprir as necessidades (ALEXANDRINO, 2014). Além disso os AGPI, são responsáveis por diversas funções metabólicas, como regulação enzimática, atividade neuromoduladora e neurotransmissora (BAZINET; LAYÉ, (2014)).

Tabela 5 – Composição de ácidos graxos no farelo de mamona e volumoso

Ácidos graxos	F.M ¹	Volumoso				
		0%	5%	10%	15%	20%
Ácidos graxos saturados						
C6:00 ²	0,22	0,57	0,51	0,21	0,16	0,76
C12:00 ³	0,07	5,24	10,94	2,16	2,00	7,60
C16:00 ⁴	-	0,01	-	-	-	0,01
C17:00 ⁵	0,84	-	-	-	-	-
C20:00 ⁶	4,47	-	-	-	-	-
Ácidos graxos monoinsaturados						
C18:1n9 ⁷	43,50	9,77	12,84	2,98	2,53	12,67
C20:10 ⁸	2,51	67,03	45,63	12,52	11,59	52,48
C22:1n ⁹	0,37	2,21	2,48	0,59	0,70	3,02
Ácidos graxos poli-insaturados						
C20:5n3 ¹⁰	36,17	0,49	9,39	76,76	80,26	7,98
Somatório e razões dos ácidos graxos						
AGS ¹¹	5,60	5,82	11,45	2,37	2,16	8,37
AGMI ¹²	46,39	79,01	60,95	16,09	14,82	68,17
AGPI ¹³	36,17	0,49	9,39	76,76	80,26	7,98
N-6 ¹⁴	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*
N-3 ¹⁵	36,17	0,49	9,39	76,76	80,26	7,98
N-6/N-3 ¹⁶	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*
AGMI/AGS ¹⁷	8,29	13,59	5,32	6,78	6,86	8,15
AGPI/AGS ¹⁸	6,46	0,08	0,82	2,37	7,16	0,95

¹Farelo de Mamona; ²Ácido Cáproico; ³Ácido Lauríco; ⁴Acido Palmitico; ⁵Ácido trans-Oléico; ⁶Acido Margárico; ⁷Ácido Araquídico; ⁸Ácido gondoico; ⁹Ácido erúico; ¹⁰Ácido Eicosapentaenóico, EPA; ¹¹AGS: Ácido graxo saturado; ¹²Ácido graxo monoinsaturado; ¹³Ácido graxo poliinsaturado; ¹⁴Família Omega-6; ¹⁵Família ômega-3; ¹⁶Relação n6/n3; ¹⁷Relação AGMI/AGS; ¹⁸Relação AGPI/AGS; ns*: não significativo.

Resultados não significativos foram encontrados na família ômega-6, entretanto, os ácidos graxos ômega-3 tiveram valores significativos, principalmente no farelo puro e nas

adições de 10% e 15%, este exerce efeitos supressivos para doenças inflamatórias, cardiovasculares e cânceres (SIMOPOULOS (2008)).

Além disso a razão entre AGPI/AGS, sendo recomendado valores acima de 0,45, variou entre 0,08 a 7,16, ocorrendo em amostra contendo 0% de FM e amostra com 15%, respectivamente. Essa pode levar a uma redução em taxas de colesterol plasmático, consequentemente evitando uma série de enfermidades (WORLD HEALTH ORGANIZATION (2010); MCAFEE et al. (2010)).

3.3. Perfil de ácidos graxos nas carnes

Apesar das diferenças no perfil de ácidos graxos da dieta (Tabela 6), a composição de ácidos graxos no lombo de ovinos alimentados com cana-de-açúcar acrescida de farelo de mamona tratada, não apontou diferença significativa ($P>0,05$). Os resultados foram apresentados na Tabela 6. Resultados semelhantes foram encontrados por Araújo et al., (2021), ao avaliar a inclusão de farelo de mamona destoxificado com hidróxido de cálcio- Ca(OH)_2 em novilhos terminados em pastejo. O rúmen possui a capacidade de alterar o perfil lipídico, ocasionando diferenças significativas nos ácidos graxos saturados e insaturados, acarretando diferença no produto final dos animais. Ph ruminal e o teor de fibra presente no alimento também apresentam papel importante nas alterações lipídicas, gerando a conversão de ácidos graxos insaturados em saturados, após a lipólise e subsequente biohidrogenação (MAIA, 2011).

O perfil de ácidos graxos da carne é altamente relevante para a saúde humana. Dietas com elevado teor de ácidos graxos saturados, está diretamente associado ao risco de obesidade, câncer e doenças cardiovasculares. A carne ovina é caracterizada pela alta concentração de ácidos graxos saturados e pela baixa relação poli-insaturados:saturados, quando comparados com outras carnes vermelhas (OLIVEIRA et al., 2015; COOPER et al., 2004), comportamento que também foi observado nesse trabalho.

Tabela 6 – Média das áreas dos picos de ácidos graxos da carne de ovinos mestiços Santa Inês, submetidos a dietas com diferentes níveis de farelo de mamona destoxificado com hidróxido de cálcio.

Ácidos graxos	Nível de farelo de mamona (%)					Equação de regressão	CV ¹ (%)	Valor de P ²	
	0	5	10	15	20			L	Q
Ácidos graxos saturados									
C6:0 ⁵	0,19	0,09	0,09	0,10	0,09	$\hat{Y} = 0,11$	28,15	-0,03	0,00
C8:0 ⁶	0,24	0,14	0,14	0,15	0,14	$\hat{Y} = 0,16$	25,52	-0,03	0,00
C10:0 ⁷	0,28	0,17	0,19	0,17	0,15	$\hat{Y} = 0,19$	28,78	-0,03	0,00

C11:0 ⁸	0,16	0,09	0,08	0,09	0,05	$\hat{Y} = 0,09$	28,84	-0,02	0,00
C12:0 ⁹	1,02	0,55	0,53	0,43	0,52	$\hat{Y} = 0,61$	35,14	-0,12	0,00
C13:0 ¹⁰	0,29	0,16	0,10	0,17	0,12	$\hat{Y} = 0,17$	44,92	-0,05	0,00
C14:0 ¹¹	10,89	5,96	5,61	6,46	4,13	$\hat{Y} = 6,61$	17,46	-1,74	0,17
C15:0 ¹²	2,46	1,43	1,16	1,03	0,84	$\hat{Y} = 1,39$	39,53	-0,29	0,02
C16:0 ¹³	131,5	63,39	70,66	66,53	44,42	$\hat{Y} = 75,30$	26,43	-21,40	2,09
C17:0 ¹⁴	7,69	3,56	3,54	3,24	2,63	$\hat{Y} = 4,13$	25,86	-1,22	0,10
C18:0 ¹⁵	144,6	65,88	71,78	57,30	34,88	$\hat{Y} = 74,89$	29,82	-23,09	2,11
C20:0 ¹⁶	1,21	1,14	1,62	1,76	1,46	$\hat{Y} = 1,44$	35,22	-0,07	0,01
C21:0 ¹⁷	0,06	0,03	0,03	0,03	0,02	$\hat{Y} = 0,03$	37,44	-0,01	0,00
C22:0 ¹⁸	0,95	0,40	0,58	0,39	0,38	$\hat{Y} = 0,54$	29,88	-0,14	0,01
C24:0 ¹⁹	0,11	0,06	0,04	0,06	0,03	$\hat{Y} = 0,06$	42,17	-0,02	0,00
Ácidos graxos monoinsaturados									
C14:1 ²⁰	1,51	0,63	0,41	0,43	0,36	$\hat{Y} = 0,67$	26,56	-0,26	0,02
C15:1 ²¹	0,04	0,02	0,02	0,03	0,03	$\hat{Y} = 0,03$	37,31	-0,00	0,00
C16:1 ²²	11,87	7,29	5,53	6,65	5,31	$\hat{Y} = 7,33$	26,33	-1,56	0,13
C17:1 ²³	3,06	1,69	1,79	1,59	1,45	$\hat{Y} = 1,91$	32,00	-0,38	0,03
C20:1 ²⁴	1,16	0,76	0,89	0,74	0,83	$\hat{Y} = 0,88$	23,96	-0,09	0,00
C18:1 n9-t ²⁵	7,03	3,92	4,12	3,61	2,31	$\hat{Y} = 4,20$	33,14	-0,95	0,09
C18:1 n9-c ²⁶	196,2	96,44	103,8	105,4	81,69	$\hat{Y} = 116,75$	34,34	-31,77	3,07
C22:1 n-9 ²⁷	0,14	0,06	0,08	0,06	0,08	$\hat{Y} = 0,08$	29,50	-0,01	0,00
C24:1 ²⁸	1,82	1,46	2,50	2,12	2,07	$\hat{Y} = 2,00$	37,54	-0,08	0,01
Ácidos graxos poli-insaturados									
C18:2 n9-6t ²⁹	0,33	0,22	0,31	0,36	0,28	$\hat{Y} = 0,30$	30,30	-0,04	0,00
C18:2 n9-6c ³⁰	0,92	0,42	0,44	0,40	0,28	$\hat{Y} = 0,49$	25,48	-0,15	0,01
C18:3 n-6 ³¹	0,36	0,20	0,22	0,19	0,17	$\hat{Y} = 0,23$	31,67	-0,04	0,00
C18:2 c-9 t-11 ³²	0,92	0,46	0,41	0,39	0,30	$\hat{Y} = 0,50$	43,16	-0,13	0,01
C18:2 c-10t-12 ³³	0,23	0,12	0,10	0,10	0,08	$\hat{Y} = 0,12$	43,38	-0,03	0,00
C20:2 ³⁴	0,16	0,11	0,11	0,11	0,08	$\hat{Y} = 0,12$	21,43	-0,01	0,00
C20:3 n-6 ³⁵	0,23	0,10	0,12	0,10	0,10	$\hat{Y} = 0,13$	29,04	-0,03	0,00
C20:3 n-3 ³⁶	2,61	1,02	1,31	1,14	1,07	$\hat{Y} = 1,43$	28,79	-0,46	0,04
C20:5 n-3 ³⁷	0,93	0,50	0,44	0,57	0,92	$\hat{Y} = 0,67$	28,02	-0,11	0,00
C22:2 ³⁸	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	$\hat{Y} = 0,03$	36,67	-0,00	0,00
C22:6 n-3 ³⁹	0,50	0,21	0,26	0,18	0,15	$\hat{Y} = 0,26$	25,49	-0,07	0,00

¹Coefficiente de variação; ²Valor de Probabilidade (L: linear Q: quadrática); ³Ácido Cáproico; ⁴Ácido Laurico; ⁵Ácido Palmítico; ⁶Ácido Margárico; ⁷Ácido trans-Oléico; ⁸Ácido gondoico; ⁹Ácido erúico; ¹⁰Ácido Eicosapentaenóico, EPA;

No presente estudo, o ácido graxo que apresentou o maior percentual de área foi o ácido oleico, seguindo palmítico e esteárico, resultado semelhante foi encontrado por Oliveira et al., (2020), ao avaliar ovinos alimentados por silagem de cana-de-açúcar acrescida de diferentes concentrações de farelo de mamona desintoxicada, indicando a substituição do farelo em até 33% em troca ao farelo de soja, sem prejuízo lipídico.

Resultados diferentes foram relatados por Oliveira et al., (2015) após cabritos serem alimentados por 165 dias com farelo de milho acrescido de torta de mamona sem óleo, acarretando valores mais baixos de ácidos graxos insaturados e aumento nos níveis de ácidos graxos margárico, associando esse aumento a alterações ocasionadas pela torta no microrganismo do rúmen.

Dos ácidos graxos monoinsaturados, o ácido oleico, apresenta-se como agente anticarcinogênico e atuar como hipocolesterolêmico, promovendo redução no teor de colesterol total e LDL (DEVIA, 2021). Menezes et al. (2016) ao comparar o teor de ácido oleico da dieta oferecida ao animal e da carne, verificou que a carne com maior teor de ácido oleico não foi oriunda do animal que se alimentou com a dieta com maior teor de ácido oleico, demonstrando que o processo de biohidrogenação dos ruminantes interfere no teor de ácidos graxos insaturados. Bem como, Oliveira et al (2020), ao avaliar cordeiros alimentados com diferentes concentrações de farelo de mamona, observou comportamento quadrático positivo para ácido oleico em lipídios da carne ovina.

Araujo et al. (2021) citam que o tratamento com agentes alcalinos, como o hidróxido de cálcio em rações proteicas, apresenta redução da degradação ruminal pelo mecanismo relacionado às alterações estruturais da proteína causadas pela desnaturação (DE ARAÚJO et al., 2021)

Dentre os ácidos graxos saturados que apresentaram maior percentual de área na carne de ovino, o ácido palmítico (C16:0), gera preocupação, devido atuação na elevação dos níveis de proteína de baixa densidade (LDL), entretanto, ao acrescentar maiores níveis de FMT é possível notar uma redução nos níveis, diferença essa não significativa ($P > 0,05$), essa redução que ocorreu ao aumentar a proporções de farelo possibilita menores índices hipercolesterolêmicos e favoreceria o aumento nos níveis de colesterol bom (HDL), acarretando menor riscos de doenças cardíacas.

O ácido graxo esteárico (C18:0), também teve sua área reduzida ao acrescentar maiores concentrações de farelo de mamona, diferença essa não significativa ($P > 0,05$), é atribuído como responsável de muitas das características desejáveis de sabor e textura, que são conferidas aos ácidos graxos saturados de cadeia longa considerado ácido graxo neutro, não representa enfeito

negativo sobre a atuação cardiovascular (Menezes et al., 2016). Esse resultado deixa a entender que menores concentrações do farelo na alimentação animal são mais vantajosas para as características organolépticas da carne.

A relação entre os diversos ácidos graxos tem sido realizada com o objetivo de avaliar o fator de risco dos alimentos em comparação as elevadas taxas de colesterol sanguíneo, visto que os ácidos graxos saturados elevam o teor plasmático e os insaturados diminuem.

A relação de ácidos graxos monoinsaturados: ácidos graxos saturados, relação ácidos graxos poli-insaturados: ácidos graxos saturados, Ácidos graxos desejáveis, Índice de aterogenicidade, Índice de trombogenicidade e relação ácidos graxos hipocolesterolêmico: hipercolesterolêmico, não apresentaram diferenças significativas ($P>0.05$) com a inclusão do farelo de mamona, apresentados na Tabela 7.

A concentração de ácidos graxos desejáveis é expressa pela soma dos ácidos graxos insaturados mais o ácido esteárico. Os resultados encontrados nesse trabalho, variam entre 98,66% a 232,04%. Valores inferiores foram citados por Pereira (2011), variando entre 59,82% a 71,02%, ao analisar carcaças de cordeiro Santa Inês alimentados com farelo de mamona destoxificado.

O efeito da adição na torta de mamona nas relações de AGMI/AGS e AGPI/AGS (0,84% e 0,12%, respectivamente) apresentaram valores inferiores aos citados por Pereira (2011), variando entre 1,09% e 1,16% e por Santos et al (2010), ao estudar cordeiros alimentados por subprodutos de oleaginosas, variando entre 1,01% e 1,12%.

Tabela 7 – Perfil de ácidos graxos do lombo de ovinos alimentados com silagem de cana-de-açúcar aditivada de farelo de mamona destoxificada

Ácidos graxos	Nível de farelo de mamona (%)					Equação de regressão	R ²	CV (%)
	0	5	10	15	20			
AGMI/AGS	0,74	0,78	0,78	0,87	1,07	$\hat{Y} = 0,84$	0,43	17,25
AGPI/AGS	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	$\hat{Y} = 0,12$	0,46	28,38
AGD	232,04	116,77	124,26	125,35	98,66	$\hat{Y} = 139,41$	0,58	30,42
IA	1,82	1,33	1,29	1,19	1,14	$\hat{Y} = 1,35$	0,48	19,39
n-3	4,04	1,74	2,00	1,89	2,14	$\hat{Y} = 2,36$	0,72	22,70
n-6	1,85	0,94	1,10	1,05	0,83	$\hat{Y} = 1,15$	0,65	23,82
n6/n3	0,48	0,56	0,60	0,58	0,41	$\hat{Y} = 2,63$	0,13	37,08
H/h	1,49	1,51	1,50	1,58	1,90	$\hat{Y} = 1,60$	0,25	17,59

IT	1,79	1,01	1,10	1,02	1,13	$\hat{Y} = 1,21$	0,67	17,33
----	------	------	------	------	------	------------------	------	-------

Relação AGMI/AGS; Relação AGPI/AGS; Ácido graxos desejáveis; Índices de aterogenicidade; Família Omega-6; Família ômega-3; Relação n6/n3; Razão entre Ácidos Graxos Hipocolesterolêmicos/Hipercolesterolêmicos; Índices trombogénicidade.

Não existem valores recomendados para os índices de aterogenicidade (IA) e índices trombogénicidade (IT), no entanto, valores mais baixos exprimem uma relação de ácidos graxos mais favoráveis em termos de saúde. O lombo de ovino apresentou um índice médio de 1,35% de IA e 1,21% de IT. Foram encontrados valores inferiores por Pereira (2011). Batista *et al.* (2008) e Costa *et al.* (2009), encontraram valores na faixa de 0,68% a 0,721% e 0,68 a 0,69, respectivamente.

Os ácidos graxos n-3 e n-6 apresentaram média 2,36 e 1,15%, respectivamente, valores mais elevados do omêga-3 são relevantes, diante da gama de benefícios associados a esse ácido, entre eles, ação anti-inflamatória. Recomenda-se para a dieta humana, que o consumo seja de somente de 3.59 vezes mais omêga-6 em relação ao omêga-3 (Aferri *et al.*, 2012; Daley *et al.*, 2010). Pereira (2011), encontrou valores entre 0,04% e 0,22, estando bem abaixo dos valores encontrados nesse estudo.

A razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos (H/h) apresentou média de 1,60%, a literatura, não apresenta limites ou valores fixos recomendáveis, entretanto, valores elevados estão relacionados com produtos mais saudáveis, uma vez que possuem maior teor de ácidos graxos, atuando na hipocolesterolémia. Valores entre 1,65% e 8,89 foram encontrados por Pereira (2011). Apontando valores similares encontrados nesse estudo.

3.4 Teor de colesterol em ovinos alimentados com cana de açúcar acrescida de farelo de mamona tratada

Ao analisar o teor médio de colesterol da carne dos ovinos alimentando com diferentes inclusões de farelo de mamona destoxificado, apresentada na Tabela 8, observou-se que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) a partir das diferentes concentrações de farelo de mamona destoxificado (Tabela 9), exibindo uma média de 22,77 mg/100g. Normalmente, os teores de colesterol variam entre 75,26 a 77,03 mg por 100g (Nogueira et al. 2001). Valores entre 63,64 e 71,57mg/100g também já foram mencionados, indicando que o colesterol apresentam-se como precursor da síntese de hormônios e vitamina D (PEREZ, J.R.O.;

BRESSAN, M.C.; BRAGAGNOLO, N.; PRADO, O.V.; LEMOS, A.L.S.C.; BONAGURIO, 2002).

Wanderley Junior et al., (2021), citam que a concentração de colesterol na membrana plasmática está intimamente relacionada ao transporte intracelular de ricina, podendo aumentar sua degradação em até 40%. Desse modo, uma possível presença residual de ricina na torta de mamona, mesmo após o tratamento para desintoxicação, possui capacidade de alterar a síntese tecidual de colesterol, a fim de reduzir a endocitose e aumentar a degradação. Objetivando reduzir os níveis plasmáticos de colesterol e lipoproteínas, os fitosteróis, são amplamente encontrados em diferentes partes das plantas, apresentam características na redução em especial do colesterol de baixa densidade (LDL-C), bem como, estão associados a função antioxidante. A biodisponibilidade inclui fatores genéticos e molecular (LI et al., 2022). Velasco et al., (2015), identificaram na variação genética da mamona coletada na Espanha a presença de fitosteróis, entretanto, as sementes apresentam grande variação no teor e característica de baixa absorção.

Tabela 8 – Teor de colesterol do lombo de ovinos mestiços da raça Santa Inês, alimentados com silagens de cana-de-açúcar acrescida de farelo de mamona destoxificado

Variável	Nível de farelo de mamona (%)					Equação de Regressão	CV ² (%)	Valor de P ³	
	0	5	10	15	20			L	Q
Colesterol	21,69	19,87	20,31	27,27	24,69	$\hat{Y} = 28,77$	11,41	-1,73	0,25

¹Coeficiente de variação; ² Valor de probabilidade (L: Linear, Q: Quadrática)

De acordo com Melo et al. (2014), qualquer nível de inclusão alimentar que seja adicionado a dieta é capaz de promover alteração significativa ou não na qualidade da carne. Os resultados demonstraram que todos os tratamentos apresentaram teor de colesterol abaixo dos teores considerados maléficos a saúde humana de 50mg/100g (Saucier,1999). D` Aurea et al. (2018), enfatiza que a diferenciação nos valores de concentração de colesterol, também podem estar relacionadas a metodologia utilizada, idade ao abate, sexo e peso do animal.

3.5. Análise de Oxidação lipídica da carne

Ao se avaliar a oxidação lipídica da carne, apresentada na Tabela 9, foi possível observar que houve aumento linear ($P < 0,05$) a partir da adição do farelo de mamona destoxificada. O presente estudo encontro valores entre 0,89 a 3,05.

Fang et al., (2019), aponta que o valor das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico é comumente utilizado para indicar a extensão da oxidação lipídica em produtos alimentícios, um valor mais alto de TBARS sugere um nível mais alto no potencial oxidação da carne. Compostos fenólicos e fenólicos totais também podem estar associados a essa diferença.

Tabela 9 – Teor de oxidação lipídica no lombo de ovinos mestiços da raça Santa Inês, alimentados com silagens de cana-de-açúcar acrescida de farelo de mamona destoxificado

Variável	Nível de farelo de mamona (%)					Equação de Regressão	CV (%) ¹	Valor P ²	
	0	5	10	15	20			L	Q
Oxidação lipídica	0,91	0,89	1,67	2,27	3,05	$\hat{Y} = 8,79$	42,78	-0,05	0,01

¹ Coeficiente de variação; ²Valor de P: Valor de probabilidade – L: Linear, Q: Quadrática;

Uma das causas mais importantes da deterioração da carne é a oxidação lipídica, que é afetada pela composição de ácidos graxos intramusculares, particularmente ácidos graxos poliinsaturados. A oxidação lipídica pode levar a perdas por gotejamento, desenvolvimento de odor e sabor estranhos, produção de compostos potencialmente tóxicos (VALERO et al., 2014).

4. CONCLUSÃO

O farelo de mamona acrescido a cana de açúcar apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) nas análises CFT, FT e BCAL, porém apresenta baixa capacidade antioxidante. O β -caroteno/ácido linoleico (BCAL) apresentou diferença entre as médias principalmente nos níveis de inclusão de 5% e 10%, onde a desnaturação através do processo fermentativo obteve maiores valores.

A adição da torta de mamona na dieta de ovinos mestiços da raça Santa Inês não alterou o perfil de ácidos graxos e teor de colesterol, entretanto, houve aumento linear ao analisar o lombo nos teores de oxidação lipídica, diante da adição nos níveis de farelo de mamona. Assim, esse aditivo como observado em outros estudos, poderá ser adicionado nas dietas para animais ruminantes, inclusive em quantidades mais elevadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, M. C. G. Uso do ômega 3 e 6 como adjuvante terapêutico nas doenças dermatológicas em cães. *Medvop Dermato. Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária*. v. 3, n. 10, p. 1-637. 2014.

ARAÚJO, F. L., SOUZA, K. L., SANTANA, N. M., SANTANA, L. R. C., SILVA, C. S., OLIVEIRA, K. N., PRADO, I. N., EIRAS, C. E., BAGALDO, A. R. Animal performance, ingestive behavior, and carcass characteristics of grazing- finished steers supplemented with castor bean (*Ricinus communis L.*) meal protein. **Tropical Animal Health and Production**. v. 53, n. 240, 2021.

BANNON, C.D.; CRASKE, J.D.; HAI, N.T.; HARPER, N.L.; O'ROURKE, K.L. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. **Journal of Chromatography A**, V. 217, P. 63-69, 1982.

BAZINET, R. P.; LAYÉ, S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. **Nat Revista Neurociencia**, v. 15, n.12, p. 771-85, 2014.

BERNARDES, G. M. C., CARVALHO, S., PIRES, C. C., MOTTA, J. H., TEIXEIRA, W. S., BORGES, L. I., FLEIG, M., PILECCO, V. M., FARINHA, E. T., VENTURINI, R. S. Consumption, performance and economic analysis of the feeding of lambs finished in feedlot as the use of high-grain diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 67, n. 6, p. 1684–1692, 2015.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A rapid method of total lipid extraction and purification**. Canadian Journal Biochemistry Physiology, v.37, n.8, p. 911-917, 1959.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel - Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

DE LIMA JÚNIOR, D. M.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; MORENO, G. M. B. Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 1, p. 14–28, 2013.

DUARTE-ALMEIDA, J. M., ET AL. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446–452, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. SALATTINO, A., GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M. Phenolic composition and antioxidant activity of culms and sugarcane (*Saccharum officinarum L.*) products. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 660–664, 2011.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n.1, p. 497-509, 1957.

FENG, S, LUO, Z., ZHANG, Y., ZHONG, Z., LU, B. Phytochemical contents and antioxidant capacities of different parts of two sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 151, p. 452–458, 2014.

FONSECA, N. B. da S., SOTO-BLANCO, B. Toxidade da ricina presente nas sementes de mamona. **Semina: Ciência Agrária**, v. 35, n. 3, p. 1415-1424, maio/jun. 2014.

LOPES, L. S.; LADEIRA M. M.; MACHADO NETO O. R.; MENDES E.M.; VEIGA, P.R.P. CHIZZOTTI M.L.; , GUERREIRO, M.C. Composição química e de ácidos graxos do músculo longissimus dorsi e da gordura subcutânea de tourinhos Red Norte e Nelore. **Revista Brasileira de zootecnia** , v.41, n.4, p.978-985, 2012.

MEDEIROS, F.F. SILVA, A. M. A., CARNEIRO, H. ARAUJO, D. R. C., MORAIS, R. K. O., MOREIRA, M. N., BEZERRA, L. R. Fontes Proteicas alternativas da cadeia produtiva do biodiesel para alimentação de ruminantes. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 67, n. 2, p. 519-526, 2015.

MENEZES, D. R.; COSTA, R. G.; DE ARAÚJO, G. G. L.; PEREIRA, L. G. R.; DE MEDEIROS, G. R.; OLIVEIRA, J. S.; NASCIMENTO, T. V. C.; RODRIGUES, R. T. S.; FILHO, J. M. P.; BUSATO, K. C. Detoxified castor meal in substitution of soybean meal in sheep diet: growth performance, carcass characteristics and meat yield. **Tropical Animal Health and production**, v. 48, p. 297-302, 2016.

MILLER, H. E. A Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.

MIR, Z.; RUSHFELD, M.L.; MIR, P.S. PATERSON, L.J.; WESELAKE R.J. Effect of dietary supplementation with either conjugated linoleic acid (CLA) or linoleic acid rich oil on the CLA content of lambs tissues. **Small Ruminants Research**, v. 36, p.25-31. 2000.

OLIVEIRA, A. S.; OLIVEIRA, M. R. C.; CAMPOS, J. M. S.; LANA, R. P.; MACHADO, O. L. T.; RETAMAL, C. A.; DETMANN, E.; FILHO, S. C. V. In vitro ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, p. 41 - 54, 2010.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Jornal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.

RAMPADARATH, S.; PUCHOOA, D.; RANGHOO-SANMUKHIYA, V. M. A comparison of polyphenolic content, antioxidant activity and insecticidal properties of *Jatropha* species and *Ricinus communis* L. found in Mauritius. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, p. S384-S390, 1 Set. 2014.

RUFINO, M. DO S. M.; RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMÉNEZ, J.; SOURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP), **Comunicado Técnico 125**, Embrapa, p. 3–6, 2007.

- SAKANAKA, S.; TACHIBANA, Y.; OKADA, Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). **Food Chemistry**, v. 89, n. 4, p. 569–575, 2005.
- SALDANHA, T.; MAZALLI, M.R.; BRAGAGNOLO, N. Avaliação comparativa entre Dois métodos para determinação do colesterol em carnes e leite. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.24(1), p.109-113, 2004.
- SANTOS, D. P. M.; BATISTA, L. AF. R.; BOFFO, E. F.; CERQUEIRA, D. M. M. D. de C.; CASTRO, R. D.; SOUZA-NETA, L. C.; PINTO, E.; ZAMBOTTI-VILLELA, L.; COLEPICOLA, P.; FERNANDEZ, L. G.; CANUTO, G. AB.; RIBEIRO, P. R. Identification of antioxidant and antimicrobial compounds from the oilseed crop *Ricinus communis* using a multiplatform metabolite profiling approach. **Industrial Crops and Products**. v. 124, p. 834-844, 2018.
- SILVA, N. L.; ARAÚJO, I. P. C.; BATISTA, M. R. F.; SANTOS, T. B. A.; FERNANDO, W. L.; AMARAL, F. R. Determinação da atividade antioxidante e do teor de flavonoides totais equivalentes em quercitina em extrato aquoso de folhas de *Cymbopogon citratus (d.c) stapf* e *Melissa officinalis lam* obtidos por decocção. **Conexão Ciência**. vol. 12, n 1, p. 46-53, 2017.
- SIMAPOULOS, A. P.; The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine (Maywood)**, v. 233, n. 6, p. 674-88, 2008.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, n. 1974, p. 152–178, 1998.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI-JR, J. A. COLORIMETRY OF TOTAL PHENOLICS WITH PHOSPHOMOLYBDIC-PHOSPHOTUNGSTIC ACID REAGENTS. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.
- VALERO, M. V., TORRECILHAS, J. A., ZAWADZKI, F., BONOFÉ, E. G., MADRONA, G. S., PRADO, R. M., PASSETTI, R. A. C., RIVAROLI, D. C., VISENTAINER, J. V., PRADO, I. N. Propolis or cashew and castor oils effects on composition of longissimus muscle of crossbred bulls finished in feedlot. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, n. 4, p. 445–451, 2014.
- VIEIRA, B.; NADALETI, W. C.; SARTO, E. The effect of the addition of castor oil to residual soybean oil to obtain biodiesel in Brazil: Energy matrix diversification. **Renewable Energy**, v. 165, p. 657–667, 2021.
- WAFI, G. AMADOU, D., LARBI, K. M., HÉLA, E. F. O. Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis L.* **Industrial Crops and Products**, v. 56, p. 43–51, 2014.
-