



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

**FARELO DE MAMONA DESTOXIFICADO NA DIETA DE CABRAS
LEITEIRAS**

MARCELO FERREIRA FERNANDES

**AREIA - PB
FEVEREIRO - 2011**



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

FARELO DE MAMONA DESTOXIFICADO NA DIETA DE CABRAS
LEITEIRAS

MARCELO FERREIRA FERNANDES

Zootecnista

AREIA - PB
FEVEREIRO - 2011

MARCELO FERREIRA FERNANDES

**FARELO DE MAMONA DESTOXIFICADO NA DIETA DE CABRAS
LEITEIRAS**

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

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Ariosvaldo Nunes de Medeiros - Orientador principal

Dr. Marco Aurélio Delmondes Bomfim

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga

**AREIA - PB
FEVEREIRO - 2011**

MARCELO FERREIRA FERNANDES

**FARELO DE MAMONA DESTOXIFICADO NA DIETA DE CABRAS
LEITEIRAS**

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Ariosvaldo Nunes de Medeiros
Universidade Federal da Paraíba
Departamento de Zootecnia/CCA
Presidente

Prof^ª. Dr^ª. Elzânia Sales Pereira
Universidade Federal do Ceará
Departamento de Zootecnia

Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva
Universidade Federal de Campina Grande
Departamento de Medicina Veterinária

Dr. Geovergue Medeiros
Instituto Nacional do Semiárido/MCT

Prof. Dr. Marcone Geraldo Costa
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Departamento de Zootecnia

AREIA - PB

FEVEREIRO - 2011

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MARCELO FERREIRA FERNANDES – Nascido na cidade Natal, Rio Grande do Norte, em nove de julho de 1981, é filho de José Claudio de Paula Fernandes e Helena Eulália Ferreira Fernandes. Concluiu o segundo grau no Complexo Educacional Henrique Castriciano, em dezembro de 1998, na cidade de Natal-RN e ingressou na Universidade Federal do Rio Grande do Norte no ano de 1999, onde obteve o grau de Zootecnista em outubro de 2004. Em Março de 2005, ingressou no curso de Pós-Graduação em Zootecnia na Universidade Federal da Paraíba, onde obteve o título de *Master Science* em Produção de Ruminantes em fevereiro de 2007. Em março de 2007, ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia pela Universidade Federal da Paraíba e submeteu-se à defesa de tese para a obtenção do título de *Doctor Science* em fevereiro de 2011.

Aos meus pais José Claudio e Helena, pelo alicerce da família, pelo sacrifício em colocar os filhos para estudar e pela confiança em mim depositada

Aos meus irmãos Renata e Claudinho

À amada e companheira Lauana

À minha querida avó Marcília

Aos meus tios e tias

Aos primos e primas

Aos amigos

Ofereço

Ao Chrispin Ferreira Filho (*in memoriam*)

À Maria Sônia de Albuquerque Ferreira (*in memoriam*)

Ao Oscarlilo Fernandes da Costa (*in memoriam*)

Meus queridos avós, a quem agradeço por terem me ensinado a ter garra na vida

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela bênção da vida e a oportunidade de ter saúde, paz e uma família maravilhosa.

Ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia – PDIZ pela capacitação oferecida e aos professores deste programa, pelos ensinamentos.

Ao professor Ariosvaldo Nunes de Medeiros, pela orientação e pelos ensinamentos no decorrer de toda a minha pós-graduação.

À professora Rita de Cássia Ramos do Egito Queiroga, da UFPB, pela orientação e pela disponibilidade em ajudar nas análises sensoriais.

Ao pesquisador Marco Aurélio Delmondes Bomfim, da Embrapa Caprinos e Ovinos, pelo exemplo de profissional, pelas orientações e pela amizade.

Ao pesquisador Antônio Sílvio do Egito, da Embrapa Caprinos e Ovinos, pelos ensinamentos repassados no tocante às análises laboratoriais, pela paciência em orientar nos momentos difíceis da destoxificação da mamona e pelo pronto atendimento em todos os momentos que precisei.

Ao pesquisador Raymundo Rizaldo Pinheiro, da Embrapa Caprinos e Ovinos, por ceder o laboratório para realização das análises e pelas sugestões para a elaboração dos artigos.

À Graça, secretária do PDIZ/UFPB, pelos momentos de descontração e pela disponibilidade em atender as minhas necessidades quanto estudante.

À CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsas de estudo, que foram importantes para a caminhada durante toda a pós-graduação.

Aos meus colegas de república, de doutorado e companheiros de São João do Cariri Araken Rodrigues, Alexandre Braga, André Teteu, Valdi Júnior, Carlos Allan, Henrique Parente, Expedito Danúsio, Wellington Dias, Ebson Pereira, Michelle Maia, Ana Sancha, Claudinha, Jullicelly Barbosa, Cicília Maria, Josimar Torres, Tobyas Mariz, Luciana de Alexandre, Leilson Bezerra, Alexandre Côrtes, Lígia, Marcos Jácome e Wllissis Mangabeira, pelo companheirismo, pelas farras e momentos de lazer, e a todos os outros

que deixei de citar nessa lista, mas que participaram, de forma direta ou indireta, destes momentos.

À Embrapa Caprinos e Ovinos, pela concessão das instalações de campo, animais, laboratórios e apoio financeiro para a plena realização do trabalho experimental e análises laboratoriais. A todos os funcionários, especialmente, Lidu, Marcio, Valdécio, Fábio, Lino, Alex, Flávio, Messias, Osmarilda, Jorge Silvestre, Tabosa, Batista, Baiano, Mesquita, Pedro e Louro Albino, pelo apoio de campo e análises laboratoriais.

Ao casal amigo, fiel e companheiro, Leandro Oliveira e Roberta Lomonte, pelo acolhimento, companheirismo, fidelidade e honestidade, em todos os momentos da minha jornada em Sobral.

Aos colegas Embrapianos, Fernando Henrique, Eduardo Luiz, Vinícius Pereira e Éden Paiva, pelo apoio no experimento, pela amizade e pelos momentos de lazer e descontração.

Aos colegas Cutrim Júnior, Sueli Santos, Lisa Presley, Patrícia Mapurunga, Natália, Suelem e Suelene, pela companhia e ajuda na execução do experimento.

Finalmente, a todos que contribuíram e torceram pela realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
Lista de Tabelas.....	<i>ix</i>
Lista de Figuras.....	<i>xi</i>
Lista de Abreviaturas.....	<i>xii</i>
Resumo Geral.....	<i>xvi</i>
Abstract.....	<i>xvii</i>
Considerações Iniciais.....	01
Capítulo 1 - Referencial teórico.....	03
Introdução.....	04
Revisão de Literatura.....	05
Referências Bibliográficas.....	18
Capítulo 2 - Hidrólise alcalina da ricina e potencial do farelo de mamona como alimento alternativo para ruminantes.....	23
Resumo.....	24
Abstract.....	25
Introdução.....	26
Material e Métodos.....	28
Resultados e Discussão.....	31
Conclusões.....	39
Referências Bibliográficas.....	39
Capítulo 3 - Parâmetros de digestão e balanço de nitrogênio em cabras lactantes alimentadas com diferentes níveis de farelo de mamona destoxificado.....	43
Resumo.....	44

Abstract.....	46
Introdução.....	48
Material e Métodos.....	50
Resultados e Discussão.....	56
Conclusões.....	64
Referências Bibliográficas.....	64
Capítulo 4 - Utilização de farelo de mamona destoxificado na dieta de cabras leiteiras: impactos sobre a produção e qualidade do leite.....	68
Resumo.....	69
Abstract.....	70
Introdução.....	71
Material e Métodos.....	73
Resultados e Discussão.....	78
Conclusões.....	86
Referências Bibliográficas.....	86
Considerações Finais.....	90
APÊNDICE.....	91

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2. Hidrólise alcalina da ricina e potencial do farelo de mamona como alimento alternativo para ruminantes

	Página
1. Tratamentos utilizados para destoxificação do farelo de mamona.....	28
2. Composição bromatológica com base na matéria seca e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS) do farelo de mamona com ricina, do farelo de mamona destoxificado com 3% de NaOH e do farelo de soja.....	37

Capítulo 3. Parâmetros de digestão e balanço de nitrogênio em cabras lactantes alimentadas com diferentes níveis de farelo de mamona destoxificado

	Página
1. Composição bromatológica dos ingredientes.....	51
2. Composição percentual e química das dietas experimentais com base na matéria seca.....	52
3. Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes das dietas contendo farelo de mamona destoxificado (FMD) em substituição ao farelo de soja....	56
4. Digestibilidade total, ruminal e intestinal da matéria seca e nutrientes, em função da substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado.....	58
5. Valores médios e desvios-padrões das variáveis analisadas do hemograma de cabras recebendo diferentes níveis de farelo de mamona em substituição ao farelo de soja.....	60
6. Valores médios e desvios-padrões das variáveis analisadas na bioquímica sérica dos animais recebendo diferentes níveis de farelo de mamona em substituição ao farelo de soja.....	61

7. Efeito da substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado no balanço de nitrogênio.....	63
8. Efeito dos níveis de substituição farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado sobre o pH ruminal de cabras lactantes.....	63

**Capítulo 4. Utilização do farelo de mamona destoxificado na dieta de cabras leiteiras:
impactos sobre a produção e qualidade do leite**

	Página
1. Composição bromatológica dos ingredientes.....	74
2. Composição percentual e química dos tratamentos com base na matéria seca.....	75
3. Produção e composição físico-química do leite de cabras alimentadas com farelo de mamona destoxificado, em substituição ao farelo de soja.....	78
4. Perfil de ácidos graxos do leite de cabras em lactação alimentadas com farelo de mamona destoxificado.....	81
5. Valores médios dos atributos sensoriais pelo teste da análise descritiva quantitativa (ADQ) do leite de cabras alimentadas com farelo de mamona destoxificado.....	85

LISTA DE FIGURAS**Capítulo 2. Hidrólise alcalina da ricina e potencial do farelo de mamona como alimento alternativo para ruminantes**

	Página
1. Eletroforese em gel de poliacrilamida das proteínas procedentes de extração ácida do farelo de mamona hidrolisado, em função da concentração de NaOH e tempos de reação.....	31
2. Eletroforese em gel de poliacrilamida das proteínas procedentes de extração ácida do farelo de mamona hidrolisado em função da quantidade de hidróxido de sódio e da quantidade de água, utilizando coloração de azul de Coomassie.....	32
3. Eletroforese em gel de poliacrilamida das proteínas procedentes de extração ácida do farelo de mamona hidrolisado em função da quantidade de hidróxido de sódio e da quantidade de água, corado com nitrato de prata.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS

'	Minuto
"	Segundo
%	Porcentagem
μL	Microlitro
μg	Micrograma
ADQ	Análise descritiva quantitativa
AGQ	Agente de guerra química
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
AST	Aspartato aminotransferase
Bast	Bastonetes
BN	Balanço de nitrogênio
C10:0	Ácido cáprico
C11:0	Ácido n-undecílico
C12:0	Ácido láurico
C13:0	Ácido n-tridecílico
C14:0	Ácido mirístico
C14:1	Ácido miristoleico
C15:0	Ácido pentadecílico
C15:1	Ácido 5-pentadecanoico
C16:0	Ácido palmítico
C16:1	Ácido palmitoleico
C17:0	Ácido margárico
C17:1	Ácido 8-heptadecanóico
C18:0	Ácido esteárico
C18:1 cis-9	Ácido oleico
C18:1 trans-9	Ácido eláidico
C18:2 cis n6	Ácido linoleico
C18:2 cis-9 trans-11	Ácido linoleico conjugado
C18:2 trans n6	Ácido linoleláidico
C18:3 n3	Ácido α-linolênico
C18:3 n6	Ácido γ-linolênico
C20:4 n6	Ácido araquidônico
C4:0	Ácido butírico
C6:0	Ácido caproico
C8:0	Ácido caprílico
Ca(OH) ₂	Hidróxido de cálcio
Cab	Cabeça
CCS/UFPB	Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba
CDM	Consumo diário do marcador

CEE	Consumo de extrato etéreo
CFDN	Consumo de fibra insolúvel em detergente neutro
CHCM	Concentração hemoglobínica corpuscular média
CHOT	Carboidratos totais
CLA	Ácido linoleico conjugado
CMA	Concentração do marcador na matéria abomasal
CMO	Consumo de matéria orgânica
CMS	Consumo de matéria seca
CNF	Carboidratos não fibrosos
CNDT	Consumo de nutrientes digestíveis totais
CO ₂	Dióxido de carbono
CPB	Consumo de proteína bruta
CV	Coefficientes de variação
DEE	Digestibilidade aparente do extrato etéreo
DFDN	Digestibilidade aparente da fibra insolúvel em detergente neutro
DIFDN	Digestibilidade intestinal da fibra insolúvel em detergente neutro
digFDN	Digestibilidade <i>in vitro</i> da fibra insolúvel em detergente neutro
digMO	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica
digMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
DIMO	Digestibilidade intestinal da matéria orgânica
DIMS	Digestibilidade intestinal da matéria seca
DIPB	Digestibilidade intestinal da proteína bruta
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
dL	Decilitro
DL ₅₀	Dose média letal
DMO	Digestibilidade aparente da matéria orgânica
DMS	Digestibilidade aparente da matéria seca
DPB	Digestibilidade aparente da proteína bruta
DRFDN	Digestibilidade ruminal da fibra insolúvel em detergente neutro
DRMO	Digestibilidade ruminal da matéria orgânica
DRMS	Digestibilidade ruminal da matéria seca
DRPB	Digestibilidade ruminal da proteína bruta
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Extrato etéreo
Eos	Eosinófilos
ESD	Extrato seco desengordurado
FDA	Fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
FDN _c	Fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas
FDN _i	Fibra em detergente neutro indigestível
FMD	Farelo de mamona destoxificado
g	Gramas
GLM	Modelo linear geral
H ₂ O	Água

Hb	Hemoglobina
HCl	Ácido clorídrico
HCM	Hemoglobina corpuscular média
Hm	Hemáceas
Ht	Hematócrito
IA	Índice de aterogenicidade
kDa	Quilodaltons
Kg	Quilograma
KOH	Hidróxido de potássio
Kp	Taxa de passagem
L	Litro
Leuc:	Leucócitos
Linf	Linfócitos
m	Metro
M	Molar
mA	Mili-ampere
mg	Miligrama
Min	Minuto
mL	Mililitro
MM	Matéria mineral
mm	Milímetro
MO	Matéria mineral
Mon	Monócitos
MS	Matéria seca
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NaOH	Hidróxido de sódio
NC	Nitrogênio consumido
NF	Nitrogênio excretado nas fezes
N-FDA	Compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro
NH ₃	Amônia não ionizada
NI	Nitrogênio indigerido
NIDA	Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
NIDN	Nitrogênio insolúvel em detergente neutro
NL	Nitrogênio excretado no leite
NMF	Nitrogênio metabólico fecal
NU	Nitrogênio excretado na urina
NUEn	Nitrogênio urinário excretado de origem endógena
NUEx	Nitrogênio urinário excretado de origem exógena
NUL	Nitrogênio ureico no leite
°C	Graus Celsius
OPAQ	Organização para Proibição de Armas Químicas
p/p	Peso por peso
p/v	Peso por volume
P	Probabilidade

PB	Proteína bruta
pH	Potencial de hidrogênio
PL	Produção de leite
PLCG	Produção de leite corrigida para 4% de gordura
Psi	Libra por polegada quadrada
PV	Peso vivo
R ²	Coefficiente de determinação
RCA I ou RCA 120	Hemaglutinina
RCA II ou RCA 60	Ricina
RNA	Ácido ribonucleico
RQ	Rendimento de queijo
SDS-PAGE	Eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecilssulfato de sódio
Seg	Segmentados
ST	Sólidos totais
Tris-HCl	Tampão contendo como base o composto tris (hidroxilamina) aminometano e como ácido o ácido clorídrico
UNIDO	<i>United Nations Industrial Development Organization</i>
V	Volts
v/v	Volume por volume
VB	Valor biológico da proteína
VCM	Volume Corpuscular Médio
W	Watts
µg	Micrograma

FARELO DE MAMONA DESTOXIFICADO NA DIETA DE CABRAS LEITEIRAS

RESUMO GERAL

Além das questões ambientais e econômicas, a produção de biocombustíveis desperta interesse pela possibilidade de geração de alimentos alternativos para a nutrição animal. A mamona, como uma dessas fontes, gera subprodutos que, pela sua toxicidade, não podem ser utilizados na ração animal sem prévia destoxificação. Objetivou-se com esse estudo destoxificar o farelo de mamona e avaliar a sua utilização na alimentação animal. O hidróxido de sódio (NaOH) foi utilizado para destoxificar o farelo de mamona. A hidrólise da ricina foi obtida quando se utilizou a proporção mínima de 1:34:84 (p/p) de NaOH:farelo:água, referente ao tratamento com 30 g de NaOH e 2500 mL de água. A confirmação da destoxificação foi realizada através da SDS-PAGE utilizando coloração de Coomassie e a coloração de nitrato de prata. Foram utilizadas 28 cabras em lactação, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado. O período experimental foi composto por 30 dias de adaptação à dieta e 5 dias para a coleta dos dados. As dietas dos animais consistiam em quatro níveis de substituição (0%, 33,3%, 66,7% e 100%) do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado (FMD) e sete repetições. Quanto ao consumo de nutrientes, a inclusão do FMD proporcionou um aumento no consumo de matéria seca, que ocorreu, provavelmente, pela redução na digestibilidade da fibra em detergente neutro e da proteína bruta. Os testes hematológicos e de bioquímica sérica comprovaram a eficácia do processo de destoxificação do farelo de mamona. A inclusão do FMD na dieta não afetou a produção ou os teores de proteína e gordura do leite, mas reduziu o teor de ácidos graxos polinsaturados. Com relação à análise sensorial, a substituição pelo FMD proporcionou uma redução no sabor estranho e característico do leite *in natura*. Assim, concluiu-se que a substituição total do farelo de soja pelo FMD com NaOH, pode ser utilizada na nutrição de cabras em lactação.

Palavras-chave: alimentos alternativos, biodiesel, manipulação dietética, modificação lipídica, óleos vegetais, ricina

DETOXIFIED CASTOR BEAN MEAL IN DAIRY GOATS NUTRITION

ABSTRACT

Beyond environmental and financial issues, the biofuels production arouses the interest for the possibility of availability of alternative food for animal nutrition. Castor bean, as one of those sources, generates byproducts that cannot be utilized in animal diets, because of its toxicity. The aim of this study was to detoxify the castor bean meal and to evaluate its utilization in animal nutrition. Sodium hydroxide (NaOH) was used to detoxify the castor bean meal. Ricin hydrolysis was obtained with a minimum proportion of 1:34:84 (p/p) of NaOH:meal:water, concerning the treatment of 30 g of NaOH diluted in 2500 mL of water. The detoxification confirmation was done by SDS-PAGE using Coomassie and silver staining. 28 lactating dairy goats were distributed in a completed randomized design. The experimental period was comprised by 30 days of adaptation and 5 days for data collection. Diets consisted in four levels of replacement (0%, 33.3%, 66.6% and 100%) of soy meal by detoxified castor bean meal (FMD) and seven replications. Considering the nutrient intake, the addition of FMD on diet provided an increase on dry matter intake caused, probably, by the reduction on neuter detergent fiber and crude protein digestibility. The results of complete blood count and liver and kidney function exams of goats proved the effectiveness of detoxification process. The inclusion of FMD on diet didn't affect yield or protein and fat milk levels, but decreased polyunsaturated fatty acids levels. With respect to sensorial evaluation, the replacement by FMD promoted a reduction on weird and characteristic flavor of *in natura* milk. Then, it was concluded that the complete replacement of soybean meal by FMD with NaOH can be utilized in nutrition of lactating dairy goat.

Keyword: alternative food, biodiesel, dietetic manipulation, lipid modification, vegetable oils, ricin

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A crescente busca por fontes renováveis de energia (como os biocombustíveis) não está relacionada somente à questão ambiental ou à busca pela não dependência de países produtores de petróleo. O crescimento da economia local proveniente do desenvolvimento da cadeia produtiva de determinadas culturas, como é o caso da mamona, também justificam as pesquisas na área. Este crescimento está diretamente relacionado ao setor produtivo primário, composto não somente pela agricultura, mas também pela produção animal, tendo como exemplo a caprinocultura, que pode ser beneficiada com os subprodutos resultantes da agroindústria.

Os caprinos constituem uma espécie de expressiva importância econômica devido a sua capacidade de adaptação às características do meio e à produção de alimentos de elevado valor biológico. A caprinocultura caracteriza-se como uma atividade sustentável, com possibilidade de rentabilidade econômica e estabilidade demográfica, o que a torna extremamente importante para as regiões áridas e semiáridas.

Considerando a produção animal na região semiárida, os subprodutos provenientes da agroindústria da mamona interessam ao setor, pela disponibilidade de fontes alimentares de baixo custo, diminuindo a dependência da importação de ingredientes onerosos de outras regiões, a exemplo do farelo de soja.

No entanto, subprodutos dessa cultura, como a torta e o farelo de mamona, possuem uma proteína tóxica que precisa ser hidrolisada para possibilitar o seu uso na alimentação animal. Vários trabalhos tem sido realizados com o intuito de destoxificar o farelo de mamona. Entretanto, métodos pouco convencionais foram utilizados e acabaram por impedir o uso dessa tecnologia por pequenos produtores, que também deveriam ser beneficiados com a cadeia produtiva da mamona. A utilização de hidróxido de sódio é uma das alternativas promissoras dentre aquelas de maior possibilidade de adoção por pequenos produtores em função do seu baixo custo e facilidade de aquisição no meio rural. Apesar do potencial já demonstrado em outros trabalhos, até o momento não foi demonstrada uma

hidrólise completa. Além disso, o produto final ainda precisa ser utilizado na alimentação animal para avaliação dos parâmetros produtivos e de segurança de uso.

Portanto, esta Tese abordará aspectos relacionados à destoxificação e uso do farelo de mamona na alimentação de caprinos. Serão abordados no primeiro capítulo, temas relacionados à mamona, incluindo as características da ricina, ricinina e aglutininas e os subprodutos da cadeia da mamona com potencial para utilização na alimentação de ruminantes, como a casca, o óleo, a torta e o farelo. Além disso, os métodos utilizados em trabalhos científicos para identificar e hidrolisar a ricina presente no farelo de mamona também serão relatados nesse capítulo.

No segundo capítulo, será descrito o experimento onde objetivou-se destoxificar o farelo de mamona por meio de hidróxido de sódio, utilizando isoladamente ou em combinação, fatores como a quantidade de hidróxido de sódio, a quantidade de água e o tempo de reação necessário para a hidrólise completa da ricina. A eficácia dos tratamentos foi confirmada através de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) utilizando duas metodologias de coloração de géis, o azul de Coomassie e o nitrato de prata. Adicionalmente, será realizada a análise do potencial de utilização do farelo de mamona destoxificado na alimentação de ruminantes, por meio da análise bromatológica e de ensaio de digestibilidade *in vitro*.

No terceiro capítulo, serão descritos e discutidos os resultados relacionados à utilização do farelo de mamona destoxificado sobre o consumo e a digestibilidade de nutrientes, o perfil metabólico e o balanço de nitrogênio.

Por fim, no quarto e último capítulo, serão apresentados os resultados obtidos a partir da inclusão de quatro níveis do farelo de mamona destoxificado na dieta de cabras em lactação, avaliando a produção e composição química do leite, o perfil de ácidos graxos e a análise sensorial.

CAPÍTULO 1

Referencial Teórico

Farelo de mamona destoxificado na dieta de cabras leiteiras

INTRODUÇÃO

A alta crescente no preço de matérias-primas de combustíveis, como o petróleo, identificada no início deste século, aliada ao aumento na preocupação com o meio ambiente, provocada, muitas vezes, pela emissão de gases oriundos da queima de combustíveis fósseis, desencadeou um forte interesse por fontes alternativas de energia.

Dentre estas, pode-se destacar a utilização dos biocombustíveis, que se faz presente nas matrizes energéticas de países de todo o mundo. A geração de energia renovável é considerada uma prioridade do governo brasileiro. Desde o ano de 2008, se tornou obrigatória a adição de 2% de biocombustível ao diesel mineral. Em 2013, esse percentual será elevado para 8% e, conseqüentemente, acarretará em maiores necessidades de pesquisas e investimentos na produção de biocombustíveis e de seus subprodutos.

Ao biodiesel, foi dada uma atenção especial, pelo seu potencial de produção de energia, como também pela possibilidade de geração de emprego e renda para pequenos agricultores necessitados de atividades rentáveis. Estes benefícios não estão ligados somente à agricultura, mas também à pecuária, que pode se beneficiar com os subprodutos resultantes do processamento da matéria-prima.

Grande parte do território semiárido apresenta limitações para o desenvolvimento da agricultura. Encontra-se nessa região, a maior população de caprinos do Brasil, altamente dependente da importação de fontes proteicas de outras regiões. Tal aspecto, em muitos casos, acaba por inviabilizar a atividade pecuária regional. A produção de caprinos deve ser trabalhada como uma atividade sustentável, com rentabilidade econômica e estabilidade demográfica, conotando a sua importância para regiões áridas e semiáridas.

O projeto de implantação do biodiesel no Brasil tem como base a utilização de oleaginosas como fonte de matéria prima. Dentre elas, destacam-se a soja na região centro-sul, o babaçu na região norte e a mamona na região nordeste. Esta última merece destaque, uma vez que sua produção está adaptada a regiões semiáridas, como o Nordeste brasileiro.

A mamona é abundante em climas tropicais e vem sendo largamente produzida. Grande interesse tem sido despertado frente a sua semente, para a extração do óleo, posteriormente utilizado nas indústrias de alimentação, têxtil, papéis, plásticos, borrachas,

farmácia, perfumaria, tintas, lubrificantes, entre outros. Após a extração do óleo, a mamona gera como subprodutos a torta e o farelo de mamona. São compostos ricos em nitrogênio e utilizados, principalmente, como fertilizantes para a agricultura. Apesar do alto valor em proteína (30 a 40%), os subprodutos da mamona possuem uma proteína tóxica, a ricina, que necessita ser hidrolisada, para possibilitar a sua utilização na dieta animal. Tal processo pode se tornar dispendioso e, então, dificultar o seu uso como fonte de alimento para os ruminantes.

Existe uma grande demanda quanto à necessidade de se obter uma técnica que neutralize o poder da ricina e permita a utilização dos subprodutos da mamona na nutrição animal, de forma a não onerar os custos de produção. A disponibilização de fontes alternativas de proteína para a alimentação animal se faz necessária, em virtude da ascensão na utilização dos produtos provenientes da soja para a alimentação humana, tornando economicamente inviável a sua utilização como fonte proteica para a nutrição de ruminantes.

Desta forma, este trabalho tem como proposta abordar os aspectos relacionados ao processo de destoxificação do farelo de mamona, com tecnologias acessíveis para a produção em pequena escala, e à sua utilização na dieta de cabras em lactação.

REVISÃO DE LITERATURA

Características da mamona

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma planta da família das euforbiáceas, de origem asiática, introduzida no Brasil pelos portugueses (BELTRÃO et al., 2003; ROCHA et al., 2003; COSTA et al., 2004; PINA et al., 2005). Devido a sua grande adaptabilidade a temperaturas compreendidas entre 20°C e 30°C e forte insolação, é encontrada em grande parte do território brasileiro. Nas regiões semiáridas do Brasil, esse vegetal ocupa um lugar especial entre as oleaginosas, sobretudo por sua tolerância à seca e sua facilidade de manejo, vantagem importante quando se trata de agricultura em exploração familiar (PINA et al., 2005).

O objetivo principal da produção de mamona é o beneficiamento das suas sementes, que possuem formatos retangulares e são claramente amarronzadas, com manchas escuras. Essas são usadas para a extração do óleo, usado, principalmente, em lubrificantes utilizados na engenharia, em automóveis de alta velocidade e em máquinas industriais (BRUGSCH, 1960).

Até a metade da década de 80, o Brasil foi o primeiro produtor mundial de mamona. A diminuição da produção brasileira ocorreu devido a uma série de fatores estruturais e conjunturais, internos e externos, que levaram à redução significativa na área plantada e no volume da produção. Por esta razão, o Brasil ocupa, atualmente, a terceira posição na escala de produção de mamona, seguindo países como a Índia e China (SANTOS, 2001). Entre os fatores mencionados, podem ser citados o uso de sementes não-melhoradas e a adoção de práticas agrícolas inadequadas (SAVY FILHO et al., 1999).

Hoje em dia, em torno de 90% da produção brasileira de mamona está concentrada na região de Irecê, no Estado da Bahia. Nesta região, iniciativas privadas (como por exemplo, a iniciativa da Indústria Bom Brasil Óleo de Mamona Ltda.) e/ou governamentais levam suporte técnico aos agricultores locais e garantem a compra de sua produção.

Ricina

A semente de mamona contém duas lectinas: a hemaglutinina (RCA I ou RCA 120) e a ricina (RCA II ou RCA 60). Ambas lectinas são glicoproteínas e têm afinidade por galactosídeos (NICOLSON e BLAUSTEIN, 1972; OLSNES e PIHL, 1972).

A ricina é uma proteína heterodimérica com massa molecular de 65 kDa. Composta por duas subunidades distintas: cadeias A e B (FULTON et al., 1986). A cadeia A é uma cadeia polipeptídica com 267 aminoácidos e peso molecular de 32 kDa, enquanto a cadeia B é um polipeptídeo de 262 aminoácidos e peso molecular de 33 kDa. Ambas as subunidades são glicosiladas e a glicosilação deve variar nas espécies de *R. communis* (FOXWELL et al., 1985).

As subunidades A e B da ricina são unidas por uma ligação dissulfídica reduzida entre a cisteína₂₅₉ da cadeia A e a cisteína₄ da cadeia B (MONTFORT et al., 1987). Estas

cadeias possuem papéis específicos que culminam em efeitos tóxicos. A cadeia B da ricina contém dois sítios de ligação com alta afinidade por resíduos de galactose, os quais se ligam a glicoproteínas e glicolípídios na parede das células eucarióticas. Facilitada pelo receptor, a ricina entra na célula eucariótica e, a partir daí, a cadeia B se dissocia da cadeia A. Nesse momento, o papel da cadeia B consiste em conseguir entrar nas células eucarióticas, enquanto a cadeia A, em virtude da atividade do seu RNA N-glicosidase, exerce a ação tóxica real.

A cadeia A inativa os ribossomos que participam do mecanismo de síntese de proteína no interior da célula. Uma única molécula de ricina A que entra no citosol pode inativar, aproximadamente, 1,7 milhões de ribossomos por minuto, provocando a morte celular (ENDO e TSURUG, 1988). A natureza catalítica da inativação do ribossomo é responsável pela alta toxicidade da ricina. No entanto, a cadeia A não é capaz de entrar na célula eucariótica sozinha (KIM et al., 2006). Sua toxicidade resulta da inibição da síntese proteica, mas outros mecanismos também são percebidos como apoptose, alteração na estrutura e função da membrana celular e liberação de mediadores de citocinas (DAY et al., 2002; MORLON-GUYOT et al., 2003).

A quantidade de ricina pode variar de acordo com a glicosilação entre plantas de diferentes espécies de mamona, bem como entre plantas da mesma espécie, como resultado da expressão multigênica. Em um levantamento realizado no banco de germoplasma dos Estados Unidos, foram detectados níveis de ricina na mamona que variavam de 1,5 a 9,7 mg/g (PINKERTON et al., 1999). As diferentes formas de ricina possuem alterações aparentes nas suas estruturas primárias, o que pode resultar em diferentes níveis de toxicidade (KUMAR et al., 2004)

A ricina purificada é um pó branco solúvel em água e estável à mudança de pH, que pode ser inativado pelo calor, em solução aquosa a 80°C, por uma hora. Na sua forma bruta, requer altas temperaturas ou longos períodos para inativação (HOLTERMANN et al., 2006). A ricina começou a ser estudada, para fins terapêuticos, na quimioterapia de câncer, no transplante de medula óssea e em pesquisas de células tronco (BIES et al., 2004). Resultados de experiências sugerem que células malignas são mais susceptíveis a intoxicação por ricina, devido a maior presença de sítios de ligação de lectina na parede

celular, em comparação às células não malignas. Antibióticos associados com doses de ricina em células cancerígenas têm sido utilizados como agentes imunoterápicos (LORD et al., 1994).

Não existe na literatura casos de envenenamento por ingestão de ricina pura. Todos os casos clínicos relacionados ao envenenamento referem-se à ingestão de mamona. A dose média letal (DL_{50}) em camundongos é de 30 mg/kg. Em casos anteriores de ingestão de mamona, a dose oral letal tinha sido estimada de 1 a 20 mg de ricina/kg de peso corporal (oito frutos, aproximadamente). No entanto, doses de ricina estimadas a partir do número de frutos ingeridos podem dar falsas estimações devido à variação no tamanho, peso e umidade dos caroços, região, estação do ano e período vegetativo da planta na época da colheita, intensidade de mastigação, idade e estado fisiológico do indivíduo (WALLER et al., 1965). Em estudos com camundongos, a ricina ingerida na dose de 1 DL_{50} foi absorvida em um período de duas horas através do sistema linfático sanguíneo, acumulando, principalmente, no fígado e baço. Após 24 horas de ingestão, foram detectadas alterações relacionadas à necrose de hepatócitos e congestão do parênquima renal (KUMAR et al., 2004).

Os primeiros sintomas de intoxicação por mamona são observados, normalmente, dentro de 4 a 6 horas, mas podem ocorrer em um período de até 10 horas. Os sinais clínicos iniciais, em humanos, não são específicos e incluem cólicas abdominais, vômito, diarreia e azia. Vômito com sangue e fezes escurecidas são sintomas menos frequentes. Dentro das anormalidades podem ser incluídas leucocitose, elevada transaminase e creatinina quinase, hiperbilirrubinemia, insuficiência renal e anemia. Alterações intestinais com lesão hemorrágica, bem como apoptose celular, são encontradas em humanos e animais após a morte (CHALLONER e MCCARRON, 1990).

Existem poucos dados publicados com contaminação de humanos por ricina, pela via parenteral. A DL_{50} em camundongos é de, aproximadamente, 5 a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (GODAL et al., 1984). Depois da injeção em ratos, a maioria da ricina foi excretada na urina, por volta de 24 horas após a injeção, com menos de 2% recuperado nas fezes (BLAKLEY et al., 1988).

Insuficiência respiratória é conhecida como a primeira causa da morbidade e mortalidade em humanos após inalação de ricina (AUDI et al., 2005). Exposição aérea de ricina pode causar, também, respostas alérgicas como reação inflamatória das vias aéreas, rinite, e irritação ocular. Vale ressaltar que as reações alérgicas causadas pela ricina foram relatadas em pessoas que trabalhavam ou moravam perto de indústrias de beneficiamento da mamona (LAYTON et al., 1962).

Deposição nos pulmões e morte após a inalação de ricina é significativamente influenciada pelo tamanho da partícula. Partículas de pequeno tamanho podem penetrar profundamente no trato respiratório resultando em alta mortalidade. Partículas de maior tamanho são, tipicamente, depositadas nas vias aéreas superiores e podem ser removidas pelo sistema muco-ciliar (ROY et al., 2003).

Considerando que a ricina pode ser isolada a partir da torta de mamona, a Organização para Proibição de Armas Químicas (OPAQ) avaliou este componente como um candidato a agente de guerra química (AGQ), durante a primeira guerra mundial. Testes foram realizados ao longo da segunda guerra mundial, mas a ricina não foi utilizada. Estudos com aerossóis demonstraram que esta toxina pode ser usada como uma eficiente arma química (OSLNES e PIHL, 1973; FULTON et al., 1986).

Aglutininas e Ricinina

A mamona possui outras lectinas glicoproteicas, como a aglutinina. Diferentemente da ricina, não é diretamente citotóxica, mas tem afinidade por células vermelhas do sangue, levando a aglutinação e, posteriormente, a hemólise. A aglutinina não é significativamente absorvida no intestino e causa problemas clínicos de hemólise, apenas quando é administrada via endovenosa (HEDGE e PODDER, 1992).

A ricinina é um alcaloide tóxico encontrado nas folhas e no pericarpo da mamona. Ainda que pequenas quantidades de ricinina sejam encontradas na planta da mamona e que esta possa ser coextraída junto com a ricina, não existem casos de envenenamento humano por ricinina (DARBY et al., 2001).

O teor de ricinina é bastante variável entre as partes da planta: 1,3% nas folhas, 0,03% no endosperma da semente e 0,15% na casca da semente. O teor de alcaloides nas

sementes é influenciado tanto por características genéticas, como por estresse ambiental, estando correlacionado negativamente com o teor de ricina nas sementes (MOSHKIN, 1986).

Em modelos experimentais com ratos, a ricinina foi responsável pela ocorrência de convulsão e morte subsequente. O mecanismo de ação é hipotético, mas pode estar relacionado com o aumento do glutamato e a inibição da pós-sinapse do receptor de ácido amino-butírico no cérebro (WALLER et al., 1965).

Subprodutos da mamona utilizados na dieta de ruminantes

O cultivo da mamona tem se intensificado e várias indústrias de extração de óleo e produção de biodiesel estão em fase de adaptação ou de construção (BELTRÃO et al., 2003). A semente de mamona é constituída, em termos médios, de 75% de amêndoa e 25% casca. Sua composição química altera de acordo com a variedade e a região de cultivo. Praticamente toda a produção da mamona é industrializada, obtendo-se como produto principal o óleo e como subprodutos a torta e o farelo de mamona (COSTA et al., 2004).

Óleo de Mamona

O teor de óleo das sementes de mamona pode variar de 35 a 55% (VIEIRA et al., 1998), mas a maior parte dos cultivares plantados comercialmente no Brasil possui teor de óleo variando entre 45% e 50% (FREIRE et al., 2006).

Ao contrário do que se pode imaginar, o óleo de mamona não possui ricina. Toda a proteína da semente permanece na torta após o processo de extração, inclusive, por se tratar de uma proteína insolúvel em óleo (SEVERINO, 2005). Assim, torna-se conveniente a utilização do óleo na alimentação de animais de produção.

Maia et al. (2009), ao avaliar as características e o rendimento de cortes da carcaça de cabritos mestiços Boer x Saanen confinados e alimentados com óleo de mamona, verificaram que a inclusão do óleo não afetou as características relacionadas ao peso corporal ao abate, peso de carcaça quente, peso de carcaça fria, paleta, pernil e lombo.

EIFERT et al. (2006) investigaram o efeito de diferentes doses de óleo de mamona sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (digMS), da matéria orgânica (digMO) e da

FDN (digFDN). Os tratamentos foram doses de 0; 1,5; 3,0; 4,5 e 6,0% de óleo de mamona na matéria seca incubada. O capim elefante foi utilizado como substrato e as incubações duraram 24 e 48 horas. O óleo de mamona reduziu a digMS e a digFDN, indicando maior efeito sobre o metabolismo da população celulolítica do rúmen, de maneira mais acentuada que o óleo de soja.

Queiroga et al. (2009), ao avaliarem o perfil de ácidos graxos do leite de cabras suplementadas com óleo de mamona, concluíram que a suplementação promoveu a elevação do teor de ácidos graxos poli-insaturados no leite, benéficos a saúde humana. No entanto, segundo Pereira et al. (2010), a adição deste mesmo óleo na alimentação de cabras leiteiras não favorece o odor e o sabor do leite, podendo torná-lo menos apreciável pelo consumidor.

Casca de Mamona

No ano de 2005, a produção estimada da casca de mamona se aproximou a 130 mil toneladas e, para cada tonelada de semente de mamona processada, são gerados 620 kg de casca (SEVERINO, 2005).

Por definição, a casca de mamona é um alimento volumoso que apresenta baixo conteúdo de proteína bruta (5 a 8%), alto teor de N-FDA (49% do N-Total) e FDN (43 a 77%). Resultados obtidos por Santos et al. (2011), que avaliaram a substituição do feno de capim-tifton pela casca de mamona na alimentação de cabras leiteiras, demonstraram uma redução linear da produção de leite com a adição da casca de mamona. No entanto, a substituição de 33% do feno de capim-tifton não diferiu do tratamento controle para animais produzindo, em torno de, 1 kg/cab/dia de leite. Neste trabalho, também foi verificado que a substituição total do feno pela casca, ainda possibilitou uma produção de leite de 0,760 kg/cab/dia.

A casca apresenta grande importância social, pelo fato de não apresentar problemas de toxidez, ao contrário da torta e do farelo da mamona, e por estar disponível na própria propriedade, quando o agricultor comercializa a semente já descascada. Desta forma, pode ser utilizada como fonte de alimento alternativo para os rebanhos predominantes na região nordeste do Brasil (SANTOS et al., 2011).

A composição química da casca de mamona é bastante variada em função, principalmente, da participação dos fragmentos de sementes, que podem atingir até 13% da composição total da casca (SANTOS et al., 2011). Neste caso, o conteúdo de óleo pode alcançar 15,48% do valor total, interferindo diretamente na composição do alimento. Altera-se não apenas o aspecto nutricional, já que este passa a ser classificado como concentrado energético, mas também o risco de intoxicação pela presença da ricina nos fragmentos de amêndoa.

A inclusão da casca de mamona em substituição ao milho na dieta de marrãs, nos níveis de 0; 33; 66 e 100%, reduziu o consumo de matéria seca de acordo com o aumento nos níveis de casca de mamona. Este efeito foi observado, provavelmente, pela influência negativa do teor de fibra sobre a digestibilidade (SANTOS et al., 2011).

Torta e Farelo de Mamona

Após a extração do óleo, o mais tradicional e importante subproduto da mamona é a torta, altamente fibrosa e proteica. Até então, a torta era utilizada, predominantemente, como fertilizante orgânico na restauração de terras esgotadas, podendo ainda ser empregada como matéria-prima para a produção de aminoácidos, plásticos (em especial, os biodegradáveis), colas, inseticidas, entre outros produtos (COSTA et al., 2004).

A torta de mamona é definida como o resíduo da extração do óleo das sementes da mamoneira, através do processo de prensagem. Possui elevado teor de proteína e, para cada 1 tonelada de óleo produzida, são geradas, aproximadamente, 1,2 toneladas de torta, correspondendo a, cerca de, 55% do peso total das sementes. Este valor pode oscilar em virtude da variedade de mamona, bem como do processo industrial utilizado para a extração do óleo (AZEVEDO e LIMA, 2001).

Devido ao elevado teor de proteína presente na torta de mamona, seu uso na alimentação animal torna-se bastante atraente. No entanto, essa torta possui toxidez elevada quando fornecida aos animais sem tratamento prévio de destoxificação. O agente causador é a ricina, uma proteína encontrada exclusivamente no endosperma das sementes de mamona, não sendo detectada em nenhuma outra parte da planta (SEVERINO, 2005).

A torta da mamona possui de 34 a 36% de proteína e pode ser considerada uma fonte proteica alternativa para a alimentação animal. No entanto, devido ao seu alto teor de ricina, é atualmente utilizada apenas como fertilizante orgânico (ANANDAN et al., 2005). Apesar do elevado teor de proteína, a torta de mamona possui em sua composição, baixos teores de triptofano e de lisina. Entretanto, animais ruminantes pouco dependem do balanço aminoacídico da ração, já que os microrganismos que participam do processo digestivo sintetizam aminoácidos essenciais. Por este motivo, a torta de mamona é uma alternativa bastante promissora para ser utilizada como alimento para os ruminantes (SEVERINO, 2005).

De acordo com Perrone et al. (1966), em citação de Severino (2005), iniciou-se na década de 60, a produção de uma torta de mamona destoxificada, denominada *Lex Proteico*, e fabricada pela Sociedade Algodoeira do Nordeste Brasileiro S.A. (SANBRA). A partir de então, algumas pesquisas foram realizadas com a utilização deste produto na alimentação animal, obtendo-se resultados satisfatórios (MIRANDA et al., 1961; MOTTOLA et al., 1971; SOUZA, 1979; BENESI, 1979; VIEIRA, 1979, citados por Severino, 2005).

Bose e Wanderley (1988) estudaram a torta de mamona destoxificada em associação ao feno de alfafa, em diferentes proporções, para alimentação de ovinos. Os autores concluíram que a adição de torta de mamona ao feno de alfafa aumenta a digestibilidade de proteínas e energia, sem qualquer relato de problemas relacionados à intoxicação dos animais.

Menezes et al. (2009) fizeram a substituição parcial do farelo de soja pela torta de mamona na dieta de ovinos e avaliaram os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes. Os valores de substituição foram 0; 15; 30 e 45% e os resultados dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes não apresentaram efeito da substituição parcial. Assim, os autores concluem que o farelo de soja pode ser substituído pela torta de mamona, nas percentagens avaliadas.

Quando a extração do óleo da mamona é realizada por meio de solvente, o produto obtido é o farelo de mamona. A principal diferença entre o farelo e a torta de mamona está

relacionada à quantidade de extrato etéreo no composto. Este último é maior na torta de mamona, devido à extração por meio de solvente ser um processo mais eficiente.

Robb et al. (1974) avaliaram a inclusão de farelo de mamona na dieta de vacas em lactação e concluíram que este ingrediente pode ser utilizado como fonte de proteína na dieta dos animais. Entretanto, pequenas quantidades de ricina foram transmitidas para o leite. Os autores ressaltam a necessidade de realização de maiores estudos para garantir a segurança do produto frente ao consumo humano.

Bose e Wanderley (1988) avaliaram a inclusão do farelo de mamona destoxificado com feno de alfafa na dieta de ovinos e concluíram que a adição de farelo de mamona aumentou a digestibilidade das proteínas e da energia, sem qualquer relato de problemas com intoxicação dos animais.

Desde então, a partir da década de 90, não foi mais possível encontrar dados de trabalhos na literatura com a utilização da torta de mamona para alimentação animal no Brasil. O motivo pelo qual a torta de mamona deixou de ser utilizada ainda não é conhecido, mas, provavelmente, ela tenha se tornado pouco competitiva em relação à torta de algodão. Esta última estava disponível no mercado em grande quantidade e apresentava um custo de produção mais baixo, já que não exigia tratamento prévio para destoxificação (SEVERINO, 2005). Somente a partir do início do século XXI, novos experimentos começaram a ser realizados avaliando a utilização subprodutos da mamona. O incentivo governamental para aumentar a produção de biocombustíveis fez com que a mamona ganhasse destaque no cenário nacional.

Avaliando a substituição de 100% do farelo de soja pelo farelo e pela torta de mamona, tratados com a cal (fonte de hidróxido de cálcio) e não tratados, Oliveira et al. (2010) não verificaram diferença no consumo e na digestibilidade dos nutrientes. Ocorreu, na verdade, um maior aproveitamento do farelo e da torta de mamona tratados, em função da hidrólise alcalina pelo hidróxido de cálcio. No entanto, existe ter a necessidade de se realizar um experimento com maior durabilidade, para avaliar a inferência da mamona na função hepática, bem como nos diversos estágios fisiológicos dos animais.

Vieira et al. (2010) avaliaram o efeito da inclusão de farelo de mamona destoxificado nas rações de ovinos mestiços da raça Morada Nova, sobre as características

de carcaça. Os animais foram mantidos confinados por 70 dias e, ao final do experimento, não foram observadas diferenças entre os tratamentos para as variáveis de peso vivo ao abate, peso de carcaça quente, peso de carcaça fria, comprimento de carcaça e grau de conformação. Como conclusão, os autores recomendam a substituição de até 40% do farelo de soja pelo farelo de mamona na dieta.

Baseado nos trabalhos relatados, a viabilidade de utilização do farelo de mamona na alimentação de ruminantes, está diretamente relacionada com a destoxificação deste material através de métodos rápidos, baratos e suficientemente eficazes.

Identificação da ricina

Dentre as técnicas utilizadas para a identificação da ricina pode-se destacar os métodos sorológicos, cromatográficos e eletroforéticos (FURTADO et al., 2011). No Brasil a metodologia mais utilizada é a de eletroforese (método SDS-PAGE) seguindo o protocolo de Anandan et al. (2005), o qual identifica-se as duas bandas da ricina baseada no peso molecular. Além da eletroforese destacam-se as técnicas de ELISA e Western Blot, com anticorpos produzidos em coelhos (FURTADO et al., 2011).

Outra proposta apresentada recentemente foi a utilização de modelos clássicos na avaliação de drogas em farmacologia. Estirpes (AB1 e N2) do nematódeo *Caenorhabditis elegans*, que têm sido utilizados na indústria farmacêutica para avaliar toxidez de medicamentos e produtos, foram utilizados para avaliação da atividade da ricina extraída da mamona. Estes nematódeos foram expostos a ricina por 18 horas em placas de petri. Os resultados demonstraram potencial para utilização deste teste de toxicidade, apresentando alta correlação entre a concentração de ricina e o percentual de nematódeos mortos (DEMANT et al., 2008).

Kim et al. (2006) e Anandan et al. (2005) trabalhando com ricina pura e com a torta de mamona, detectaram, identificaram e quantificaram a ricina através da utilização de eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE), em presença de dodecil sulfato de sódio, através da coloração de azul de Coomassie. O corante Coomassie foi originalmente introduzido para visualizar bandas de proteínas em 1963. Hoje vem sendo utilizado rotineiramente devido a sua reprodutibilidade e clareza no resultados (WANG et al., 2007).

No entanto, a utilização desse corante possui uma sensibilidade reduzida sendo capaz de detectar apenas microgramas de proteína (RABILLOUD et al., 1994).

Outra metodologia utilizada para a coloração de bandas de proteína é a coloração de prata. Este método não radioativo chega a ser 100 vezes mais sensível, se comparado a utilização de azul de Coomassie, já que o mesmo consegue detectar nanograma de proteínas (RABILLOUD, 1990; CANDIANO et al., 2004). A utilização desta metodologia na detecção de proteínas tóxicas pode ser uma ferramenta valiosa quando se trabalha com alimentos que poderão ser utilizados tanto na alimentação animal quanto na humana, devido à segurança dos resultados.

Destoxificação do farelo de mamona

Como os teores de ricina na mamona estão diretamente relacionados às variáveis genéticas das plantas, seria interessante que os estudos do melhoramento genético dessas espécies visassem a produção de genótipos com teores reduzidos ou nulos de ricina. No entanto, neste primeiro momento a redução ou a eliminação da ricina está mais dependente dos tratamentos de destoxificação dos subprodutos do que da produção de materiais com baixa concentração ou ausência da toxina.

Os tratamentos testados para destoxificação da ricina incluem desnaturação térmica, extrusão, efeito do armazenamento e tratamentos químicos, biológicos e enzimáticos (MACHADO, 2008).

Desde a década de 40, pesquisas vêm sendo realizadas para avaliar alternativas de destoxificação da mamona. A autoclavagem (associação de pressão e temperatura) foi uma das primeiras propostas tida como eficaz para a destoxificação. Após a realização destes testes, foram propostos os agentes alcalinizantes e acidificantes, como NaOH, KOH, Ca(OH)_2 , NH_3 , ureia, permanganato de potássio e a fermentação aeróbica (GARDNER et al., 1960).

Diversos trabalhos foram realizados na tentativa de transformar a torta de mamona em um produto atóxico, para que pudesse ser utilizado na nutrição animal. No entanto, mais estudos precisam ser desenvolvidos, para que esta prática se torne economicamente viável, já que os processos obtidos geralmente são onerosos e comprometem,

consequentemente, o sistema de produção. Nas tentativas de destoxificação, podem ser destacados os trabalhos realizados por Gardner et al. (1960), Perrone et al. (1966) e Freitas (1974), citados por Severino (2005), Hinkson et al. (1972), Frénoy (1986), Gandhi et al. (1994), Mackinnon e Alderton (2000) e Anandan et al. (2005). Neste último trabalho, resultados positivos foram obtidos com a autoclavagem (100% de destoxificação), cloreto de sódio (91% de destoxificação) e fervura por 30 minutos (90% de destoxificação). Estes resultados de destoxificação, apesar de parecerem satisfatórios, ainda exigem maior detalhamento para que seja comprovada a sua eficácia e seu potencial para utilização como fonte de proteína na alimentação animal.

Além da utilização de métodos individuais de destoxificação, a associação de mais de um método (como, por exemplo, a extrusão e uso de alcalinizantes) parece desencadear bons resultados. Severino (2005) comenta que, em 1985, a UNIDO (*United Nations Industrial Development Organization*), em parceria com a “*Texas A&M University*”, conduziram um grande projeto com o objetivo de tornar viável um processo industrial conjugado para destoxificação e desalergenização da torta de mamona. Tinha-se em vista a economicidade e viabilidade técnica, sem causar prejuízo significativo no valor nutricional, para ser utilizado como alimento animal. O projeto teve sucesso e, em 1988, foi apresentado um processo para produzir a torta de mamona destoxificada e livre de alérgenos. Neste processo, utilizou-se um extrusor para aumentar a temperatura e a pressão e promover um processo contínuo, sendo a torta misturada com hidróxido de cálcio e água.

A utilização de extrusoras no processo de destoxificação aparenta ser uma alternativa eficiente, no tocante à eliminação da ricina, e necessária para a produção em escala comercial. No entanto, a utilização de métodos mais acessíveis à agricultura em pequena escala é necessária para viabilização da cadeia produtiva da mamona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANANDAN, A.; KUMAR, G.K.A.; GHOSH, J.; et al. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology**. v. 120, p.159–168, 2005.
- AUDI, J.; BELSON, M.; PATEL, M.; et al. Ricin poisoning : A comprehensive review. **Journal of the American Medical Association**, v.294, p.2342-2351, 2005.
- AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001, 350p.
- BELTRÃO, N.E.M.; MELO, F.B.; CARDOSO, G.D.; et al. Mamona: Árvore do conhecimento e sistemas de produção para o semi-árido brasileiro. **Circular Técnica (Embrapa)**. v.70, 2003, 19p.
- BIES, C.; LEHR, C.M.; WOODLEY, J.F. Lectin-mediated drug targeting: history and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 425-435, 2004.
- BLAKEY, D.C.; SKILLETER, D.N.; PRICE, R.J.; et al. Comparison of the pharmacokinetics and hepatotoxic effects of saporin and ricin A-chain immunotoxins on murine liver parenchymal cells. **Cancer Research**. v. 48, p. 7072-7078, 1988.
- BOSE, M.L.V.; WANDERLEY, R.C.; Digestibilidade e balanço metabólico da fração nitrogenada do farelo de mamona desintoxicado e de feno de alfafa em ovinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.17, p.456-464, 1988.
- BRUGSCH, H.G. Toxic hazards: the castor bean. **The New England Journal of Medicine**. v. 262, p. 1039-1040, 1960.
- CANDIANO, G.; RUSCHI, M.; MUSANTE, L.; et al. Blue silver: A very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. **Electrophoresis**, v.25, p.1327-1333, 2004.
- CHALLONER, K.R.; MCCARRON, M.M. Castor bean intoxication: review of reported cases. **Annals of Emergency Medicine**. v.19, p. 1177-1193, 1990.
- COSTA, F.X.; SEVERINO, L.S.; BELTRÃO, N.E.M.; et al. Composição química da torta de mamona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1., 2004, Campina Grande. Energia e sustentabilidade - *Anais...* Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004.
- DARBY, S.M.; MILLER, M.L.; ALLEN, R.O. Forensic determination of ricin and the alkaloid marker ricinine from castor bean extracts. **Journal of Forensic Sciences**. v. 46, p. 1033-1042, 2001.

- DAY, P.J.; PINHEIRO, T.J.; ROBERTS, L.M.; et al. Binding of ricin A-chain to negatively charged phospholipid vesicles leads to protein structural changes and destabilizes the lipid bilayer. **Biochemistry**. v. 41, p. 2836-2843, 2002.
- DEMANT, C.A.R.; AULD, D.; SAN FRANCISCO, M. et al. Desenvolvimento de um bioensaio para quantificar ricina em sementes de mamona para fins de melhoramento. In: Congresso Brasileiro de Mamona, 3, **Anais...** Salvador-BA, 2008.
- EIFERT, E. da C.; SANTOS, P.P.; LEITE, L.C.L; LANA, D.P.D.; BOMFIM, M.A.D. Efeito de doses de óleo de mamona sobre a digestibilidade “in vitro” do capim elefante. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, João Pessoa-PB, **Anais...**, João Pessoa-PB, 2006 (CD ROM).
- ENDO, Y.; TSURUGI, K. The RNA N-Glycosidase Activity of Ricin A-chain. The Characteristics of the Enzymatic Activity of Ricin A-chain with Ribosomes and with rRNA. **Journal Biological Chemistry**. v. 263, p. 8735-8739, 1988.
- FOXWELL, B.M.J.; DONOVAN, T.A.; THORPE, P.E.; et. al., The Removal of Carbohydrates from Ricin with Endoglycosidases H, F, and D and alpha- mannosidase. **Biochimica Biophysica Acta**. v. 840, p. 193-203, 1985.
- FREIRE, M.M.; SOUSA, R.L.; SALDANHA, L.; MILANI, M. Avaliação da Qualidade do Óleo de Mamona de Diferentes Genótipos. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, Campina Grande, 2006. **Anais...** Campina Grande 2006.
- FRÉNOY, J.P. Effect of physical environment on the conformation of ricin: Influence of low pH. **Biochemistry Journal**. v. 240, p. 221-226, 1986.
- FULTON, R.J.; BLAKEY, D.C.; KNOWLES, P.P.; et. al., Purification of Ricin A1, A2, and B Chains and Characterization of their Toxicity. **Journal of Biological Chemistry**. v. 261, p. 5314-5319, 1986.
- FURTADO, R.F.; GUEDES, M.I.F.; ALVES, C.R.; et al. Produção de anticorpos policlonais anti-ricina. **Ciência e Agrotecnologia (UFPA)**, v.35, p.124-130, 2011.
- GANDHI, V.M.; CHERIAN, K.M.; MULKY, M.J. Detoxification of Castor Seed Meal by Interaction with Sal Seed Meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 71, p. 827-831, 1994.
- GARDNER, H.K.; D'AQUIM, E.L.; KOLTUN, S.P. Detoxification and deallergenization of castor beans. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.37, 1960
- GODAL, A.; FODSTAD, O.; INGEBRIGTSEN, K. et al. Pharmacological studies of ricin in mice and humans. **Cancer Chemotherapy Pharmacology**. v. 13, p.157-163, 1984.

- HEGDE, R.; PODDER, S.K. Studies on the variants of the protein toxins ricin and abrin. **European Journal of Biochemistry**. v. 204, p. 155-164, 1992.
- HINKSON, J.W.; ELLIGER, C.A.; FULLER, G. The Effect of Ammoniation Upon Ricinine in Castor Meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 49, p. 199-199, 1972.
- HOLTERMANN, K.; HUGHES, C.A.; ASAMOAH, S.; et al. **Response to a Ricin Incident: Guidelines for Federal, State and Local Public Health and Medical Officials**. U.S. Department of Health and Human Services, 80 p., 2006.
- KIM, S.K.; HANCOCK, D.K.; WANG, L.; et al. Methods to Characterize Ricin for the Development of Reference Materials. **Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology**. v. 111, p. 313-324, 2006.
- KUMAR, O.; NASHIKKAR, A.B.; JAYARAJ, R.; et al. Purification and Biochemical Characterization of Ricin from Castor Seeds. **Defense Science Journal**. v. 54, p. 345-351, 2004.
- LAYTON, L.L.; YAMANAKA, E.; GREEN, T.W. Multiple allergies to the pollen and seed antigens of *Ricinus communis* (castor bean). **The Journal of Allergy**. v. 33, p. 232-235, 1962.
- LORD, J.M.; ROBERTS, L.M.; ROBERTUS, J.D. Ricin: structure, mode of action, and some current applications. **The FASEB Journal**. v. 8, p. 201-208, 1994.
- MACHADO, O.L.T. Torta de mamona: Avanços no aproveitamento como alimento animal e seu manuseio seguro. Painel 1. In: Congresso Brasileiro de Mamona, 3, **Anais...**, Salvador-BA, 2008.
- MACKINNON, P.J.; ALDERTON, M.R. An investigation of the degradation of the plant toxin, ricin, by sodium hypochlorite. **Toxicon**. v. 38, p. 287-291, 2000.
- MAIA, M.O.; SUSIN, I.; PIRES, A.V.; et al. Características de carcaça de cabritos mestiços de Boer x Saanen alimentados com óleo de mamona. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 46, **Anais...** SBZ, Maringá, PR –2009.
- MENEZES, D.R.; COSTA, R.G.; ARAÚJO, G.G.L.; et al. Coeficientes de digestibilidade de nutrientes em dietas contendo torta de mamona para ovinos. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 46, **Anais...** SBZ, Maringá, PR –2009.
- MONTFORT, W. VILLAFRANCA, J. E.; MONZINGO, A.F.; et. al., The Three-dimensional Structure of Ricin at 2.8 Å. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 262, p. 5398-5403, 1987.
- MORLON-GUYOT, J.; HELMY, M.; LOMBARD-FRASCA, S.; et al. Identification of the ricin lipase site and implication in cytotoxicity. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 278, p. 17006-17011, 2003.

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

NICOLSON, G.L.; BLAUSTEIN, J. The interaction of *Ricinus Communis* agglutinin with normal and tumor cells surface. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 266, p. 543-547, 1972.

OLIVEIRA, A.S.; CAMPOS, J.M.S.; OLIVEIRA, M.R.C; et al. Nutrient digestibility, nitrogen metabolism and hepatic function of sheep fed diets containing solvent or expeller castor seed meal treated with calcium hydroxide. **Animal Feed Science and Technology**. v.158, p.15-28, 2010

OLSNES, S.; PIHL, A. Ricin – a potent inhibitor of protein synthesis. **North-Holland Publishing Company**. v. 20. p. 327-329, 1972.

OLSNES, S.; PIHL, A. Different Biological Properties of the two Constituent Peptide Chains of Ricin, a Toxic Protein Inhibiting Protein Synthesis. **Biochemistry**. v.12, p. 3121-3126, 1973.

PEREIRA, R.A.G.; OLIVEIRA, C.J.B.; MEDEIROS, A.N.; et al. Physicochemical and sensory characteristics of milk from goats supplemented with castor or licuri oil. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.456-462, 2010.

PINA, M.; SEVERINO, S.L.; BELTRÃO, N.E.M.; et al. Novas alternativas de valorização para dinamizar a cultura da mamona no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 22, n. 2, p.453-462, 2005.

PINKERTON, S.D.; ROLFE, R.; AULD, D.L.; et al. Selection of castor with divergent concentration of ricin and *Ricinus communis* agglutinin. **Crop Science**, v. 9, n. 2, p. 353-357, 1999.

QUEIROGA, R.C.R.E.; PEREIRA, R.A.G.; MEDEIROS, A.N.M; et al. Perfil de ácidos graxos do leite de cabras mestiças moxotó suplementadas com óleo de licuri ou de mamona. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 46, **Anais...** Maringá, PR –2009.

RABILLOUD, T. Mechanisms of protein silver staining in polyacrilamide gels: A 10-year synthesis. **Electrophoresis**, v.11,p.785-794, 1990.

RABILLOUD, T.; VUILLARD, L.; GILLY, C.; et al. Silver staining of proteins in polyacrilamide gels: a general overview. **Cellular and Molecular Biology**, v.40, p.57-75, 1994.

ROBB, J.G.; LABEN, R.C.; WALKER, H.G.; et al. Castor Meal in Dairy Rations. **Journal of Dairy Science**. v.57, n.4, p.443-450, 1974.

ROCHA, M.S.;OLIVEIRA, K.S.; COSTA, M.N. et al. Métodos de regeneração in vitro da mamoneira a partir de diferentes tipos de explantes. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**. v.7, p.647-652, 2003.

- ROY, C.J.; HALE, M.; HARTINGS, J.M.; et al. Impact of inhalation exposure modality and particle size on the respiratory deposition of ricin in BALB/c mice. **Inhalation Toxicology**. v. 15, p. 619-638, 2003.
- SANTOS, R.F. Análise Econômica. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p. 17-35. 2001.
- SANTOS, S.F.; BOMFIM, M.A.D.; CANDIDO, M.J.D.; et al. Efeito da inclusão da casca de mamona na dieta de cabras leiteiras sobre a produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. **Archivos de Zootecnia**, v.60, p.113-122, 2011.
- SAVY FILHO, A.; BANZATO, N. V.; BARBOSA, M. Z.; et al. **Oleaginosas no estado de São Paulo: análise e diagnóstico: mamona**. Campinas: Cati, 1999. 39 p
- SEVERINO, L.S. **O que sabemos sobre a torta de mamona**. Embrapa Algodão. Documentos, v. 134, 2005, 31p.
- VIEIRA, M.M.M; CANDIDO, M.J.D.; BOMFIM, M.A.D.; et al. Características da carcaça e dos componentes não carcaça em ovinos alimentados com rações a base de farelo de mamona. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, p.140-149, 2010.
- VIEIRA, R. de M.; LIMA, E.F.; AZEVEDO, D.M.P. de; et al. Competição de cultivares e linhagens de mamoneira no Nordeste do Brasil- 1993/96, **Comunicado técnico**, v.71, Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, b. 4p, 1998.
- WANG, X.; LI, X.; LI, Y. A modified Coomassie Brilliant Blue staining method at nanogram sensitivity compatible with proteomic analysis. **Biotechnology Letter**, v.29, p.1599-1603, 2007.
- WALLER, G.R.; TANG, M.S.; SCOTT, M.R.; et al. Metabolism of ricinine in the castor plant. **Plant Physiology**. v. 40, p. 803-807, 1965.

CAPÍTULO 2

**Hidrólise alcalina da ricina e potencial do farelo de mamona como
alimento alternativo para ruminantes**

Hidrólise alcalina da ricina e potencial do farelo de mamona como alimento alternativo para ruminantes

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da concentração do hidróxido de sódio (NaOH), do volume de água e do tempo de reação no desaparecimento da ricina presente no farelo de mamona, além de determinar seu potencial como alimento para animais ruminantes, através da análise da composição bromatológica e da digestibilidade *in vitro*. Foram realizados 20 tratamentos com interações dos fatores NaOH, água e tempo de reação. A efetividade dos tratamentos foi determinada pelo desaparecimento das bandas de ricina (PM = 32 e 33 kDa) por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) revelados pelo método de coloração de Coomassie e de nitrato de prata. A hidrólise da ricina foi obtida quando se utilizou a proporção mínima de 1:34:84 (p/p) de NaOH:farelo:água, referente ao tratamento com 30 g de NaOH diluídos em 2500 mL de água, para cada 1000 g de farelo. Houve uma redução nos teores de extrato etéreo, fibra insolúvel em detergente neutro, fibra insolúvel em detergente ácido, lignina e proteína, após o processo de destoxificação. A digestibilidade *in vitro* do farelo de mamona destoxificado foi de 557,20 g.kg⁻¹ de matéria seca, demonstrando, assim, possibilidade para ser utilizado como fonte alternativa de proteína na alimentação de animais ruminantes.

Palavras-chave: análise bromatológica, biodiesel, subprodutos, destoxificação, digestibilidade, fonte proteica

Ricin alkaline hydrolysis and potential of castor bean meal as alternative food to ruminants

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of sodium hydroxide (NaOH) concentration, water volume and reaction time on disappearance of ricin present in castor bean meal and to determine its potential use in the ruminant diets, through bromatological analysis and *in vitro* digestibility. It was performed 20 treatments with interactions of the factors NaOH, water and reaction time. The effectiveness of treatments was determined by the disappearance of ricin bands (PM = 32 and 33 kDa) through polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) revealed by Coomassie and silver staining method. Ricin hydrolysis was obtained with a minimum proportion of 1:34:84 (p/p) of NaOH:meal:water, concerning the treatment of 30 g of NaOH diluted in 2500 mL of water, for each 1000 g of castor bean meal. It was observed a decrease on ether extract, neuter detergent fiber, acid detergent fiber, lignin and protein levels, after detoxification process. *In vitro* dry matter digestibility of castor bean meal detoxified was 557.20 g.kg⁻¹, showing therefore a great potential to become an alternative protein source for ruminant nutrition.

Keywords: biodiesel, bromatological analysis, byproducts, detoxification, digestibility, protein source

INTRODUÇÃO

O cultivo da mamona (*Ricinus communis* L.) vem se desenvolvendo em regiões de aridez e semiaridez, devido ao interesse no óleo de sua semente. Como subprodutos desta extração, são gerados, principalmente, a torta e o farelo de mamona, utilizados atualmente como fertilizantes, apesar do seu potencial como alimento para animais. Embora tenha elevado teor de nitrogênio, esses subprodutos possuem uma proteína tóxica aos animais, a ricina, que impossibilita seu uso como fonte de proteína da dieta, necessitando de destoxificação prévia para viabilizar sua inclusão na alimentação animal.

A ricina é uma proteína heterodimérica com massa molecular de 65 kDa. Composta por duas subunidades distintas, a cadeia A com 267 aminoácidos e peso molecular de 32 kDa e a cadeia B com 262 aminoácidos e peso molecular de 33 kDa (KUMAR et al., 2004). São unidas por uma reduzida ligação disulfídica entre a cisteína₂₅₉ da cadeia A e a cisteína₄ da cadeia B (MONTFORT et al., 1987).

Como mecanismo de atuação, a cadeia B da ricina contém dois sítios de ligação com alta afinidade por resíduos de galactose, os quais se ligam a glicoproteínas e glicolipídios na membrana das células eucarióticas. Facilitado pelo receptor, a ricina entra na célula eucariótica e, a partir deste momento, a cadeia B se dissocia da cadeia A. O papel da cadeia B, portanto, é viabilizar entrada nas células eucarióticas. Já a cadeia A, em virtude da atividade do seu RNA N-glicosidase, exerce a ação tóxica real (KIM et al., 2006).

A cadeia A inativa os ribossomos que participam do mecanismo de síntese de proteína no interior da célula. Uma única molécula de ricina A que entra no citosol pode inativar, aproximadamente, 1,7 milhões de ribossomos por minuto, provocando a morte celular (ENDO e TSURUG, 1988). A natureza catalítica da inativação do ribossomo é responsável pela alta toxicidade da ricina. No entanto, a cadeia A não é capaz de entrar na célula eucariótica sozinha (KIM et al., 2006). Sua toxicidade resulta da inibição da síntese protéica, mas outros mecanismos também são percebidos como apoptose, alteração na estrutura e função da membrana celular e liberação de mediadores de citocinas (DAY et al., 2002; MORLON-GUYOT et al., 2003).

Devido à necessidade de disponibilizar fontes seguras de proteína alternativas para a alimentação animal, é indispensável a obtenção de um método que neutralize a ricina e possibilite a utilização do farelo de mamona na nutrição animal, de forma economicamente viável. Nos trabalhos como os de Kim et al. (2006) e Anandan et al. (2005), foram utilizados equipamentos caros, como máquinas extrusoras e autoclaves, que, em alguns casos, compromete a viabilidade do sistema de produção. Podemos citar também os trabalhos de (HINKSON et al., 1972; FRÉNOY, 1986; GANDHI et al., 1994; MACKINNON e ALDERTON, 2000; DINIZ et al., 2010).

No entanto, os resultados obtidos por Anandan et al. (2005) merecem destaque, já que a eliminação de 91% da ricina presente na torta de mamona foi obtida, através da utilização de 10 gramas de hidróxido de sódio (NaOH). Esse resultado demonstra o potencial do NaOH como agente alcalinizante, porém, existe a necessidade de se obter tecnologias que alcancem 100% de eficácia. Além de atuar na hidrólise da ricina, o NaOH pode modificar a composição bromatológica dos alimentos alterando a sua digestibilidade (EZEQUIEL et al. 2005; KATEGILE et al. 1981).

Kim et al. (2006) e Anandan et al. (2005), trabalhando com ricina pura e torta de mamona, conseguiram detectar, identificar e quantificar a ricina através da utilização de eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE), em presença de dodecil sulfato de sódio, através da coloração de Coomassie. No entanto, a utilização desse corante possui uma sensibilidade reduzida, sendo capaz de detectar apenas microgramas de proteína (RABILLOUD et al., 1994). Já a coloração de prata é um método não radioativo e chega a ser 100 vezes mais sensível se comparado ao Coomassie, pois consegue detectar nanogramas de proteínas (RABILLOUD, 1990; CANDIANO et al., 2004).

Perante o exposto, o objetivo deste trabalho foi hidrolisar a ricina presente no farelo de mamona utilizando método artesanal, através do hidróxido de sódio, identificar a eficiência da destoxificação através da eletroforese em gel de poliacrilamida com a coloração de prata e avaliar ao potencial de utilização deste farelo na dieta de ruminantes através da análise bromatológica e digestibilidade *in vitro* após a destoxificação.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e duração do experimento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos e no Laboratório de Nutrição Animal ambos da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizados em Sobral, no Sertão Cearense, a uma altitude de 83 metros acima do nível do mar, a 03° 41' 10" de latitude Sul, 40° 20' 59" de longitude Oeste e à margem da estrada Sobral-Groaíras, no km quatro. O período experimental compreendeu os meses de março de 2008 a novembro de 2008.

Tratamentos

Para a destoxificação do farelo, foram realizados 20 tratamentos, conforme descrito na Tabela 1, variando as quantidades de NaOH, de água e os tempos de reação. Para cada tratamento foram utilizados 1000 g de farelo bruto.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para destoxificação do farelo de mamona

Tratamento	Descrição*
T1	Farelo de mamona bruto (controle)
T2	Exposição ao ambiente por 48 horas
T3	Exposição ao ambiente por 72 horas
T4	300 mL de água e 48 horas de reação
T5	300 mL de água e 72 horas de reação
T6	30 g de NaOH diluídos em 300 mL de água e 48 horas de reação
T7	30 g de NaOH diluídos em 300 mL de água e 72 horas de reação
T8	45 g de NaOH diluídos em 300 mL de água e 48 horas de reação
T9	45 g de NaOH diluídos em 300 mL de água e 72 horas de reação
T10	60 g de NaOH diluídos em 300 mL de água e 48 horas de reação
T11	60 g de NaOH diluídos em 300 mL de água e 72 horas de reação
T12	2500 mL de água e 24 horas de reação (controle)
T13	10 g de NaOH diluídos em 2500 mL de água e 24 horas de reação
T14	20 g de NaOH diluídos em 2500 mL de água e 24 horas de reação
T15	30 g de NaOH diluídos em 2500 mL de água e 24 horas de reação
T16	40 g de NaOH diluídos em 2500 mL de água e 24 horas de reação
T17	30 g de NaOH diluídos em 500 mL de água e 24 horas de reação
T18	30 g de NaOH diluídos em 1000 mL de água e 24 horas de reação
T19	30 g de NaOH diluídos em 1500 mL de água e 24 horas de reação
T20	30 g de NaOH diluídos em 2000 mL de água e 24 horas de reação

*Para cada tratamento foram utilizados 1000g de farelo bruto.

Todos os tratamentos foram colocados em recipientes plásticos sem tampa e homogeneizados periodicamente durante o período de reação. Após esse período, o farelo foi colocado sobre uma lona plástica ao sol, por um período de 48 horas, sendo constantemente revolvido para a secagem de forma homogênea.

Para confirmação da destoxificação, os tratamentos foram considerados eficientes quando não foram identificadas as bandas de peso molecular equivalente a 32 e 33 kDa, correspondentes à cadeia A e cadeia B da ricina, respectivamente.

Extração das proteínas presentes no farelo de mamona

Para a extração da ricina, 250 g do farelo de cada tratamento foram diluídos em 1250 mL de água destilada e o pH ajustado em 3,8 com solução de ácido clorídrico a 1M (ANANDAN et al., 2005). Esse material permaneceu sobre agitação durante 17 horas e filtrado, em seguida. A parte retida no filtro foi diluída em 750 mL de água destilada e o pH foi novamente ajustado em 3,8 com solução de ácido clorídrico a 1 M. Após 3 horas de agitação esse material foi novamente filtrado, homogeneizado com o primeiro filtrado e liofilizado.

Identificação da ricina por eletroforese

Para analisar o perfil eletroforético das proteínas provenientes do farelo de mamona e identificação da ricina, utilizou-se aparelho de eletroforese vertical (modelo 2001 – Amsterdam – Pharmacia, Uppsala, Suécia). A SDS-PAGE foi realizada mediante géis com concentração de 5%, em tampão Tris-HCl, pH 6,8, e géis de separação com 15% de poliacrilamida, em tampão Tris-HCl, pH 8,8, contendo 0,1% de SDS a 10% (LAEMMLI e FAVRE, 1973). As amostras liofilizadas (4 mg/mL) foram dissolvidas em tampão tris HCl, pH 6,8, na presença de 0,1% de SDS e 5% de β -mercaptoetanol. Em seguida, foram aquecidas a 100°C, por 3 minutos, e um volume de 80 μ L foi, posteriormente, depositado em cada poço do gel.

A migração foi realizada a 4°C, durante 150 min, com condições elétricas de 500V, 60 mA e 30 W. O padrão de pesos moleculares utilizado para identificação das proteínas foi o Bio-Rad (Hercules, CA, USA), contendo miosina (200,0 kDa), β -galactosidase (116,2

kDa), fosforilase b (97,4 kDa), albumina sérica bovina (66,2 kDa), ovoalbumina (45,0 kDa), anidrase carbônica (31,0 kDa), inibidor de tripsina (21,5 kDa), lisozima (14,5 kDa) e apteína (6,5 kDa).

Após o término da corrida, as proteínas foram coradas por 18 horas com 0,1% (p/v) de Coomassie Brilliant Blue (R-250) e dissolvidos em 50% (v/v) de etanol e 1% de TCA. A descoloração foi realizada *overnight* com solução de 30% (v/v) de etanol e 7,5% (v/v) de ácido acético, sendo fotografado através do Benchtop UV Transilluminator M-26. Posteriormente, foram submetidos a uma nova coloração por nitrato de prata, segundo protocolo adaptado por Blum et al. (1987). Os géis foram lavados três vezes com água destilada durante 20 minutos, seguido da adição de tiosulfato de sódio 0,02% (p/v) durante um minuto e nitrato de prata 0,1% (p/v) por 30 minutos, sob agitação e ao abrigo da luz. As proteínas foram reveladas utilizando uma solução de carbonato de cálcio 12% (p/v), 40 µL de tiosulfato de sódio 2% (p/v) e 200 µL de formaldeído. A reação foi parada com solução de ácido acético 1% (v/v), quando foram fotografadas.

Digestibilidade *in vitro* dos farelos e composição bromatológica

As amostras de farelo de soja e mamona (0,5 g) foram diluídas em 40 mL de saliva artificial (solução-tampão de McDougall), em presença de CO₂, e mantidos a 39°C em banho-maria. Estabilizada a temperatura, foi adicionado o líquido ruminal de caprino, permanecendo por 48 horas, sob constante agitação. Após 48 horas de incubação, foi adicionado 6 mL de solução de HCl 20% e 2 mL de solução de pepsina a 5%, permanecendo por 46 horas, realizando em seguida a pesagem desse material (TILLEY e TERRY, 1963). A quantidade de matéria seca que desapareceu após os dois períodos de incubação foi considerada a matéria seca digerida.

As análises da composição de matéria seca (MS) e extrato etéreo (EE) foram realizadas segundo AOAC (1990). Já a matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) foram determinadas utilizando as técnicas descritas em AOAC (1998). A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina foi realizado segundo Van Soest et al. (1991). O valor da

energia dos alimentos foi estimado segundo Van Soest (1994), utilizando a equação: $NDT = DMS - cinzas + 1,25 \times (EE) + 1,9$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 corresponde às proteínas extraídas nos tratamentos T1 a T11, nos quais foram utilizados somente os tempos de reação de 48 e 72 horas, com concentrações de 30, 45 e 60 g de NaOH, diluídos em 300 mL de água, para cada 1000 g de farelo de mamona bruto.

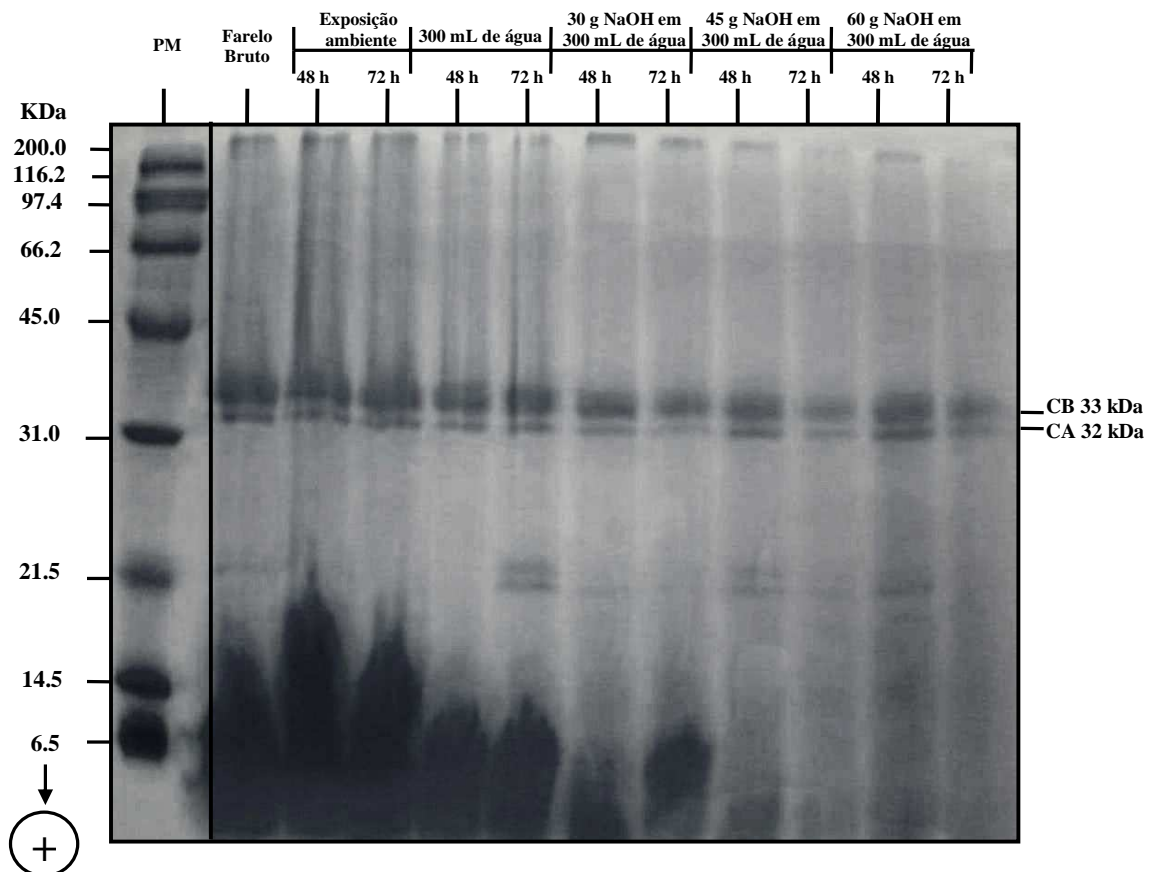


Figura 1. Eletroforese em gel de poliácridamida das proteínas procedentes de extração ácida do farelo de mamona hidrolisado, em função da concentração de NaOH e tempos de reação coradas com Coomassie. Legenda: PM (peso molecular)

Na Figura 1, as bandas de proteínas foram coradas com azul de Coomassie, coloração que é capaz de detectar microgramas de proteínas nos géis. Como demonstra a figura, ainda é perceptível a presença das duas cadeias que compõem a ricina em todos os tratamentos. Apesar de não ter havido destoxificação em nenhum dos tratamentos, pode-se verificar, um efeito do tempo, ocorrendo uma ligeira redução no tamanho das bandas de ricina, a partir do momento em que esse material fica mais tempo exposto à reação do hidróxido, como nos casos com 72 h.

Na Figura 2, estão apresentados os resultados da utilização do hidróxido de sódio nas concentrações de 0, 10, 20, 30 e 40 g, diluídos em 2500 mL de água, para cada 1000 g de farelo de mamona em gel corado com azul de Coomassie. Verificamos que na figura, as cadeias A e B da ricina desapareceram com a utilização de 20, 30 e 40 g de NaOH.

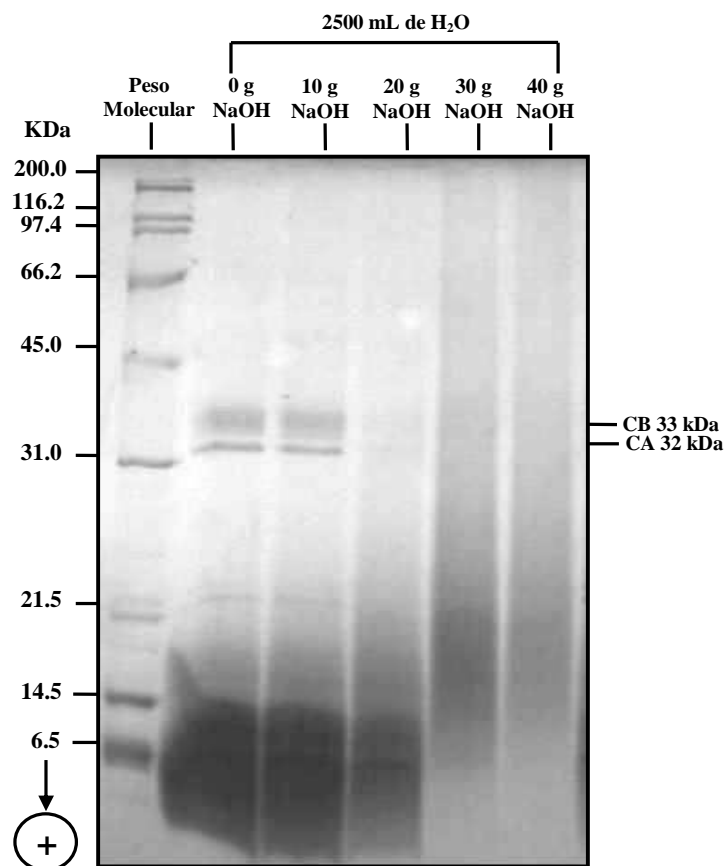


Figura 2. Eletroforese em gel de poliacrilamida das proteínas procedentes de extração ácida do farelo de mamona hidrolisado em função da quantidade de hidróxido de sódio e da quantidade de água, utilizando coloração de azul de Coomassie

Para a detecção da presença de ricina, vários pesquisadores utilizaram o método eletroforético e somente o azul de Coomassie para a coloração das proteínas, (ANANDAN et al., 2005; GANDHI et al., 1994; KIM et al., 2006; DINIZ et al. 2010; OLIVEIRA et al. 2010a). Com o objetivo de confirmar estes resultados encontrados na Figura 2, o gel foi submetido a uma coloração com nitrato de prata (Figura 3-A), onde ficou demonstrado que a utilização de 20 g de NaOH não fez desaparecer as bandas da ricina como havia sido demonstrado na Figura 2, que utilizou apenas a coloração de Coomassie. Estes resultados indicam que a coloração de prata é a mais indicada para confirmar a hidrólise da ricina devido à maior sensibilidade, já que este corante consegue detectar nanogramas de proteínas.

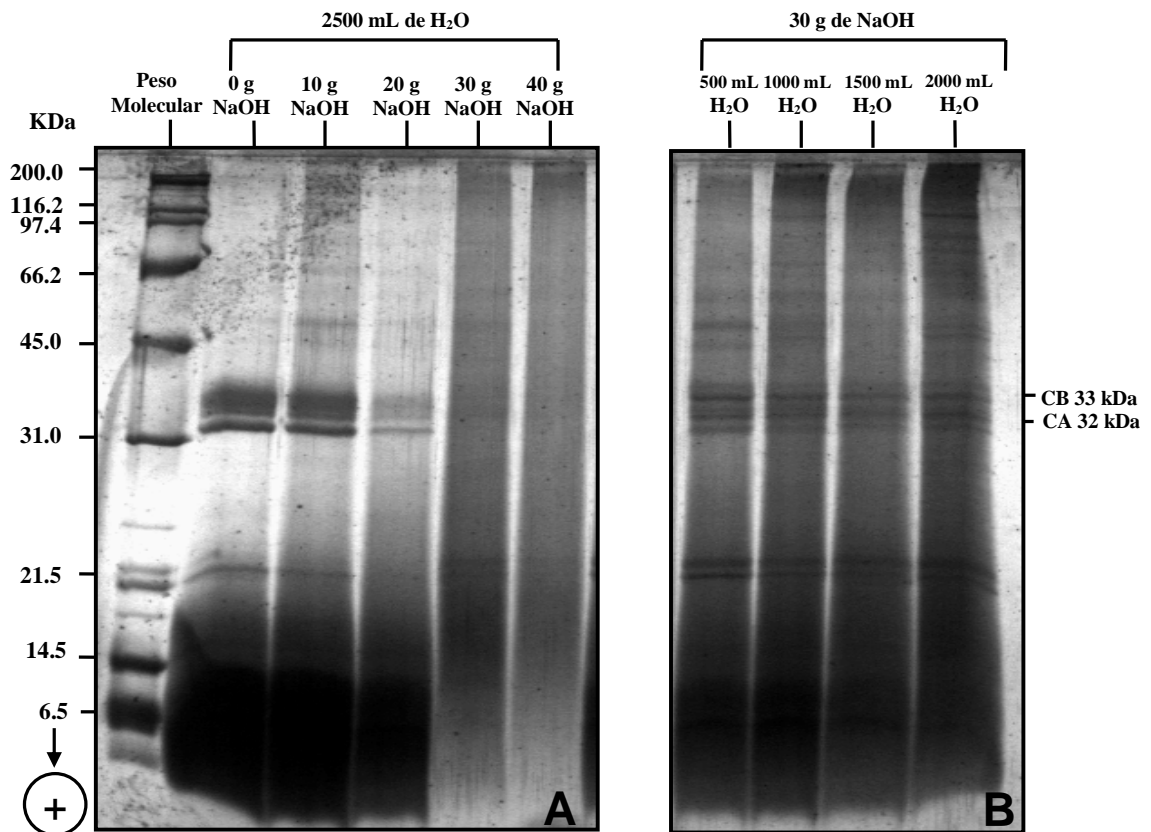


Figura 3. Eletroforese em gel de poliacrilamida das proteínas procedentes de extração ácida do farelo de mamona hidrolisado em função da quantidade de hidróxido de sódio e da quantidade de água, corado com nitrato de prata. Legenda A: Proteínas extraídas do farelo de mamona hidrolisado com 0, 10, 20, 30 e 40 g de NaOH diluídos em 2500 mL de água para cada 1000 g de farelo. B: Proteínas extraídas do farelo de mamona hidrolisado com 30 g de NaOH diluídos em 500, 1000, 1500, 2000 e 2500 mL de água para cada 1000 g de farelo.

No tratamento onde foram utilizados 20 g de hidróxido de sódio e a coloração de Coomassie (Figura 2), não foi revelada a presença de ricina. Entretanto, quando o mesmo gel foi corado com a solução de prata, as proteínas da ricina que ainda estavam presentes foram reveladas, demonstrando a fragilidade da utilização, somente, da coloração de Coomassie como forma de identificar a destoxificação do resíduo da mamona nestes experimentos. Tal achado é confirmado pelo trabalho de Diniz et al. (2010), onde demonstrou-se que, apesar da eletroforese com coloração de Coomassie apresentar o desaparecimento da ricina, 39,16 mg/kg de matéria seca (MS) de ricina foram identificadas através da análise de densitometria, no farelo tratado com a utilização de 60 g de calcário, para cada 1000 g de farelo de mamona *in natura*.

Apesar dos resultados positivos com 30 g de NaOH, ainda restava testar a hipótese de que um menor volume de água poderia ser utilizado para a destoxificação. Assim, outro experimento (Figura 3-B) foi realizado para avaliar as quantidades de 500 mL, 1000 mL, 1500 mL e 2000 mL de H₂O, para cada 1000 g de farelo de mamona. Os resultados encontrados na Figura 3-B, demonstram que a quantidade de água utilizada no processo de destoxificação é uma importante variável para o resultado final, pois, quantidade reduzida de água, como 500 mL, 1000 mL, 1500 mL e 2000 mL, com a mesma quantidade de 30 g de NaOH, para cada 1000 g de farelo, não foram suficientes para promover a hidrólise da ricina.

Fica evidente que o material deve estar bem hidratado para facilitar a penetração do NaOH na estrutura celular do farelo, possibilitando a sua atuação mais completa no processo de hidrólise da ricina. Portanto a relação mínima (p/p) para destoxificar a ricina é de 1:34:84 de NaOH:farelo:água.

Apesar de inúmeros experimentos demonstrando a toxicidade do farelo de mamona, alguns autores ainda sugerem que o processamento da semente para extração de óleo seria suficiente para eliminar a ricina do material, segundo Kim (2001). Os resultados deste trabalho rejeitam esta hipótese uma vez que no tratamento controle (farelo bruto) as bandas da proteína da ricina se fizeram presentes, na coloração de Coomassie (Figura 2) e, principalmente, na coloração de prata (Figura 3), onde as bandas apresentam-se bastante visíveis, demonstrando a necessidade de se fazer um tratamento prévio do farelo na

intenção de destoxicá-lo, para que este possa ser fornecido na alimentação animal sem o risco de acarretar problemas metabólicos para os animais.

Além do risco para animais, Oliveira et al. (2010a) avaliando o crescimento microbiano *in vitro* com a utilização de extrato de ricina, verificaram redução no crescimento microbiano e recomendaram a completa destoxificação do farelo de mamona para utilização na alimentação de ruminantes. Estes achados refutam a hipótese de que os microrganismos ruminais, por serem procarióticos, não sofrem ação da ricina e que a microbiota ruminal é capaz de desnaturar a ricina.

Alexander et al. (2008), em uma revisão sobre a presença da ricina em dietas animais como substância indesejável, concluíram que se bovinos fossem adaptados a doses moderadas de ricina, os animais poderiam tolerar concentrações relativamente altas de ricina, por um longo período. No entanto, trabalhos como o de Aslani et al. (2007) demonstraram resultados de intoxicação nos animais que consumiram subprodutos da mamona contendo ricina.

Anandan et al. (2005), estudando diferentes processos físicos e químicos na tentativa de destoxificação da torta de mamona, também verificaram que o processo de extração do óleo com a fabricação do farelo de mamona não foi eficiente para a hidrólise da ricina. Estes autores estimaram que a utilização de 10 g de hidróxido de sódio por kg de torta, diminuiu em 91% a presença da ricina nesta torta. Entretanto, os mesmos utilizaram apenas a coloração de Coomassie. No mesmo estudo, através da utilização de 40 g de calcário para cada quilo de torta ou de autoclave a 15 psi durante 60 min, estimou-se o desaparecimento de 100% da ricina. Pode-se destacar também, entre os diversos tratamentos realizados por estes pesquisadores, que a utilização do cloreto de sódio na quantidade de 20 g por quilo de torta, eliminou mais de 90% a presença da ricina. No entanto, Oliveira et al. (2010b) utilizaram uma solução a base de 40 g de Ca(OH)_2 diluídos em 10 L de água para tratar 1 kg de farelo de mamona e conseguiram eliminar, apenas, cerca de 62% da ricina presente no farelo.

Apesar de alguns trabalhos terem sido finalizados com sucesso na obtenção de um material destoxicado, geralmente, apresentam uma metodologia pouco acessível aos produtores ou economicamente inviável para a utilização na nutrição animal. No presente

estudo, observa-se a total viabilidade do processo, visto que ele pode ser realizado sem a utilização de equipamentos caros (extrusoras e autoclave) e a partir de reagentes de livre e fácil acesso no mercado, como a soda cáustica. Um processo com estas características torna a tecnologia aplicável aos pequenos produtores.

Para avaliar o possível potencial de utilização do farelo destoxificado na dieta de ruminantes, bem como as alterações ocorridas após o processo de destoxificação, foram realizadas análises bromatológicas e de digestibilidade *in vitro* da MS. Na Tabela 2, estão apresentadas a composição bromatológica e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca do farelo de mamona *in natura*, do farelo de mamona destoxificado e do farelo de soja. O farelo de soja foi utilizado como parâmetro, já que atua como o ingrediente proteico básico da dieta de ruminantes. Considerando seu elevado teor de proteína bruta e sua qualidade em aminoácidos essenciais, serviu como base para avaliar o potencial de utilização do farelo de mamona na dieta de ruminantes.

Como mostra a Tabela 2, o teor de matéria orgânica (MO) do farelo de mamona destoxificado foi menor ($864,09 \text{ g.kg}^{-1}$) do que o comparado com o farelo de mamona *in natura* ($928,00 \text{ g.kg}^{-1}$) devido, provavelmente, ao aumento na quantidade de matéria mineral (MM) adicionado pelo NaOH no farelo destoxificado. O aumento na MM pode ser explicado pela formação de sais de sódio. O sódio do NaOH pode se unir a íons provenientes do próprio farelo ou da água adicionada e formar o cloreto de sódio. Este último possui ponto de ebulição de 1465°C (LIDE, 2007) e pode estar presente no farelo destoxificado, já que a metodologia utilizada para a quantificação da MM foi descrita pela AOAC (1998), onde a temperatura máxima da mufla atinge 600°C .

Tabela 2. Composição bromatológica com base na matéria seca e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) do farelo de mamona com ricina, do farelo de mamona destoxificado com 3% de NaOH e do farelo de soja

Variáveis	Farelo de mamona com ricina	Farelo de mamona destoxificado	Farelo de soja
Matéria Seca (g.kg ⁻¹)	851,10	902,10	832,3
Matéria Orgânica (g.kg ⁻¹)	928,00	864,90	935,6
Extrato Etéreo (g.kg ⁻¹)	26,80	10,40	38,70
Matéria Mineral (g.kg ⁻¹)	72,00	135,10	64,40
Proteína Bruta (g.kg ⁻¹)	348,00	327,40	487,4
NIDN (% N Total)	17,51	10,36	7,76
NIDA (% N Total)	5,21	5,36	2,75
FDNc (g.kg ⁻¹)	477,70	413,90	142,20
FDA (g.kg ⁻¹)	414,50	390,80	91,90
Hemicelulose (g.kg ⁻¹)	63,20	23,10	50,28
Celulose (g.kg ⁻¹)	33,70	37,70	7,90
Lignina (g.kg ⁻¹)	146,80	137,20	8,90
NDT (g.kg ⁻¹)	470,10	410,50	776,40
DIVMS (g.kg ⁻¹)	483,50	557,20	894,30

NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA: nitrogênio insolúvel em detergente agido; FDNc: fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; DIVMS: digestibilidade *in vitro* da matéria seca; nutrientes digestíveis totais

Diniz et al. (2010) verificaram uma redução no teor de MO quando trabalharam com o farelo de mamona destoxificado através da hidrólise com calcário (822 g/kg MS), contra (940 g/kg MS) do farelo de soja. Mlambo et al. (2004) utilizaram 6% de hidróxido de sódio (NaOH) como alternativa para hidrólise do tanino presente no fruto *Dichrostachys cinérea* e foi detectada uma redução no teor de MO e um aumento no teor de MM do material tratado com o NaOH, em relação ao material não tratado. Ezequiel et al. (2005), trabalhando com cana-de-açúcar, também verificaram redução no teor de MO entre a cana-de-açúcar não tratada (98,8%) e tratada com NaOH (91,0%).

De acordo com a Tabela 2, observa-se uma redução no teor de proteína após o processo de destoxificação, já que a proteína bruta presente no farelo de mamona destoxificado foi de 327,4 g.kg⁻¹ e do farelo de mamona *in natura* foi de 348,0 g.kg⁻¹. Essa redução pode estar relacionada ao aquecimento proporcionado pelo hidróxido de sódio no momento em que é dissolvido na água e adicionado o farelo de mamona *in natura*. Este processo pode promover a volatilização de nitrogênio não protéico e reduzir a quantidade total de nitrogênio da amostra.

Mlambo et al. (2004) também encontraram redução no teor de nitrogênio dos frutos da *Dichrostachys cinerea* tratados com NaOH, quando comparados aos frutos sem

tratamentos. O efeito da diluição na adição da solução de NaOH foi sugerido pelos autores com a causa deste achado. No entanto, a possibilidade da lixiviação desse nutriente não pode ser mensurada.

A redução em 61,19% do extrato etéreo, do farelo de mamona bruto para o farelo de mamona destoxificado, parece ser um efeito do hidróxido de sódio na saponificação da gordura e a redução verificada nos teores de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido pode ser atribuída ao efeito do hidróxido de sódio na desestruturação da parede celular, fato este já bastante reportado na literatura. A redução em torno de 13% na quantidade de FDN do farelo de mamona tratado com NaOH, como mostra a Tabela 2, pode estar relacionada à desestruturação dos complexos ligno-celulósicos, promovendo a solubilização da hemicelulose (AL-MASRI e GUENTHER, 1999) e à expansão da celulose, facilitando o ataque de microrganismos do rúmen à parede celular (VAN SOEST, 1994). Tal efeito possibilita o melhor aproveitamento dos nutrientes pelos animais, visto que grande parte do conteúdo celular pode estar ligada à parede celular e, conseqüentemente, menos disponível para a nutrição dos ruminantes.

O aumento de mais de 15% no valor da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) no farelo de mamona tratado ($557,2 \text{ g.kg}^{-1}$), em comparação ao farelo de mamona não tratado ($483,5 \text{ g.kg}^{-1}$), confirma a ideia da maior atuação dos microrganismos do rúmen na parede celular (tabela 01). Segundo Kategile et al. (1981), a solução aquosa de NaOH pode hidrolisar os constituintes do farelo melhorando o valor nutritivo de forrageiras de baixa qualidade.

Apesar do farelo de mamona ter apresentado menor DIVMS, em relação ao farelo de soja (em função do maior teor de FDN), estes resultados foram melhores que os obtidos com outros alimentos utilizados como fonte de proteínas alternativas. O feno de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*. Wild), por exemplo, tratado com 3% de hidróxido de sódio, apresentou DIVMS de $360,7 \text{ g.kg}^{-1}$ (PEREIRA FILHO et al., 2003), ou seja, índice bastante inferior àquele observado neste estudo para o farelo de mamona destoxificado. Tem-se, neste sentido, um ingrediente alternativo de grande potencial para ser utilizado na dieta de ruminantes.

CONCLUSÕES

O hidróxido de sódio utilizado na proporção 1:34:84 de NaOH:farelo:água é eficiente no processo de destoxificação do farelo de mamona.

A coloração de prata é a mais precisa para a verificação da presença de ricina em decorrência da maior sensibilidade..

O farelo de mamona destoxificado é um alimento protéico com grande potencial como fonte de alimento alternativo para animais ruminantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-MASRI, M.R.; GUENTHER, K.D. Changes in digestibility and cell-wall constituents of some agricultural by-products and urea treatments. **Radiation Physics Chemistry**. v.55, p.324-329, 1999.

ALEXANDER, J.; BENFORD, D.; COCKBURN, A.; et al. Ricin (from *Ricinus communis*) as undesirable substances in animal feed. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. **European Food Safety Authority Journal**, v.726, p.1-38, 2008.

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

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 15 ed. Washington D.C., 1990, 1441p.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis**. 16 ed. Gaithersburg, MD, 1998.

ASLANI, M.R.; MALEKI, M.; MOHRI, M.; et al. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. **Toxicon**, v49, p. 400-406, 2007.

BLUM, H.; BEIER, H.; GROSS, H.J. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrilamide gels. **Electrophoresis**, v.8, p.93-99, 1987.

- CANDIANO, G.; RUSCHI, M.; MUSANTE, L.; et al. Blue silver: A very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. **Electrophoresis**, v.25, p.1327-1333, 2004.
- DAY, P.J.; PINHEIRO, T.J.; ROBERTS, L.M.; et al. Binding of ricin A-chain to negatively charged phospholipid vesicles leads to protein structural changes and destabilizes the lipid bilayer. **Biochemistry Journal**. v.41, p.2836-2843, 2002.
- DINIZ, L.L.; VALADARES FILHO, S.C.; CAMPOS, J.M.S.; et al. Effects of castor meal on the growth performance and carcass characteristics of beef cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**. v.23, p.1308-1318, 2010.
- ENDO, Y.; TSURUG, K. The RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. The characteristics of the enzymatic activity of ricin A-chain with ribosomes and with rRNA. **The Journal of Biological Chemistry**. v.263, p.8735-8739, 1988.
- EZEQUIEL, J.M.B.; QUEIROZ, M.A.A.; GALATI, R.L.; et al. Processamento da cana-de-açúcar: efeitos sobre a digestibilidade, o consumo e a taxa de passagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.34, p.1704-1710, 2005.
- FRÉNOY, J.P. Effect of physical environment on the conformation of ricin: Influence of low pH. **Biochemistry Journal**. v.240, p.221-226, 1986.
- GANDHI, V.M.; CHERIAN, K.M.; MULKY, M.J. Detoxification of Castor Seed Meal by Interaction with Sal Seed Meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v.71, p.827-831, 1994.
- HINKSON, J.W.; ELLIGER, C.A.; FULLER, G. The Effect of Ammoniation Upon Ricinine in Castor Meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v.49, p.196-199, 1972.
- KATEGILE, J.; URIO, N.A.; SUNDSTOL, F.; et al. Simplified method for alkali treatment of low quality roughages for use by smallholders in developing countries. **Animal Feed Science and Technology**. v.6, p.133-143, 1981.
- KIM, B.K. Effects of oil milling steps on residual toxin and antigen activities of castor bean meal. **Food Science and Biotechnology**. v.10, p.305-310, 2001.
- KIM, S.K.; HANCOCK, D.K.; WANG, L.; et al. Methods to Characterize Ricin for the Development of Reference Materials. **Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology**. v.111, p.313-324, 2006.
- KUMAR, A.B.; NASHIKKAR, R.J.; VIJAYARAGHAVAN, R. Purification and biochemical characterization of ricin from castor seeds. **Defense Science Journal**. v.54, p.345-351, 2004.

- LAEMMLI, U.K.; FAVRE, M. Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. **Journal of Molecular Biology**. v.80, p.575-599, 1973.
- LIDE, D.R. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**, Internet Version 2007, (87th Edition), <<http://www.hbcnetbase.com>>, Taylor and Francis, Boca Raton, 2007, 2388p.
- MACKINNON, P.J.; ALDERTON, M.R. An investigation of the degradation of the plant toxin, ricin, by sodium hypochlorite. **Toxicon**. v.38, p.287-291, 2000.
- MLAMBO, V.; SMITH, T.; OWEN, E.; et al. Tanniferous *Dichrostachys cinerea* fruits do not require detoxification for goat nutrition: *in sacco* and *in vivo* evaluations. **Livestock Production Science**. v.90, p.135-144, 2004.
- MONTFORT, W.; VILLAFRANCA, J.E.; MONZINGO, A.F.; et al. The Three-dimensional Structure of Ricin at 2.8 Å. **The Journal of Biological Chemistry**. v.262, p.5398-5403, 1987.
- MORLON-GUYOT, J.; HELMY, M.; LOMBARD-FRASCA, S.; et al. Identification of the ricin lipase site and implication in cytotoxicity. **The Journal of Biological Chemistry**. v.278, p.17006-17011, 2003.
- OLIVEIRA, A.S.; OLIVEIRA, M.R.C.; CAMPOS, J.M.S.; *In vitro* ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. **Animal Feed Science and Technology**, v.157, p.41-54, 2010a.
- OLIVEIRA, A.S.; CAMPOS, J.M.S.; OLIVEIRA, M.R.C.; et al. Nutrient digestibility, nitrogen metabolism and hepatic function of sheep fed diets containing solvent or expeller castor seed meal treated with calcium hydroxide. **Animal Feed Science and Technology**. v.158, p.15-28, 2010b.
- PEREIRA FILHO, J.M.; VIEIRA, E.L.; SILVA, A.M.A.; et al. Efeito do tratamento com hidróxido de sódio sobre a fração fibrosa, digestibilidade e tanino do feno de Jurema-preta (*Mimona tenuiflora*. Wild). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, p.70-76, 2003.
- RABILLOUD, T. Mechanisms of protein silver staining in polyacrilamide gels: A 10-year synthesis. **Electrophoresis**, v.11, p.785-794, 1990.
- RABILLOUD, T.; VUILLARD, L.; GILLY, C.; et al. Silver staining of proteins in polyacrylamide gels: a general overview. **Cellular and Molecular Biology**, v.40, p.57-75, 1994.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**. v.18, p.104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994, 476p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v.74, p.3583-3597, 1991.

CAPÍTULO 3

Parâmetros de digestão e balanço de nitrogênio em cabras lactantes alimentadas com diferentes níveis de farelo de mamona destoxificado

Parâmetros de digestão e balanço de nitrogênio em cabras lactantes alimentadas com diferentes níveis de farelo de mamona destoxificado

RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos com o objetivo de avaliar o efeito do farelo de mamona destoxificado (FMD) com hidróxido de sódio, na dieta de cabras em lactação. O primeiro experimento foi realizado para avaliar o consumo de matéria seca, a digestibilidade aparente dos nutrientes, o balanço de nitrogênio e os parâmetros hematológicos de 28 cabras em lactação das raças Saanen e Anglo-Nubiana, com peso vivo de 61 kg, 125 dias de lactação, 3,5 partos e produção diária de 1,78 L, em média, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado. O segundo experimento avaliou a compartimentalização da digestibilidade dos nutrientes, utilizando-se 20 cabras mestiças de Saanen em lactação. Em ambos experimentos, os animais foram divididos em quatro tratamentos com diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo FMD (0%, 33,3%, 66,7% e 100%), como variável independente. Foi verificado aumento linear ($P < 0,05$) para as variáveis consumo de matéria seca (MS) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), com a inclusão do FMD. Não houve diferença ($P < 0,05$) na digestibilidade da matéria seca. Entretanto, foi detectada redução na digestibilidade da FDN no rúmen que, mesmo compensada com maior digestibilidade pós ruminal, não foi suficiente para evitar a menor digestibilidade desta entidade nutricional. A redução ($P < 0,05$) na digestibilidade da FDN pode ter sido o fator responsável pelo maior consumo de MS e FDN ($P < 0,05$). Foi identificada redução na digestibilidade aparente da proteína bruta ($P < 0,05$), mas não foi observado efeito na digestibilidade ruminal e intestinal da proteína. Não foi verificado efeito do FMD nos parâmetros hematológicos ($P > 0,05$), exceto para monócitos. Os níveis de aspartato aminotransferase e creatinina, indicadores de lesão hepática e renal, não sofreram variação por efeito dos tratamentos, permanecendo dentro dos valores de referência. A excreção fecal de nitrogênio aumentou linearmente ($P < 0,05$) e o balanço de nitrogênio reduziu linearmente ($P < 0,05$), após a inclusão do FMD. A partir dos resultados obtidos neste experimento, conclui-se que a substituição total do

farelo de soja pelo FMD pode ser realizada sem prejuízos a produção e a saúde dos animais.

Palavras-chave: alimentos alternativos, biodiesel, bioquímica sérica, subprodutos, parâmetros hematológicos, ricina

Digestion parameters and nitrogen balance of lactating goats fed with different levels of detoxified castor bean meal

ABSTRACT

Two experiments were developed to evaluate the effect of detoxified castor bean meal (FMD) with sodium hydroxide, on the diet of lactating goats. The first one evaluated dry matter intake, nutrient apparent digestibility, nitrogen balance and hematological parameters of 28 Saanen and Anglo-Nubiana lactating goats, with 61 kg of body weight, 125 days of lactation, 3.5 births and yielding 1.078 L of milk per day, by mean, distributed in a completed randomized experimental design. The second experiment evaluated the compartmentalization of nutrient digestibility, using 20 crossbred lactating Saanen goats. On both of them, the animals were assorted in four treatments with different levels of replacement of soybean meal for FMD (0%, 33.3%, 66.7% and 100%), as an independent variable. It was observed a linearly increase ($P < 0.05$) in dry matter (MS) intake and neuter detergent fiber (FDN), after FMD inclusion. It wasn't detected difference ($P < 0.05$) between treatments for dry matter digestibility. However, it was observed a decrease on FDN rumen digestibility that, even being compensated with the higher post ruminal digestibility, it wasn't enough to avoid the lower digestibility of this nutritional entity. The reduction ($P < 0.05$) on FDN digestibility may be responsible factor for the higher dry matter and FDN intake ($P < 0.05$). Crude protein apparent digestibility decreased ($P < 0.05$), but no effect was observed for ruminal and intestinal protein digestibility. It wasn't verified effect of FMD on hematological parameters ($P > 0.05$), except for monocytes. Aspartate aminotransferase and creatinine levels, liver and kidney function indicators, didn't altered because of treatments, remained within standard values. Nitrogen fecal excretion linearly increased ($P < 0.05$) and nitrogen balance linearly decreased ($P < 0.05$), after addition of FMD. Considering the results obtained in this study, it is concluded that the replacement of soybean meal for FMD can be accomplished without any negative effect on animal production or health.

Keywords: alternative food, biodiesel, byproducts, hematological parameters, ricin, serum
biochemistry

INTRODUÇÃO

Em regiões de clima árido ou semiárido, a disponibilidade de forragens em quantidade e qualidade através do pasto somente é possível em determinados meses do ano. A necessidade de alimentar os animais durante todo o ano, faz com que os produtores utilizem grande quantidade de grãos para a nutrição animal, o que implica, além da elevação dos custos de produção, em competição direta com a alimentação humana. A introdução de alimentos não tradicionais nas dietas de ruminantes pode ser uma das alternativas, tanto para solucionar o problema da disponibilidade de alimentos, quanto para reduzir os custos com alimentação.

A utilização de fontes alternativas na alimentação de pequenos ruminantes é menos comum em sistema de produção de leite, quando comparados aos sistemas de produção de corte, o que pode estar associado ao baixo valor nutricional observado em alguns destes alimentos alternativos, em relação àqueles convencionais e à maior exigência nutricional dos animais leiteiros, em comparação aos animais destinados à produção de carne (VASTA et al., 2008).

A partir da implantação do projeto do biodiesel no Brasil, baseado na utilização do óleo de diversas fontes oleaginosas, há uma expectativa para que haja ampliação das áreas plantadas e, conseqüentemente, significativo impacto social com geração de empregos e movimentação da economia de pequenos municípios. Dentre as oleaginosas utilizadas como fontes de matéria prima, destaca-se a mamona (*Ricinus communis* L.), que exerce grande importância social no semiárido brasileiro por ser cultivada por produtores da agricultura familiar (SLUSZZ e MACHADO, 2006).

Dentre os subprodutos gerados nesta cultura, o farelo da mamona, obtido a partir da extração do óleo por processo físico e químico com solvente, consiste em uma fonte rica em proteína. Atualmente, vem sendo utilizado apenas como fertilizante, reduzindo o valor agregado do produto e a renda da cadeia produtiva. Seu alto teor protéico torna-o interessante para alimentação animal. Entretanto, a presença de princípios tóxicos e alergênicos tem tornado inviável essa alternativa. Segundo Anandan et al. (2005), das três

toxinas presentes na mamona, a ricina é a mais potente, sendo que qualquer tentativa de destoxificação de seus subprodutos deveria abordar principalmente este problema.

A ricina exerce seu mecanismo de toxidez através da inativação dos ribossomos de seres eucarióticos (SEVERINO, 2005). Baseados na hipótese de que os microrganismos ruminais, por serem procarióticos, não sofrem ação da ricina e, além disso, que a microbiota ruminal é capaz de desnaturar a ricina, Oliveira et al. (2010a) avaliaram o crescimento microbiano *in vitro* com a utilização de extrato de ricina. Os autores verificaram, no entanto, uma redução no crescimento microbiano e recomendaram, portanto, a completa destoxificação do farelo de mamona para utilização na alimentação de ruminantes.

Os resíduos da agroindústria geralmente são fontes de alimentos de baixa qualidade, devido principalmente ao seu processamento industrial. No entanto, estudos realizados com ruminantes evidenciaram altos coeficientes de digestibilidade para os nutrientes contidos nestes resíduos (MÜLLER, 1978).

É essencial que a utilização de subprodutos protéicos na alimentação animal preserve os níveis de produção, a saúde animal e a qualidade dos produtos gerados, como a carne e o leite. A realização de exames laboratoriais como método auxiliar ao diagnóstico de qualquer processo patológico derivado de processos nutricionais é importante para se estabelecer uma indicação de uso para subprodutos, como o farelo de mamona. Nos animais hígidos, existe um equilíbrio entre a entrada e a saída dos elementos que constituem o sangue. Na ocorrência de um processo mórbido, o equilíbrio existente se rompe, dando espaço a quadros hemáticos anormais, característicos de várias afecções hematológicas. Igualmente, a análise dos constituintes químicos nos fluidos orgânicos pode atuar como indicativo de alteração patológica ou da sanidade animal (BIRGEL et al., 1982).

Portanto, o objetivo deste estudo foi identificar até que nível o farelo de mamona destoxificado pode substituir o farelo de soja na dieta de cabras em lactação através do consumo, digestibilidade total e parcial dos nutrientes, balanço de nitrogênio, bem como avaliar a influência da inclusão do farelo de mamona destoxificado na saúde das cabras através da análise do hemograma e bioquímica sérica.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e duração do experimento

O presente experimento foi conduzido no Setor de Caprinocultura Leiteira e as análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada em Sobral, no Sertão Cearense, a uma altitude de 83 metros acima do nível do mar, 03° 41' 10" de latitude Sul, 40° 20' 59" de longitude Oeste e à margem da estrada Sobral-Groaíras, no km quatro. O período experimental compreendeu os meses entre dezembro de 2008 e fevereiro de 2009.

Destoxificação do farelo de mamona

O farelo de mamona *in natura* utilizado para destoxificação foi proveniente da indústria de óleo Bom-Brasil®, situada na Bahia. Para a destoxificação do farelo foram utilizados, para cada 1000 g de farelo *in natura*, 30 g de NaOH diluídos em 2500 mL de água. O período de atuação do NaOH foi de 24 horas, sendo homogeneizados periodicamente. Após o período de reação o farelo foi colocado sobre uma lona plástica ao sol por um período de 48 horas, sendo constantemente revolvido para uma secagem de forma homogênea. Depois de seco o farelo foi triturado em máquina forrageira, para permitir uma redução no tamanho do material e facilitar a sua homogeneização com os demais ingredientes da dieta. A eficácia da destoxificação foi determinada por eletroforese em SDS-PAGE através do desaparecimento das bandas de ricina, utilizando a coloração de nitrato de prata para garantir que o farelo estivesse atóxico,.

Ensaio da digestibilidade e balanço de Nitrogênio

Foram utilizadas 28 cabras em lactação, sendo 16 cabras da raça Anglo-Nubiana e 12 cabras da raça Saanen, com peso vivo médio de 61 kg. Estes animais foram confinados em baias individuais providas de comedouro, bebedouro e saleiro. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (7:00 e 15:30 h) e o ajuste de consumo voluntário foi realizado diariamente, permitindo uma sobra de 10% do total oferecido. Na Tabela 1, está descrita a composição bromatológica dos ingredientes utilizados nos tratamentos. Durante

todo o período experimental, que consistiu em 30 dias de adaptação a dieta e cinco dias para coleta de dados, os animais foram ordenhados manualmente, duas vezes ao dia (06:30 e 15:00 h).

Tabela 1. Composição bromatológica dos ingredientes com base na matéria seca

Variáveis	Milho	Farelo de Mamona Destoxificado	Farelo de Soja	Feno de Tifton
Matéria Seca (g.kg ⁻¹)	827,90	902,10	832,3	824,40
Matéria Orgânica (g.kg ⁻¹)	986,60	864,90	935,6	907,90
Extrato Etéreo (g.kg ⁻¹)	45,80	10,40	38,70	23,60
Matéria Mineral (g.kg ⁻¹)	13,40	135,10	64,40	92,10
Proteína Bruta (g.kg ⁻¹)	87,90	327,40	487,40	99,90
NIDN (% N Total)	35,50	10,36	7,76	53,34
NIDA (% N Total)	2,30	5,36	2,75	6,31
FDNc (g.kg ⁻¹)	171,10	413,90	142,20	735,20
FDA (g.kg ⁻¹)	29,00	390,80	91,90	418,10
Hemicelulose (g.kg ⁻¹)	133,20	23,10	50,28	388,90
Celulose (g.kg ⁻¹)	8,00	37,70	7,90	123,30
Lignina (g.kg ⁻¹)	12,20	137,20	8,90	97,10
NDT (g.kg ⁻¹)	742,20	410,50	776,40	340,80
CHOT (g.kg ⁻¹)	852,90	527,10	409,50	784,40
CNF (g.kg ⁻¹)	681,80	113,20	267,30	49,20

NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA: nitrogênio insolúvel em detergente ácido; FDNc: fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; CHOT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não fibrosos; NDT: Nutrientes Digestíveis Totais

Delineamento e dietas experimentais

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos de substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado (0%, 33,3%, 66,7% e 100%) e sete repetições. Os quatro tratamentos foram distribuídos de forma homogênea para que fatores como produção, raça, estágio fisiológico e número de partos não interferissem nos resultados finais. Desse modo, a produção média de leite ao início do experimento foi de $1,78 \pm 0,66$ litros/dia e a quantidade de animais da mesma raça por tratamento foi de quatro Anglo-Nubiana e três Saanen, com 125 ± 75 dias de lactação e média de $3,5 \pm 2,5$ partos. As dietas foram ajustadas seguindo as recomendações do NRC (2007) para cabras pesando 60 kg de peso vivo, produzindo 2 kg de leite. As composições percentuais e químicas dos tratamentos estão descritas na Tabela 2.

As análises da composição de matéria seca (MS) e extrato etéreo (EE) foram realizadas segundo AOAC (1990) e a matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e matéria

mineral (MM) foram determinadas utilizando as técnicas descritas em AOAC (1998). Para a fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina foi seguido o protocolo proposto por Van Soest et al. (1991). A determinação do nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foi realizada de acordo com as técnicas descritas por Licitra et al. (1996). O teor de carboidratos totais (CHOT) foi obtido pela fórmula: $CHOT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$, conforme descrito em Sniffen et al. (1992). O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) segue a diferença entre o teor de CHOT e o teor de FDNc presentes nas amostras, também proposto por Sniffen et al. (1992). O consumo de NDT foi calculado como: $CNDT = (PB_{ingerida} - PB_{fecal}) + 2,25(EE_{ingerido} - EE_{fecal}) + (CHOT_{ingerido} - CHOT_{fecal})$, onde $CHOT = 100 - (PB + EE + MM)$ conforme descrito por Sniffen et al. (1992).

O valor da energia dos alimentos foi estimado segundo Van Soest (1994), utilizando a equação: $NDT = DMS - cinzas + 1,25 \times (EE) + 1,9$, em que DMS é a digestibilidade da matéria seca, obtida como: $DMS = (100 - FDN) \times 0,98 + (FDN \times DFDN/100) - 12,8$. DFDN é a digestibilidade estimada da FDN, obtida como: $DFDN = 147,3 - 78,9 \log_{10} [(LDA/FDA) \times 100]$. Nesta equação, LDA representa o conteúdo de lignina em ácido sulfúrico do alimento.

Tabela 2. Composição percentual e química dos tratamentos com base na matéria seca

Ingredientes (%)	Níveis de substituição			
	0%	33,3%	66,7%	100%
Milho em grão	33,76	36,31	39,20	42,90
Farelo de Mamona	0,00	4,60	9,69	14,04
Farelo de Soja	12,56	8,97	5,00	0,00
Feno de Tifton	52,79	49,28	45,29	42,30
Fosfato Bicálcico	0,20	0,12	0,04	0,00
Calcário Calcítico	0,69	0,72	0,78	0,76
Composição química				
Matéria Seca (g.kg ⁻¹)	828,10	831,40	835,10	838,10
Matéria Orgânica (g.kg ⁻¹)	929,90	929,40	928,50	928,70
Extrato Etéreo (g.kg ⁻¹)	32,80	32,20	31,60	31,10
Matéria Mineral (g.kg ⁻¹)	70,10	70,60	71,50	71,90
Proteína Bruta (g.kg ⁻¹)	143,60	139,90	135,90	131,90
NDT (g.kg ⁻¹)	527,90	525,90	523,80	520,10
FDNc (g.kg ⁻¹)	463,70	456,20	447,30	442,50

FDNc: fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas

Coleta de amostras

Para determinação da digestibilidade aparente total, a produção de MS fecal foi estimada de forma indireta por meio de indicador interno. Para tanto as fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, nos cinco dias referentes à coleta de dados, em diferentes horários (0, 3, 6, 9 e 12 h após a primeira alimentação) para amostragem representativa. Foi utilizada a FDNi como marcador interno, com 240 horas de incubação *in situ* (CASALI et al., 2008).

Para determinação do balanço de nitrogênio, a produção total de urina foi estimada através da concentração de creatinina na urina. No terceiro dia de coleta, foram obtidas amostras *spot* de urina, quatro horas após a alimentação, aproximadamente, a partir de micção espontânea em bolsas de colostomia e imediatamente congeladas. Foi utilizada a concentração de creatinina urinária como marcador interno e a produção de urina foi estimada pela equação utilizada por Fonseca (2004):

$$\text{Volume urinário (L)} = \frac{26,05 \times \text{PV (kg)}}{\text{Concentração creatinina na amostra } spot \text{ (mg.L}^{-1}\text{)}}$$

Os teores de nitrogênio consumido (NC), nitrogênio excretado nas fezes (NF), nitrogênio excretado na urina (NU) e nitrogênio excretado no leite (NL) foram determinados através da técnica de micro Kjeldahl (AOAC, 1998). A partir destes dados foram estimados, segundo as equações propostas por Moore et al. (2004) e Luo et al. (2004), como segue: nitrogênio metabólico fecal (NMF = 0,0267 x CMS/6,25); nitrogênio indigerido (NI = NF - NMF); nitrogênio urinário excretado de origem endógena (NUEn = 0,165xPV); nitrogênio urinário excretado de origem exógena (NUEx = NU - NUEn); balanço de nitrogênio (BN = NC - [NI + NUEx]) e valor biológico da proteína (VB = [(NC - (NF - NMF) - (NU - NUEn)]/[(NC - (NF - NMF)] x 100).

Para determinação do pH do rúmen, foram coletadas amostras de fluido ruminal através de sonda esofágica, no período de 0, 6 e 12 h após o fornecimento da ração. O pH foi medido imediatamente após a coleta do material, em potenciômetro digital.

Para realização do hemograma foram colhidas amostras de sangue, antes da primeira refeição diária, através da punção da veia jugular, utilizando-se o sistema de vacutainer, em tubos de 5 mL contendo anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), ao final do período experimental. O exame hematológico, seguindo metodologia descrita por Coles (1993), consistiu na determinação dos seguintes parâmetros: volume globular (método do microhematócrito), hemáceas, hemoglobina (método da cianometahemoglobina), volume globular médio, concentração hemoglobínica globular média, hemoglobina globular média, contagem total de leucócitos (método de hemocítmetro) e contagem diferencial de leucócitos, os quais foram classificados como neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, eosinófilos, linfócitos e monócitos (esfregaço sanguíneo corado com soluções de azobenzenosulfônicos a 0,1%, ciclohexadienos a 0,1% e fenotiazinas a 0,1%). A determinação da atividade enzimática da aspartato aminotransferase, assim como a quantificação da uréia, creatinina e glicose no sangue foram realizadas através do método colorimétrico (Kit Lab Test®). Para obtenção do soro, foi realizada punção da veia jugular, através do sistema vacutainer, em tubos de 10 mL sem anticoagulante e centrifugação das amostras a 3000 rpm por 10 minutos.

Compartimentalização da digestão, fluxo e taxa de passagem

Para as análises de compartimentalização, fluxo e taxa de passagem, foram utilizadas 20 cabras mestiças de Saanen em lactação com produção diária média de 1,1 kg sendo cinco cabras por tratamento. Após o período de adaptação que durou 30 dias os animais foram abatidos em diferentes horários (0; 4; 8 e 12 h após a primeira alimentação), para a pesagem e amostragem dos conteúdos do rúmen-retículo, omaso e abomaso.

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, em diferentes horários (0, 3, 6, 9 e 12 h após a primeira alimentação) para amostragem representativa, para a estimativa da digestibilidade total dos nutrientes.

O conteúdo do rúmen-retículo foi todo retirado e separado em tela com malha de 1mm, em fração sólida e fração líquida. Após a separação, cada fração foi pesada individualmente e em seguida foi feita uma reconstituição do material ruminal preservando

a mesma proporção obtida, de forma a coletar 600 g do material ruminal (líquido + sólido), com a mais fidedigna representatividade do conteúdo ruminal, que foi posteriormente congelado. O conteúdo do omaso e abomaso foram coletados integralmente, armazenados em potes e congelados para análise bromatológica. Cada compartimento teve a sua composição determinada em MS, PB, EE e FDN e FDNi.

Para a determinação da taxa de passagem e do fluxo dos nutrientes para o abomaso, foi utilizada a fibra em detergente neutro indigerível (FDNi) como marcador interno, com 240 horas de incubação *in situ*, segundo técnica descrita por Casali et al., (2008)

O fluxo de matéria seca foi calculado como: Fluxo = CDFDNi x 100/CMA, em que CDFDNi é o consumo diário em (g/dia) do FDNi e CMA é a concentração do FDNi na matéria abomasal em porcentagem (%).

A taxa de passagem foi estimada a partir do quociente entre a massa ruminal e o fluxo abomasal diário do indicador FDNi (FAICHEY, 1993).

Análise Estatística

Os dados de consumo e digestibilidade dos nutrientes, bioquímica do sangue e balanço de nitrogênio foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA), teste de comparação de médias e análise de regressão. Para comparar as médias, foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Os tratamentos foram ainda desdobrados, onde a escolha dos modelos linear ou quadrático baseou-se na significância dos respectivos coeficientes de probabilidade. Os dados de pH ruminal foram analisados em esquema de parcelas subdivididas, tendo na parcela os tratamentos e nas subparcelas o tempo de coleta. Como ferramenta de auxílio às análises estatísticas, foram utilizados os procedimentos GLM do programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 1996) e o Microsoft® Office Excel® 2007.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do consumo e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes estão descritos na Tabela 3. O consumo de matéria seca ($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$) foi influenciado ($P < 0,05$) pelos tratamentos, apresentando um aumento linear ($\hat{Y} = 73,90 + 0,123\text{FMD}$) com a inclusão de farelo de mamona destoxificado. Esse aumento pode ter ocorrido em função da redução linear ($P < 0,05$) da digestibilidade de alguns nutrientes como a proteína bruta e a fibra em detergente neutro, fazendo com que os animais aumentassem o consumo de matéria seca na busca de atender as suas exigências fisiológicas, já que a fibra não estava atuando como fator físico para a distensão do rúmen o que limitaria o consumo. Isso foi verificado através dos resultados de consumo de energia que não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 3. Médias, equações de regressão e coeficientes de variação (CV) para consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes das dietas contendo farelo de mamona destoxificado (FMD) em substituição ao farelo de soja

Variável	Níveis de substituição				Pr > F		R ²	CV(%)
	0%	33,3%	66,6%	100%	L	Q		
CMS ($\text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$)	1,43b	1,42b	1,72a	1,66ab	0,003	0,69	0,66	11,10
CMS (%PV)	2,75b	2,74b	3,29a	3,10ab	0,01	0,49	0,57	11,97
CMS ($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$)	74,55b	74,03b	88,13a	83,56ab	0,01	0,54	0,59	10,98
CPB ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$)	218,51	212,92	221,60	210,26	0,74	0,79	-	13,26
CPB ($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$)	11,46	10,62	11,80	10,74	0,68	0,82	-	12,43
CEE ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$)	53,14ab	49,36b	57,59a	56,11a	0,03	0,50	0,37	8,34
CEE ($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$)	2,73	2,65	2,89	2,74	0,51	0,67	-	8,40
CMO ($\text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$)	1,36b	1,32b	1,60a	1,59a	0,001	0,84	0,72	10,00
CMO ($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$)	68,45b	68,71b	80,55a	77,80ab	0,006	0,61	0,69	10,51
CFDN ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$)	689,21bc	647,59c	766,33a	730,71ab	0,002	0,85	0,37	5,99
CFDN ($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$)	36,54b	31,64c	40,58a	37,99ab	0,005	0,24	0,21	6,92
CFDN (%PV)	1,37	1,30	1,48	1,38	0,39	0,82	-	10,03
CNDT ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$)	972,65	947,65	989,23	1.021,86	0,25	0,47	-	15,21
CNDT ($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$)	47,37	49,79	52,95	51,69	0,17	0,35	-	7,80
DMS ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	644,32	657,04	640,28	622,24	0,12	0,20	-	4,77
DMO ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	672,84	678,86	663,57	639,10	0,06	0,24	-	5,06
DPB ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	680,79a	671,92a	648,57a	580,94b	0,001	0,09	0,85	6,90
DFDN ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	621,84a	585,28b	547,58c	507,49d	0,001	0,84	0,99	3,93

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

CMS = consumo de matéria seca; CPB = consumo de proteína bruta; CEE = Consumo de extrato etéreo; CMO = consumo de matéria orgânica; CFDN = Consumo de fibra insolúvel em detergente neutro; CNDT = consumo de nutrientes digestíveis totais DMS = digestibilidade aparente da matéria seca; DMO: Digestibilidade aparente da matéria orgânica; DPB = digestibilidade aparente da proteína bruta; DEE = digestibilidade aparente do extrato etéreo; DFDN = digestibilidade aparente do FDN; ns = não significativo

Para Mertens (1994) em dietas de alto conteúdo de FDN, o animal tem seu consumo limitado pela capacidade física do rúmen-retículo. No entanto, a relação de ingestão de MS com o conteúdo de FDN da ração pode ser interpretada com sendo quadrática, indicando a existência de um ponto de transição entre os controles físico e fisiológico, em que o efeito da repleção causado pela presença de fibra sobre a ingestão cessa, ocorrendo então o controle do consumo pela ingestão de energia (BULL et al., 1976).

O consumo de FDN($\text{g} \cdot (\text{kgPV}^{0,75})^{-1}$) também foi influenciado ($P < 0,05$) linearmente ($\hat{Y} = 34,69 + 0,039\text{FMD}$) com a inclusão do FMD. Foi verificada diminuição linear ($P < 0,05$) na digestibilidade ($\hat{Y} = 622,64 - 1,142\text{FMD}$) dessa fibra em detergente neutro com a substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona. Essa diminuição na digestibilidade pode ser devido ao elevado teor de fibra em detergente ácido e de lignina presente no farelo de mamona, bem como, à presença de fragmentos de casca de mamona que possui uma fibra de baixa qualidade se comparado com o feno de tifton, como foi comprovado em trabalho de Santos et al. (2011). Trabalhos como o de Kategile et al. (1981) mostram que a adição de agentes alcalinizantes melhora o valor nutritivo de forrageiras de baixa qualidade, principalmente devido à remoção de ligações tipo ésteres entre lignina e hemicelulose, tornando a hemicelulose e parte da lignina solúveis. No entanto, no presente experimento não foi verificado esse efeito, já que este trabalho utiliza plantas dicotiledôneas que possuem essas ligações tipo ésteres em minoria (VAN SOEST, 1994).

O valor observado para a ingestão de FDN (1,38% do PV) encontra-se acima valor de 1,2% recomendado pelo NRC (1989) para bovinos em lactação. No entanto, para caprinos estes valores não estão bem definidos, face às diferenças no comportamento ingestivo e na capacidade de processamento da fibra no trato gastrointestinal (CARVALHO et al., 2006). Segundo Carvalho et al., (2006) trabalhando com cabras em lactação, verificaram um aumento crescente ($P < 0,05$) no consumo de FDN com o incremento de FDN na dieta, não se observando, portanto, capacidade máxima de ingestão de fibras, já que as cabras chegaram a consumir até 1,93% do seu PV de FDN.

Outro nutriente que teve a sua digestibilidade afetada foi a proteína ($\hat{Y} = 693,98 - 0,969\text{FMD}$), que reduziu linearmente ($P < 0,05$) com a substituição do farelo de soja pelo de mamona destoxificado. Essa redução se deve a grande concentração de proteína ligada à fibra em detergente ácido presente no farelo de mamona que foi 94% maior do que no farelo de soja. Além disso, o agente alcalinizante atua na mudança de estrutura das proteínas causada pelo processo de desnaturação, favorecendo a redução das frações protéicas solúveis, o que acaba refletindo na digestão do material (NRC, 2001).

Na Tabela 4 estão apresentados os efeitos da substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado sobre o coeficiente de digestibilidade total e parcial dos nutrientes.

Tabela 4. Digestibilidade total, ruminal e intestinal da matéria seca e nutrientes, em função da substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado.

Variável	Nível de substituição				Pr > F		R ²	CV(%)
	0%	33,3%	66,7%	100%	L	Q		
Digestibilidade aparente total								
DMS (g.kg ⁻¹)	660,98	626,49	652,69	621,64	Ns	Ns	-	5,70
DMO (g.kg ⁻¹)	689,46	655,21	691,91	658,57	0,46	0,93	-	4,81
DPB (g.kg ⁻¹)	685,95a	655,04ab	642,00ab	619,66b	0,004	0,75	0,97	4,62
DFDN (g.kg ⁻¹)	633,95a	574,23b	573,33b	528,51b	0,001	0,43	0,90	3,75
Digestão ruminal								
DRMS (g.kg ⁻¹)	914,78	928,43	900,90	909,65	0,33	0,77	-	2,30
DRMO (g.kg ⁻¹)	641,21	627,89	654,78	603,56	0,41	0,36	-	6,71
DRPB (g.kg ⁻¹)	583,88	539,43	544,12	577,66	0,81	0,13	-	9,62
DRFDN (g.kg ⁻¹)	643,90a	590,78ab	610,10a	532,99b	0,001	0,37	0,76	5,24
Digestão intestinal								
DIMS (g.kg ⁻¹)	85,22	71,57	99,10	90,35	0,32	0,76	-	24,37
DIMO (g.kg ⁻¹)	358,79	372,11	345,22	396,44	0,41	0,37	-	11,59
DIPB (g.kg ⁻¹)	416,12	487,92	455,88	422,34	0,99	0,09	-	13,98
DIFDN (g.kg ⁻¹)	356,10c	407,22b	402,86b	484,94a	0,001	0,14	0,85	4,97
Fluxo MS (g.d ⁻¹)	492,06b	582,98ab	572,19ab	702,12a	0,04	0,63	0,85	13,99
Fluxo PB (g.d ⁻¹)	71,45b	89,91a	86,35a	90,25a	0,02	0,70	0,59	5,39
Fluxo FDN (g.d ⁻¹)	215,46c	279,08b	308,40ab	360,71a	0,001	0,85	0,98	9,69
kp (%.h ⁻¹)	4,06b	4,15b	4,87a	4,93a	0,001	0,72	0,87	7,01

Valores com letras diferentes, na linha, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

DMS: Digestibilidade aparente da matéria seca; DMO: Digestibilidade aparente da matéria orgânica; DPB: Digestibilidade aparente da proteína bruta; DFDN: Digestibilidade aparente da fibra insolúvel em detergente neutro; DRMS: Digestibilidade ruminal da matéria seca; DRMO: Digestibilidade ruminal da matéria orgânica; DRPB: Digestibilidade ruminal da proteína bruta; DRFDN: Digestibilidade ruminal da fibra insolúvel em detergente neutro; DIMS: Digestibilidade intestinal da matéria seca; DIMO: Digestibilidade intestinal da matéria orgânica; DIPB: Digestibilidade intestinal da proteína bruta; DIFDN: Digestibilidade intestinal da fibra insolúvel em detergente neutro; kp: taxa de passagem

Apesar do aumento ($\hat{Y} = 355,48 + 1,15\text{FMD}$) linear ($P < 0,05$) na digestão intestinal da FDN com a inclusão do farelo de mamona, esse aumento não foi capaz de compensar a redução ($P < 0,05$) na digestão ruminal ($\hat{Y} = 641,43 - 0,9\text{FMD}$) da FDN, acarretando na redução total da FDN ($\hat{Y} = 625,07 - 0,95\text{FMD}$) como mostra a tabela 04.

Houve redução ($P < 0,05$) na degradação total da proteína ($\hat{Y} = 682,44 - 0,64\text{FMD}$), sem alterar ($P > 0,05$) a digestibilidade ruminal e intestinal da proteína. O que influenciou esse resultado foi o aumento ($P < 0,05$) no nitrogênio metabólico fecal, além do que, com o aumento ($P < 0,05$) na digestão intestinal da FDN mais células microbianas são sintetizadas no intestino grosso aumentando a excreção metabólica e reduzindo a digestão aparente.

Essa redução ($P < 0,05$) na digestibilidade da FDN expressa à qualidade da fibra presente nas dietas com farelo de mamona. Apesar de não ter sido realizada análise de cutina neste experimento, Oliveira et al. (2010b) que trabalharam com farelo de mamona na dieta de ovinos, encontraram um elevado teor de cutina na FDN do farelo de mamona. A cutina é a fração da lignina, presente na epiderme dos tecidos das plantas, o que confere proteção superficial, com isso apresenta-se como uma barreira ao ataque de microrganismos ruminais reduzindo a degradação (VAN SOEST, 1994). A presença da cutina pode ser confirmada pela grande presença de casca de mamona no farelo utilizado neste experimento.

Os dados referentes ao fluxo de matéria seca ($\hat{Y} = 494,47 + 1,85\text{FMD}$), proteína bruta ($\hat{Y} = 76,57 + 0,16\text{FMD}$), FDN ($\hat{Y} = 221,17 + 1,39\text{FMD}$) e a taxa de passagem ($\hat{Y} = 4,00 + 0,01\text{FMD}$) aumentaram linearmente ($P < 0,05$) em função da inclusão do farelo de mamona. Esse aumento pode ser explicado pela redução na digestibilidade da FDN e pelo aumento do consumo de matéria seca como consequência de atender as exigências dos animais. De acordo com Van Soest et al. (1998), caprinos apresentam tempo de retenção de partículas no rúmen menor que o de bovinos, o que pode determinar maior capacidade de ingestão.

A partir da análise dos resultados do hemograma (Tabela 5) e da bioquímica sérica (Tabela 6) dos animais, observa-se que o farelo de mamona destoxificado não desencadeou nenhum tipo de alteração patológica nos animais experimentais, já que não foi detectada diferença estatística significativa entre o grupo controle (sem a adição de farelo de

mamona) e os grupos com a substituição do farelo de soja pelo de mamona, em nenhum parâmetro avaliado, com exceção dos valores de monócitos. Vale ressaltar que este último achado não possui significado clínico, já que os valores destas células encontram-se dentro dos parâmetros de normalidade e que baixos números de monócitos são normalmente observados. Esse resultado pode ser confirmado pelo número de leucócitos totais que se encontra dentro dos padrões normais para a espécie, confirmando a ausência de alterações significativas no leucograma.

Tabela 5. Valores médios e desvios-padrões das variáveis analisadas do hemograma de cabras recebendo diferentes níveis de farelo de mamona em substituição ao farelo de soja

Variável	Nível de substituição				CV(%)	Valores de Referência*
	0%	33,3%	66,7%	100%		
Ht (%)	25,57±3,95	25,71±3,99	25,29±2,81	25,14±0,90	12,47	22 a 38
Hm(x10 ⁶ /μL)	9,25±1,28	9,87±2,18	9,58±2,09	9,20±0,74	17,74	8 a 18
Hb (g/dL)	9,67±1,36	9,49±1,49	9,37±0,94	9,51±0,46	11,96	8 a 12
VCM (fL)	29,49±3,25	26,47±3,23	26,89±2,96	27,81±1,83	10,39	16 a 25
HCM (pg)	11,20±1,54	9,80±1,77	10,41±0,67	10,51±0,87	12,34	5,2 a 8,0
CHCM (g/dL)	37,89±1,24	36,89±2,32	37,10±2,16	37,89±1,69	5,07	30 a 36
Leuc (μL)	7890±1180	9290±3160	7720±2760	8200±1290	27,46	4000 a 13000
Seg (μL)	3862,9±1392,9	4442,8±1579,2	3313,0±867,0	3886,7±1450,0	34,82	1200 a 7200
Bast (μL)	0,00±0,00	18,64±49,32	35,07±50,22	25,93±44,51	209,13	Raros
Eos (μL)	256,61±172,15	274,23±192,33	228,6±137,00	253,00±63,40	59,07	50 a 650
Linf (μL)	3724,1±802,1	3526,3±811,6	2789,7±717,7	3996,7±1379,9	27,48	2000 a 9000
Mon (μL)	461,1±163,5a	553,6±153,7a	192,4±69,8b	557,7±108,5a	28,68	0 a 550

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que existe diferença estatística significativa entre os valores, a 5% de significância, pelo teste de Tukey;

Ht: hematócrito; Hm: Hemáceas; Hb: Hemoglobina; VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média; Leuc: Leucócitos; Seg: Segmentados; Bast: Bastonetes; Eos: Eosinófilos; Linf: linfócitos; Mon: Monócitos

*Fonte: Aiello (2001)

Com relação aos dados hematimétricos, a normalidade dos valores de hematócrito, hemáceas e hemoglobina demonstram ausência de sinais de anemia decorrente de hemorragia, geralmente observada nos casos de intoxicação pela ricina (TÁVORA, 1982). Os valores de VCM, HCM e CHCM encontram-se discretamente aumentados, de acordo com os padrões de referência para a espécie caprina, apesar de não existir diferença estatística significativa entre os grupos tratados. Tal elevação parece estar mais relacionada à inadequação dos valores de referência para as condições nacionais de criação, raça, sexo e idade dos animais, ao invés de um real indicativo de alteração patológica. Segundo Birgel

et al. (1982), os valores padrões de CHCM, para animais da raça Anglo-Nubiana criados no Estado de São Paulo, estão situados entre 26,6 e 36,8; ou seja, maior amplitude de variação é citada como referência do mesmo parâmetro quando são consideradas raça e condições de criação específicas. Além disso, esta suposição também é baseada no enquadramento dos valores de hemáceas, hematócrito e hemoglobina dentro dos padrões normais, como discutido anteriormente, confirmando a inexistência de anemia ou de policitemia.

Tabela 6. Valores médios e desvios-padrões das variáveis analisadas na bioquímica sérica dos animais recebendo diferentes níveis de farelo de mamona em substituição ao farelo de soja

Variável	Nível de substituição				CV (%)	Valores de Referência*
	0%	33,3%	66,7%	100%		
AST (u/L)	50,74±21,06	52,91±13,78	58,56±16,41	52,91±16,09	9,53	66 a 230
NUS (mg/dL)	39,31±4,13a	36,11±8,57ab	35,12±5,93ab	30,89±6,31b	14,31	12,6 a 25,8
Creat (mg/dL)	0,86±0,25	0,75±0,20	0,66±0,09	0,79±0,13	23,11	0,7 a 1,5
Glic (mg/dL)	34,68±6,31	35,30±5,42	35,36±7,52	38,02±5,97	13,93	48,2 a 76,0

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam que existe diferença estatística significativa entre os valores, a 5% de significância, pelo teste de Tukey;

AST: Aspartato aminotransferase; creat: creatinina; NUS: nitrogênio uréico no soro; Glic: glicose

*Fonte: Aiello (2001)

A avaliação da atividade sérica da AST revelou que, além de não existir diferença estatística significativa entre os quatro tratamentos, os valores mantiveram-se abaixo dos padrões de normalidade para a espécie. Esses valores abaixo dos valores de referência, pode ser um significativo de desapropriação dos valores de referência para as condições dos nossos animais. A elevação nos valores de atividade enzimática da AST é um bom indicativo de lesão hepática nos ruminantes, desde que seja excluída a possibilidade de ocorrência de lesões musculares e cardíacas, e estar associada com a ocorrência de intoxicação por ricina em ratos e ovinos (KUMAR et al., 2003; ASLANI et al. 2007). Além de estar presente nos hepatócitos, a AST também está presente em concentrações consideráveis nestes tecidos (BIRGEL et al., 1982). Assim, demonstra-se que o oferecimento de farelo de mamona destoxicado aos animais não provocou nenhum tipo de lesão no fígado. É importante ressaltar que a atividade sérica da alanina amino transferase (ALT) não foi utilizada neste estudo por ser considerado um teste válido como

indicador de função hepato-celular apenas em cães e gatos, e não nos ruminantes (BIRGEL et al., 1982).

Oliveira et al. (2010b) avaliaram a inclusão de farelo e de torta de mamona destoxificado ou não com o hidróxido de sódio na dieta de ovinos e encontraram valores para AST e ALT dentro dos valores de referências preconizados para essa espécie, apesar de não terem conseguido destoxificar o material em 100%. No entanto, neste trabalho os autores incluíram somente 15% dos materiais acima citados na dieta dos animais.

Considerando as provas da função renal, observa-se que todos os grupos, inclusive o grupo controle, apresentam valores de uréia sanguínea ligeiramente acima dos parâmetros de referência para a espécie, apesar de não haver diferença estatística entre os grupos. Com relação à creatinina sanguínea, também não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto, todas as médias obtidas encontram-se dentro dos parâmetros de normalidade. É importante lembrar que os níveis de ureia sanguínea sofrem interferência de fatores não renais como, por exemplo, o teor de proteína na dieta oferecida aos animais. Já a creatinina, não tem seu nível sanguíneo afetado pela dieta, sendo, portanto, um bom indicador da função glomerular (BIRGEL et al., 1982). Nesse sentido, observa-se que os altos níveis de ureia no sangue são consequência do alto teor de proteína na dieta dos animais, e não, da existência de uma nefropatia. De forma semelhante, nota-se que os níveis de glicose no sangue estão situados levemente abaixo dos valores normais em todos os grupos experimentais.

Na Tabela 7 estão descritos os resultados do consumo, da excreção, do balanço de nitrogênio e da qualidade biológica da proteína. Os valores de nitrogênio excretado nas fezes exemplificado pelo nitrogênio fecal ($\hat{Y} = 11,93 + 0,015\text{FMD}$) e o metabólico fecal ($\hat{Y} = 6,23 + 0,01\text{FMD}$) foram influenciados ($P < 0,05$) pela substituição do farelo de soja pelo de mamona. Esse resultado pode ser explicado pela redução na digestibilidade da proteína citado na Tabela 3. Apesar da redução ($P < 0,05$) encontrada no balanço de nitrogênio ($\hat{Y} = 24,58 - 0,036\text{FMD}$) foi verificado que as exigências dos animais foram atendidas através dos resultados de balanço de nitrogênio positivo.

Ainda na Tabela 7 podemos destacar a igualdade ($P > 0,05$) nos resultados dos valores biológicos da proteína dos tratamentos, no qual o farelo de mamona apresenta uma

qualidade de proteína compatível com o alimento padrão utilizado na alimentação animal que é o farelo de soja.

Tabela 7. Efeito da substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado no balanço de nitrogênio

Variável	Nível de substituição				Pr > F		R2	CV(%)
	0%	33,3%	66,7%	100%	L	Q		
NC (g/dia)	34,96	34,06	35,45	33,64	0,40	0,48	-	10,22
NF (g/dia)	12,15b	11,54b	14,12a	12,99ab	0,01	0,54	0,35	8,58
NMF (g/dia)	6,39ab	6,07b	7,37a	7,09a	0,006	0,91	0,52	9,76
NI (g/dia)	5,15	5,62	5,78	5,88	0,06	0,49	-	12,34
NU (g/dia)	13,80	14,61	14,73	15,28	0,37	0,90	-	20,17
NUEn (g/dia)	8,19	8,11	8,39	8,85	0,12	0,40	-	10,03
NUEx (g/dia)	5,61	6,02	6,44	6,43	0,52	0,83	-	42,20
NL (g/dia)	7,69b	9,18ab	9,48a	8,09ab	0,42	0,002	0,99	12,65
BN (g/dia)	23,99a	23,28a	24,06a	19,66b	0,002	0,03	0,57	9,32
VB (g/dia)	79,35	79,20	77,52	78,45	0,71	0,83	-	8,76

Valores com letras diferentes, na linha, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

NC – nitrogênio consumido; NF – nitrogênio excretado nas fezes; NU – nitrogênio excretado na urina; NL – nitrogênio excretado no leite; NMF – nitrogênio metabólico fecal; NI – nitrogênio indigerido; NUEn – nitrogênio urinário excretado de origem endógena; NUEx – nitrogênio urinário excretado de origem exógena; BN – balanço de nitrogênio; VB – valor biológico da proteína

Na Tabela 8 estão descritos os valores do pH ruminal de acordo com a substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona.

Tabela 8. Efeito dos níveis de substituição farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado sobre o pH ruminal de cabras lactantes

Tempo	Nível de substituição				CV (%)
	0%	33,3%	66,7%	100%	
0h	6,51 A a	6,69 A a	6,62 A a	6,55 A a	4,06
6h	6,49 A a	6,53 AB a	6,47 AB a	6,48 AB a	2,80
12h	6,34 A a	6,37 B a	6,31 B a	6,29 B a	2,47
Média	6,45	6,53	6,47	6,42	2,55

Letras minúsculas diferentes na mesma linha são diferentes entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna são diferentes entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Não foi encontrado efeito ($P < 0,05$) do tratamento para o pH ruminal entre os tempos avaliados de 0, 6 e 12 h após a alimentação, e o pH permaneceu em todos os tempos estudados com valores acima de 6,3 o que representa um pH ideal para um bom funcionamento do rúmen. Orskov (1988) relatou que, em situações de pH abaixo de 6,2,

ocorreu redução na digestão da fibra, devido a sensibilidade das bactérias fibrolíticas. Foi verificado diferença ($P < 0,05$) apenas para a variável tempo dentro dos tratamentos.

CONCLUSÕES

O farelo de soja pode ser substituído em sua totalidade pelo farelo de mamona destoxificado com hidróxido de sódio sem acarretar redução no desaparecimento da matéria seca ou na qualidade e eficiência de uso da proteína bruta, e não causa danos a saúde animal.

O fator limitante para a utilização do farelo de mamona destoxificado na dieta de cabras em lactação poderá ser a viabilidade econômica do mesmo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIELLO, S. E. **Manual Merck de Veterinária**. 8.ed. São Paulo: Roca, 2001.1861p.

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

ASLANI, M.R.; MALEKI, M.; MOHRI, M. et al. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. **Toxicon**, v.49, p.400-406, 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 15th ed.. Washington D.C.: 1990, 1141p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16th ed. 4th rev. AOAC International, Gaithersburg, MD. 1998.

BIRGEL, E. H.; LARSON, M. H. M. A; HAGIWARA, M. K.; et al. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. 260p.

BULL, L.S.; BAUMGARDT, B.R.; CLANCY, M. Influence of calorie density on energy intake by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.59, p.1078-1086, 1976.

- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.
- CARVALHO,S.; RODRIGUES, M.T.; BRANCO, R.H.; et al. Consumo de nutrientes, produção e composição do leite de cabras da raça Alpina alimentadas com dietas contendo diferentes teores de fibra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1154-1161, 2006.
- COLES, E. H. **Patologia Clínica Veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Saunders, 1993.
- FAICHNEY, G.F. Digesta flow. In: FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. London: CABI International, p.53-85, 1993.
- FONSECA, C.E.M. **Proteína bruta em dietas de cabras em lactação**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 108p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa. 2004.
- KATEGILE, J.; URIO, N.A.; SUNDSTOL, F.; et al. Simplified method for alkali treatment of low quality roughages for use by smallholders in developing countries. **Animal Feed Science and Technology**. v.6, p.133-143, 1981.
- KUMAR, O.; SUGENDRAN, K.; VIJAYARAGHAVAN, R. Oxidative stress associated hepatic and renal toxicity induced by ricin in mice. **Toxicon**, v.41, p.333-338, 2003.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- LUO, J.; GOETSCH, A.L.; MOORE, J.E. et al. Prediction of endogenous urinary nitrogen of goats. **Small Ruminant Nutrition**, v.53, p.293-308, 2004.
- MERTENS, D.R. Using fiber and carbohydrate analysis to formulate dairy rations. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1463-1481, 1996.
- MOORE, J.E., GOETSCH, A.L., LUO, J. et al. Prediction of fecal crude protein excretion of goats. **Small Ruminant Nutrition**, v.53, p.275-292, 2004.
- MÜLLER, Z.O. Feedingpotential of pineapple waste for cattle. **World Animal Review**, v.25, p.25-29, 1978.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7rev.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington, D.C.: National Academy Press. 2007. 362p.

OLIVEIRA, A.S.; OLIVEIRA, M.R.C.; CAMPOS, J.M.S.; *In vitro* ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. **Animal Feed Science and Technology**, v.157, p.41-54, 2010a.

OLIVEIRA, A.S.; CAMPOS, J.M.S.; OLIVEIRA, M.R.C; et al. Nutrient digestibility, nitrogen metabolism and hepatic function of sheep fed diets containing solvent or expeller castorseed meal treated with calcium hydroxide. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p.15-28, 2010b.

ORSKOV, E. R. **Nutrición proteica de los rumiantes**. Saragoza: Ed. Acribia, 1988, 178p.

SANTOS, S.F.; BOMFIM, M.A.D.; CANDIDO, M.J.D.; et al. Efeito da inclusão da casca de mamona na dieta de cabras leiteiras sobre a produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. **Archivos de Zootecnia**, v.60, p.113-122, 2011.

SAS - **STATISTICAL ANALISYS SYSTEM**. SAS Users Guide: Statistics. Eletronic Version 6.2 Cary, USA: 1996.

SEVERINO, L. S. **O que sabemos sobre a Torta de mamona**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005, 31p. (Documento 134).

SLUSZZ, T. ; MACHADO, J. A. D. Características das potenciais culturas matérias-primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar. In: AGRENER GD 2006 - 6º Congresso Internacional sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural, 2006, Campinas-SP. **Anais...**, AGRENER GD 2006. Campinas-SP : Unicamp, 2006. v. Único. p. 01-10.

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

TÁVORA, F. J. A. F. **A cultura da mamona**. Fortaleza: Empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará (EPACE), 1982. 111p.

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

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

VAN SOEST, P.J.; McCAMMON-FELDMAN, B.; CANNAS, A. The feeding and nutrition of small ruminants: application of the cornell discount system to the feeding of dairy goats and sheep. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES. **Proceeding...** Lincoln: Nebraska Center for Continuing Education, p.1-22, 1970.

VASTA, V.; NUDDA, A.; CANNAS, A.; et al. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, p.223-246, 2008.

CAPÍTULO 4

**Utilização do farelo de mamona destoxificado na dieta de cabras
leiteiras: impactos sobre a produção e qualidade do leite**

Utilização do farelo de mamona destoxificado na dieta de cabras leiteiras: impactos sobre a produção e qualidade do leite

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado com o hidróxido de sódio (FMD) na dieta de cabras em lactação, utilizando como variáveis a produção, composição físico-química, rendimento de queijo, perfil de ácidos graxos e qualidade sensorial do leite. Foram utilizadas 28 cabras das raças Saanen e Anglo-Nubiana em lactação, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado. Os animais foram divididos em quatro tratamentos com diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo FMD (0%, 33,3%, 66,7% e 100%), como variável independente. Não foi verificada alteração ($P > 0,05$) na produção de leite ou nos constituintes lácteos, exceto para o teor e a produção diária de lactose, que aumentou de forma linear. O teor de nitrogênio ureico no leite reduziu ($P < 0,05$) linearmente com a adição do FMD. A inclusão de FMD na dieta reduziu de forma linear ($P < 0,05$) os ácidos graxos de cadeia curta do leite e aumentou de forma linear ($P < 0,05$) o ácido palmítico (C16:0). Houve redução linear ($P < 0,05$) dos ácidos graxos de cadeia longa, entre eles o ácido linoleico conjugado (*cis-9 trans-11*). Redução foi verificada também nos teores dos ácidos graxos polinsaturados, ácidos graxos essenciais e os ômega 3 e 6, reduções essas que acabaram por aumentar ($P < 0,05$) o índice de aterogenicidade. Apesar da mudança no perfil lipídico, não houve prejuízos às características sensoriais do leite, que demonstrou ainda uma redução ($P < 0,05$) na identificação de sabores estranho e característico, após a adição do FMD. Portanto, pode-se substituir todo o farelo de soja da dieta pelo FMD na dieta de cabras leiteiras sem prejuízos a produção, composição físico-química e características sensoriais do leite ou rendimento de queijo.

Palavras-chave: Ácidos graxos, alimentos alternativos, biodiesel, ricina, *Ricinus comunnis*, sensorial

Utilization of detoxified castor bean meal on lactating goat's diet: impacts on milk yield and quality

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate of soybean meal replacement for detoxified castor bean meal (FMD) with sodium hydroxide, on diet of lactating goats, using as variables the yield, physic-chemical composition, fatty acids profile and quality of milk. It were used 28 Saanen and Anglo-Nubiana lactating goats, distributed in a completed randomized experimental design. The animals were assorted in four treatments with different levels of replacement of soybean meal for FMD (0%, 33.3%, 66.7% and 100%), as an independent variable. It wasn't detected variation ($P>0.05$) on milk yield or its constituents, except for lactose level and daily production that linearly increased. Urea nitrogen level linearly decreased ($P<0.05$) after addition of FMD. The inclusion of FMD on diet promoted a linearly decrease ($P<0.05$) on small chain fatty and a linearly increase ($P<0.05$) on palmitic acid (C16:0). It was detected a linearly decrease ($P<0.05$) on long chain fatty acids, among them the conjugated linoleic acid (*cis-9 trans-11*). Reduction was verified also for polyunsaturated and essentials fatty acids and omegas 3 and 6, that consequently promoted the increase on index of atherogenicity ($P<0.05$). Despite the change in lipid profile, there was no prejudice to the sensory characteristics of milk, that presented a reduction ($P<0.05$) in the weird and characteristic flavor, after addition of FMD. The complete replacement of soybean meal for FMD can be accomplished without any negative effect on yield, physic-chemical composition and sensorial characteristics of milk or on cheese yield.

Keywords: alternative food, biodiesel, fatty acids, ricin, *Ricinus comunnis*, sensorial

INTRODUÇÃO

A produção de biocombustíveis oriunda de diversas fontes de óleos vegetais se tornou uma área de interesse da pesquisa e alvo de grandes incentivos governamentais no Brasil. Além do interesse na matriz energética, soma-se a possibilidade de aumentar a disponibilidade de produtos baratos com o aproveitamento de seus produtos secundários, especialmente nas regiões de clima semiárido, cujas características edafoclimáticas as tornam grande importadores de alimentos concentrados de outras regiões do Brasil. Tal importação acaba, em muitas vezes, por inviabilizar a cadeia produtiva da caprinocultura e da ovinocultura. O custo elevado de alimentos utilizados nas dietas, especialmente, na produção de leite de cabra, como o farelo de soja e de algodão, compromete a eficiência econômica do sistema de produção.

Dentre as fontes vegetais, a mamona (*Ricinus Communis* L.) tem recebido atenção especial nas pesquisas de produção de biodiesel. Por ser uma planta que se adapta bem às condições de semiárido, ela apresenta importância social e econômica e pode apresentar-se como alternativa de renda para a produção agrícola e, principalmente, para a pecuária da região. Essa importância se dá pelo fato que o subproduto mais importante da indústria do óleo de mamona é o farelo de mamona, que apresenta elevado conteúdo de proteína.

A proteína dietética é considerada um dos nutrientes mais importantes na nutrição animal devido, principalmente, ao seu alto custo e escassez em determinadas épocas do ano, por isto deve ser eficientemente utilizada pelos animais (LAUDADIO e TUFARELLI, 2010). A utilização de alimentos não convencionais consiste em uma das alternativas para minimizar os problemas relacionados à escassez e ao custo elevado da proteína da dieta. Nos últimos anos, o uso de produtos provenientes das agroindústrias na alimentação animal tem sido adotado, com sucesso, como estratégia para reduzir o custo de produção e como forma de reciclar os nutrientes (VASTA et al., 2008).

No entanto, alguns desses alimentos apresentam substâncias tóxicas aos animais e exigem tratamentos prévios para que possam ser utilizados na ração, como é o caso do farelo de mamona. A ricina está presente no farelo de mamona e é considerado o principal fator limitante para a utilização deste subproduto na alimentação animal (OLIVEIRA et al.,

2010). Robb et al. (1974) avaliaram a inclusão de farelo de mamona na dieta de vacas em lactação e detectaram baixa concentração de ricina no leite produzido. Os autores ressaltam a necessidade de realização de outros estudos relacionados à segurança deste produto quanto ao consumo humano.

A produção de leite de cabra, juntamente com outros segmentos da pecuária, atua como atividade de importância social e econômica para as regiões semiáridas, ao garantir emprego, renda e ajudar a fixar a população no campo. Além disso, o leite de cabra possui efeitos benéficos à saúde humana. De acordo com alguns resultados de pesquisa, pode ser consumido por determinadas pessoas intolerantes ao leite de vaca sem prejuízo à saúde, além de auxiliar nas funções fisiológicas e nutrição de crianças e idosos (RIBEIRO e RIBEIRO, 2010). Adicionalmente, existem relatos na literatura de que os ácidos graxos presentes no leite de cabra estão potencialmente envolvidos com fatores promotores da saúde humana.

A manipulação de constituintes da dieta dos animais, como as fontes de proteína, tem sido trabalhada como uma das vias de aumentar a produção, alterar a composição química e melhorar a aceitação do leite de cabra pelo mercado consumidor (SAHOO e WALLI, 2008). As características sensoriais do leite de cabra assumem papel fundamental com relação à aceitabilidade do produto pelos consumidores e na promoção do “marketing” (RIBEIRO e RIBEIRO, 2010). Modificações na composição dos ácidos graxos no leite através da alimentação das cabras podem resultar em mudanças positivas ou negativas no aspecto sensorial e nutricional do leite (LUNA et al., 2008).

O efeito da utilização de alimentos alternativos na qualidade do leite de cabra pode ser verificado através das suas propriedades tecnológicas. Para validar a utilização destes produtos na alimentação animal, estudos relacionados à preservação da saúde do animal e produção e qualidade do leite produzido são essenciais (VASTA et al., 2008).

Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado com hidróxido de sódio, na produção, na qualidade físico-química e sensorial, no rendimento de queijo, bem como no perfil de ácidos graxos do leite de cabras.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e duração do experimento

O presente experimento foi conduzido no Setor de Caprinocultura Leiteira e as análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada em Sobral, no Sertão Cearense, a uma altitude de 83 metros acima do nível do mar, 03° 41' 10" de latitude Sul, 40° 20' 59" de longitude Oeste e à margem da estrada Sobral-Groaíras, no km quatro. O período experimental compreendeu os meses entre dezembro de 2008 e fevereiro de 2009.

Destoxificação do farelo de mamona

O farelo de mamona *in natura* utilizado para destoxificação foi proveniente da indústria de óleo Bom-Brasil®, situada no Estado da Bahia. Para a destoxificação do farelo de mamona foram utilizados, para cada 1000g de farelo *in natura*, 30g de NaOH diluídos em 2500 mL de água. O período de atuação do NaOH foi de 24 horas e o composto era homogeneizado periodicamente. Após o período de reação, o farelo foi colocado sobre uma lona plástica ao sol por um período de 48 horas, sendo constantemente revolvido para uma secagem de forma homogênea. Depois de seco, o farelo foi triturado em máquina forrageira, para permitir a redução no tamanho do material e facilitar a sua homogeneização com os demais ingredientes da dieta. A eficácia da destoxificação foi determinada por eletroforese em SDS-PAGE através do desaparecimento das bandas de ricina utilizando a coloração de nitrato de prata, para garantir que o farelo estivesse atóxico,.

Animais e instalações experimentais

Foram utilizadas 28 cabras em lactação, sendo 16 cabras da raça Anglo-Nubiana e 12 cabras da raça Saanen com peso vivo médio de 60 kg. Estes animais foram confinados, alojados em baias individuais providas de comedouros, bebedouros e saleiros. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (7:00 e 15:30 h) e o ajuste de consumo voluntário foi

realizado diariamente, permitindo uma sobra de 10% do total oferecido. Na Tabela 1, está descrita a composição bromatológica dos ingredientes utilizados nos tratamentos.

Tabela 1. Composição bromatológica dos ingredientes

Variáveis	Milho	Farelo de Mamona Destoxificado	Farelo de Soja	Feno de Tifton
Matéria Seca (g.kg ⁻¹)	827,90	902,10	832,3	824,40
Matéria Orgânica (g.kg ⁻¹)	986,60	864,90	935,6	907,90
Extrato Etéreo (g.kg ⁻¹)	45,80	10,40	38,70	23,60
Matéria Mineral (g.kg ⁻¹)	13,40	135,10	64,40	92,10
Proteína Bruta (g.kg ⁻¹)	87,90	327,40	487,40	99,90
NIDN (% N Total)	35,50	10,36	7,76	53,34
NIDA (% N Total)	2,30	5,36	2,75	6,31
FDNc (g.kg ⁻¹)	171,10	413,90	142,20	735,20
FDA (g.kg ⁻¹)	29,00	390,80	91,90	418,10
Hemicelulose (g.kg ⁻¹)	133,20	23,10	50,28	388,90
Celulose (g.kg ⁻¹)	8,00	37,70	7,90	123,30
Lignina (g.kg ⁻¹)	12,20	137,20	8,90	97,10
NDT (g.kg ⁻¹)	742,20	410,50	776,40	340,80
CHOT (g.kg ⁻¹)	852,90	527,10	409,50	784,40
CNF (g.kg ⁻¹)	681,80	113,20	267,30	49,20

NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA: nitrogênio insolúvel em detergente ácido; FDNc: fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; CHOT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não fibrosos; NDT: Nutrientes digestíveis totais

As análises da composição em matéria seca (MS) e extrato etéreo (EE) foram realizadas segundo AOAC (1990) e a matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM) foram determinadas utilizando as técnicas descritas em AOAC (1998). Para o desdobramento da fibra em fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina foi seguido o protocolo proposto por Van Soest et al. (1991). O teor de carboidratos totais (CHOT) foi obtido pela fórmula: $CHOT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$, conforme descrito em Sniffen et al. (1992). Já o teor de carboidratos não fibrosos (CNF) segue a diferença entre o teor de CHOT e o teor de FDN presentes nas amostras, também proposto por Sniffen et al. (1992).

O valor da energia dos alimentos foi estimado segundo Van Soest (1994), utilizando a equação: $NDT = DMS - cinzas + 1,25 \times (EE) + 1,9$, em que DMS é a digestibilidade da matéria seca, obtida como: $DMS = (100 - FDN) \times 0,98 + (FDN \times DFN/100) - 12,8$. DFDN é a digestibilidade estimada da FDN, obtida como: $DFDN = 147,3 - 78,9 \log_{10} [(LDA/FDA) \times 100]$. Nesta equação, LDA representa o conteúdo de lignina do alimento.

Delimitação e dietas experimentais

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos de substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado (0%, 33,3%, 66,7% e 100%) e sete repetições. Os quatro tratamentos foram casualizados para que outros fatores como produção, raça, estágio fisiológico e número de partos fossem distribuídos entre os tratamentos e não interferissem nos resultados finais. Desse modo, a produção média de leite ao início do experimento foi de $1,78 \pm 0,66$ litros/dia e a quantidade de animais da mesma raça por tratamento foi de quatro Anglo-Nubiana e três Saanen, com 125 ± 75 dias de lactação e média de $3,5 \pm 2,5$ partos. As dietas foram ajustadas seguindo as recomendações do NRC (2007). As composições percentuais e químicas das dietas experimentais estão descritas na tabela 02.

Tabela 2. Composição percentual e química das dietas experimentais com base na matéria seca

Ingredientes (%)	Tratamentos			
	0%	33,3%	66,7%	100%
Milho em Grão	33,76	36,31	39,20	42,90
Farelo de Mamona	0,00	4,60	9,69	14,04
Farelo de Soja	12,56	8,97	5,00	0,00
Feno de Tifton	52,79	49,28	45,29	42,30
Fosfato Bicálcico	0,20	0,12	0,04	0,00
Calcáreo Calcítico	0,69	0,72	0,78	0,76
Composição química				
Matéria Seca (g.kg ⁻¹)	828,10	831,40	835,10	838,10
Matéria Orgânica (g.kg ⁻¹)	929,90	929,40	928,50	928,70
Extrato Etéreo (g.kg ⁻¹)	32,80	32,20	31,60	31,10
Matéria Mineral (g.kg ⁻¹)	70,10	70,60	71,50	71,90
Proteína Bruta (g.kg ⁻¹)	143,60	139,90	135,90	131,90
NDT (g.kg ⁻¹)	527,90	525,90	523,80	520,10
FDNc (g.kg ⁻¹)	463,70	456,20	447,30	442,50

FDNc: fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas; NDT: Nutrientes Digestíveis Totais

Amostragem

Durante todo o período experimental, que consistiu em 30 dias de adaptação a dieta e 5 dias para coleta de dados, os animais foram ordenhados manualmente duas vezes ao dia (06:30 e 15:00 h), para mensuração da produção leiteira.

Para a análise físico-química do leite, durante dois dias consecutivos, as amostras do leite da manhã e da tarde foram coletadas e agrupadas em amostras compostas (30 mL), respeitando a proporção do leite ordenhado. A correção do leite para 4% de gordura foi realizada segundo o NRC (1989) na qual: PLCG 4%: $(0,4 \times \text{kg de leite}) + (15 \times \text{kg de gordura do leite})$. A composição do leite em proteína, gordura, lactose, sólidos totais e ureia foi determinada por espectrofotometria de infravermelho em um aparelho B 2300 Combi (Bentley®). Já a análise de rendimento de queijo foi realizada com a adição de enzima coagulante ao leite por uma hora a temperatura de 37°C, após a coagulação esse material foi centrifugado durante 15 min a 2500 rpm e drenado a fração líquida por 45 min, seguindo o protocolo proposto por Othmane et al. (2002).

As amostras de leite para análise de ácidos graxos foram obtidas no primeiro e no segundo dia das coletas, em tubo eppendorf de 1,5 mL e congeladas. Após o congelamento, a amostra do primeiro dia foi homogeneizada com a amostra do segundo dia, para análise composta. A extração dos ácidos graxos se deu através da utilização da técnica do metanol-clorofórmio, seguindo a metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959). A identificação dos ácidos graxos foi feita pela comparação dos tempos de retenção e as porcentagens dos ácidos graxos foram obtidas através do *software* – *GC Solution* (Shimadzu Corporation – Japão), tendo como padrão os ácidos graxos autênticos da Sigma-Aldrich, FAME 37 e a mistura de CLA. Os ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos e os resultados foram expressos em percentual do total de ácidos graxos (%).

As amostras transmetiladas foram analisadas em cromatógrafo a gás, modelo CG Shimadzu, com detector de ionização de chama, coluna capilar (Supelco SP-2560), fase estacionária sílica fundida, com 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 µm de espessura do filme. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste, numa vazão de 1,8 mL/min, nitrogênio (50 mL/min) e hidrogênio (400 mL/min) como detector e ar sintético (400 mL/min). O programa de temperatura do forno inicial foi o de 50°C, com tempo de espera de 3 min, elevando-se para 150°C (4°C/min) e permanecendo nesta temperatura por um 1 min. Em seguida, a uma taxa de 1°C/min, a temperatura foi elevada a 170°C e mantida por mais 1 min. Posteriormente, elevou-se a temperatura a 220°C

(8°C/min) e a manteve por 30 min. O processo completo totalizou 86,25 min. A temperatura do injetor foi de 250°C e a do detector foi de 300°C.

Para a análise sensorial, foram coletados 100 mL de leite por dia de cada cabra, durante dois dias consecutivos. Após a coleta, foi realizada uma homogeneização do leite referente a cada tratamento, totalizando quatro amostras. As avaliações sensoriais foram realizadas de acordo com Moraes (1985), em cabines individuais, longe de ruídos e odores, em horários previamente estabelecidos e excluindo uma hora antes e duas horas após o almoço. Foi utilizado um painel de dez provadores selecionados e treinados, composto por funcionários, professores e alunos do Campus I da UFPB, sendo aplicado teste da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) para os atributos de odor característico, odor estranho, sabor característico, sabor estranho, sabor rançoso, sabor adocicado e aceitação global, conforme metodologia descrita por Faria e Yotsuyanagi (2002), utilizando uma escala de intensidade de nove pontos, variando de extremamente fraco a extremamente forte para todos os atributos, exceto para a aceitação global, em que foi utilizado os termos gostei muitíssimo a desgostei muitíssimo.

As amostras de leite, codificadas com três dígitos, foram previamente pasteurizadas, mantidas sob refrigeração e servidas à temperatura de ambiente, de acordo com o que foi sugerido por Ferreira et al. (2000). Entre uma amostra e outra, foram servidos biscoito de água e sal para limpar o palato e água filtrada para lavar a boca. As análises foram realizadas em dois dias consecutivos, sendo servidas em três turnos distintos (uma pela manhã e outra à tarde), contendo, por vez, quatro amostras de leite. A proposta foi submetida à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB. Os procedimentos realizados na pesquisa foram explicados aos voluntários e, em seguida, aqueles que se interessaram em participar do estudo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Análise Estatística

Os dados obtidos para produção, composição e ácidos graxos neste estudo, foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA), teste de comparação de médias e análise de regressão. Para comparar as médias, foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de

5% de probabilidade. Os tratamentos foram, ainda, desdobrados, onde a escolha dos modelos linear ou quadrático baseou-se na significância dos respectivos coeficientes de probabilidade. Como ferramenta de auxílio às análises estatísticas, foram utilizados os procedimentos GLM do programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 1996) e o Microsoft® Office Excel® 2007. Os resultados da análise sensorial foram analisados através do teste Ryan Einot Gabriel Welsch a 5% de probabilidade

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção e composição físico-química e rendimento em queijo do leite das cabras recebendo as dietas com diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Produção e composição físico-química do leite de cabras alimentadas com farelo de mamona destoxificado, em substituição ao farelo de soja

Variáveis	Tratamentos				Pr > F		R2	CV(%)
	0%	33,3%	66,6%	100%	L	Q		
PL (kg.dia ⁻¹)	1,46	1,73	1,71	1,74	0,10	0,28	-	17,29
PLCG (kg.dia ⁻¹)	1,39	1,45	1,53	1,54	0,21	0,68	-	18,55
Gordura (g.kg ⁻¹)	36,14	35,14	34,43	36,42	0,98	0,53	-	17,73
Proteína (g.kg ⁻¹)	32,46	31,56	31,87	31,84	0,83	0,79	-	13,74
Lactose (g.kg ⁻¹)	38,25b	38,73b	38,88b	41,97a	0,001	0,06	0,74	4,36
ST (g.kg ⁻¹)	115,93	123,48	116,17	118,61	0,95	0,36	-	6,14
ESD (g.kg ⁻¹)	79,93	79,56	77,76	82,74	0,46	0,37	-	6,61
Proteína (g.dia ⁻¹)	56,65	51,94	56,47	55,24	0,98	0,70	-	21,78
Gordura (g.dia ⁻¹)	56,07	58,78	61,97	65,99	0,06	0,86	-	15,98
Lactose (g.dia ⁻¹)	43,36c	57,32bc	71,66ab	76,50a	0,001	0,28	0,96	17,77
NUL (mg.dL ⁻¹)	26,93a	26,00a	25,97a	21,14b	0,002	0,09	0,73	11,82
RQ (%)	21,82	19,40	21,37	20,78	0,85	0,48	-	16,26

PL: produção de leite; PLCG: produção de leite corrigida para 4% de gordura; ST: sólidos totais; ESD: extrato seco desengordurado; NUL: nitrogênio ureico no leite; RQ: rendimento de queijo

A substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado, dentre os percentuais estudados, não influenciou ($P>0,05$) a produção de leite, o rendimento de queijo e a composição físico-química exceto para a lactose. A produção média diária de leite observada foi de 1,64 kg e, para o leite corrigido, 1,47 kg de leite por dia.

A disponibilidade de nutrientes presentes na dieta dos animais é considerada um dos fatores que afetam a produção e a composição química do leite, avaliadas, principalmente, através dos teores de proteína e gordura. Neste estudo, os teores de proteína e gordura não sofreram interferência dos tratamentos avaliados ($P > 0,05$) e obtiveram médias de 31,93 (g.kg^{-1}) e 35,53 (g.kg^{-1}), respectivamente. A produção diária de proteína e gordura (g.dia^{-1}) também não foi afetada em decorrência dos tratamentos.

Trabalho como o de (SILVA et al., 2005), foi realizado para avaliar a utilização de diferentes subprodutos na dieta de cabras leiteiras. A substituição do farelo de soja pela torta de dendê não promoveu diferença estatística significativa na produção de leite, em comparação ao grupo sem adição da torta. No grupo de animais alimentados com 30% de substituição, uma média de produção de 1,68 kg de leite por dia foi observada. No entanto, a substituição, em 30%, do farelo de soja pelo farelo de cacau reduziu, aproximadamente, 31% a produção de leite das cabras, quando comparado ao grupo controle sem adição de cacau.

O teor de lactose ($\hat{Y} = 37,76 + 0,034\text{FMD}$), bem como a produção diária deste componente ($\hat{Y} = 45,16 + 0,34\text{FMD}$) no presente experimento foi influenciado, positivamente, pela substituição de 100% do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado, se comparado o tratamento controle. A lactose do leite é sintetizada a partir da glicose presente nas células epiteliais que envolvem os alvéolos na glândula mamária das cabras. Duas moléculas de glicose são necessárias para que uma molécula de lactose seja sintetizada. Segundo Kronfeld (1982), a síntese “de novo” de ácidos graxos de cadeia curta e média requer a utilização de glicose como fornecedora de agentes redutores de NADPH, via ciclo das pentoses. Considerando que a quantidade de ácidos graxos de cadeia curta reduz linearmente com a adição do farelo de mamona (Tabela 4), a não utilização da glicose na síntese “de novo” pode ter desencadeado o aumento na disponibilidade deste composto na glândula mamária e, conseqüentemente, maiores taxas de conversão em lactose terem sido observadas.

A substituição de 100% do farelo de soja pelo farelo de mamona reduziu ($\hat{Y} = 27,62 - 0,05\text{FMD}$) de forma linear ($P < 0,05$) a concentração de nitrogênio ureico no leite (NUL). A concentração de NUL é um dos índices utilizados para monitorar a utilização de energia

e proteína pelos ruminantes. A partir dos resultados obtidos neste estudo, verificou-se que a sincronização da utilização da proteína e energia e, conseqüentemente, a eficiência de utilização do nitrogênio através da inclusão do farelo de mamona destoxificado foi melhor para o tratamento com 100% de substituição.

Esse resultado pode ser conseqüência do menor teor de proteína presente na ração com substituição pelo farelo de mamona, quando comparado à ração com farelo de soja, mas também pode estar relacionado à menor degradabilidade ruminal do farelo de mamona destoxificado, em relação ao farelo de soja. Outro ponto, é que o NUL também é um bom indicativo da qualidade da proteína, uma vez que mesmo sendo de baixa degradabilidade, se o perfil aminoacídico não for adequado, o destino da proteína é ser excretada como uréia. Laudadio e Tufarelli (2010), trabalhando com fontes de proteínas com diferentes índices de degradabilidade ruminal, encontraram maiores valores de NUL para cabras alimentadas com dieta com maior teor de proteína degradável no rúmen (23,1 mg/dL), se comparado ao de cabras com maior teor de proteína não degradável no rúmen (21,7 mg/dL).

A alteração na composição físico-química do leite é um parâmetro utilizado para monitorar a produção de queijos (MILIS et al. 2005). O alto teor de sólidos totais, por exemplo, tende a ser mais rentável para a indústria dos derivados lácteos. Neste estudo, não foi detectada alteração ($P>0,05$) na produção de sólidos do leite e no rendimento de queijo com a inclusão do farelo de mamona destoxificado. Assim, observa-se que o FMD pode ser utilizado na alimentação de cabras em lactação sem afetar o rendimento dos derivados do leite. Este resultado é de suma importância nos dias de hoje, considerando a forte tendência do mercado do leite de cabra para a produção de queijos e outros derivados lácteos.

Na Tabela 4, estão apresentados os dados referentes à composição percentual dos principais ácidos graxos da gordura do leite de cabras alimentadas com farelo de mamona destoxificado. Não foi verificada diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos para as variáveis cáprico (C10:0), mirístico (C14:0), monoinsaturados e os ômega 9, com concentrações médias de 9,75; 11,56; 24,33 e 21,41, respectivamente.

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos do leite de cabras em lactação alimentadas com farelo de mamona destoxificado

Variáveis	Tratamentos				Pr > F		R ²	CV(%)
	0%	33,3%	66,7%	100,0%	L	Q		
C4:0	1,58b	1,93a	1,72ab	1,63ab	0,89	0,01	0,92	13,00
C6:0	2,07ab	2,28a	1,91b	1,82b	0,004	0,07	0,52	10,41
C8:0	2,61ab	2,88a	2,30b	2,12b	0,004	0,14	0,63	15,51
C10:0	10,05	10,60	9,26	9,10	0,11	0,53	-	15,30
C11:0	0,09	0,08	0,11	0,09	0,50	0,88	-	39,77
C12:0	5,01a	5,08a	3,91b	4,85a	0,20	0,10	-	12,20
C13:0	0,08	0,08	0,07	0,08	0,63	0,23	-	25,65
C14:0	11,61	11,28	12,13	11,28	0,93	0,53	-	9,47
C14:1	0,14	0,13	0,16	0,16	0,23	0,70	-	33,20
C15:0	0,77	0,69	0,67	0,74	0,45	0,06	-	11,85
C15:1	0,17	0,17	0,18	0,16	0,88	0,54	-	26,69
C16:0	26,76b	27,78b	27,34b	32,36a	0,04	0,64	0,68	13,81
C16:1	0,50	0,45	0,51	0,52	0,46	0,44	-	20,38
C17:0	0,44	0,40	0,41	0,43	0,76	0,34	-	16,78
C17:1	0,18	0,16	0,18	0,18	0,87	0,39	-	21,05
C18:0	9,02a	9,56a	8,06ab	6,61b	0,001	0,03	0,76	13,89
C18:1 <i>trans</i> -9	1,23a	1,17ab	0,92b	0,38c	0,001	0,09	0,87	18,76
C18:1 <i>cis</i> -9	19,40	20,28	20,93	20,03	0,59	0,41	-	14,07
C18:2 <i>trans</i> n6	0,07b	0,09a	0,09a	0,09a	0,01	0,72	0,31	11,37
C18:2 <i>cis</i> n6	1,40a	1,41a	1,29ab	1,14b	0,006	0,28	0,87	13,77
C18:3 n6	0,19	0,18	0,20	0,18	0,65	0,95	-	19,88
C18:3 n3	0,27a	0,23ab	0,19b	0,17b	0,001	0,53	0,96	21,08
<i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11	0,47a	0,45ab	0,47a	0,36b	0,01	0,25	0,60	12,02
C20:4 n6	0,16	0,12	0,12	0,13	0,19	0,12	-	37,25
Indeterminados	3,87	3,20	3,59	4,27	0,34	0,08	-	26,04
IA ¹	3,15b	3,18b	3,70a	3,84a	0,001	0,69	0,90	9,77
Saturados	69,98	72,65	69,38	69,98	0,65	0,53	-	6,11
Insaturados	24,19	24,79	24,88	23,45	0,67	0,37	-	12,06
Monossaturados	21,62	22,35	22,50	21,33	0,87	0,37	-	12,75
Polinsaturados	2,57a	2,44ab	2,38ab	2,13b	0,006	0,55	0,93	11,41
Desejáveis ²	34,12a	34,35a	32,94ab	30,08b	0,05	0,14	0,79	8,09
C4 à C13	21,37ab	22,93a	19,30b	19,70b	0,02	0,47	0,45	10,14
C14 à C16:1	39,95	40,50	42,47	44,09	0,06	0,74	-	10,34
Acima de C16	32,84	34,00	32,49	29,64	0,08	0,15	-	11,03
Essenciais ³	2,40a	2,32a	2,26ab	1,95b	0,001	0,20	0,85	10,49
Ômega 3	0,27a	0,24ab	0,19b	0,17b	0,001	0,53	0,96	21,08
Ômega 6	1,87a	1,80ab	1,75ab	1,60b	0,02	0,38	0,94	9,59
Ômega 9	21,09	21,85	21,98	20,71	0,82	0,34	-	13,12

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem a 5% de significância pelo Teste de Tukey;

¹IA = Índice de Aterogenicidade (C12 + 4 C14 + C16):(soma dos insaturados), retirado de Chilliard et al., (2003);

²Desejáveis = insaturados + c18:0

³Essenciais = C18:2 +C18:3

A utilização de farelo de mamona destoxificado pelo hidróxido de sódio promoveu uma alteração significativa ($P < 0,05$) no perfil dos ácidos graxos de cadeia curta do leite, mais especificamente, sobre os ácidos butírico (C4:0), capríco (C6:0), caprílico (C8:0) e láurico (C12:0). Esses ácidos graxos são formados na glândula mamária pela síntese “de novo” e provenientes, principalmente, de moléculas de acetato e butirato resultantes da digestão de lipídios e carboidratos estruturais presentes na dieta animal (HARVATINE et al., 2008).

Neste estudo, foi detectado um aumento significativo nos níveis de C4:0 no tratamento 33,3%, quando comparado ao grupo controle, e uma redução significativa de C12:0 no tratamento 66,7%, em relação aos outros grupos avaliados. Os níveis de C6:0 e C8:0 aumentaram significativamente no tratamento 33,3%, quando comparados aos tratamentos 66,7% e 100%. No entanto, a comparação entre o tratamento controle sem a adição de farelo de mamona e o tratamento com 100% de substituição do farelo de soja indica que não existe diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os dois tratamentos.

A menor concentração de ácidos graxos de cadeia curta na gordura do leite, pode ser explicada pelo perfil da fibra presente nos tratamentos. Apesar do teor de FDN ser semelhante, a fonte desta FDN é diferente. A medida que inclui o FMD, ocorre uma diminuição na quantidade de tifton, o que torna a FDN com um perfil menos digestível devido a presença da casca de mamona no farelo, acarretando em uma menor quantidade de precursores de ácidos graxos de cadeia curta.

Com relação aos níveis de ácido palmítico (C16:0), foi detectado neste estudo um aumento ($P < 0,05$) linear ($\hat{Y} = 26,11 + 0,05\text{FMD}$) na sua concentração com a substituição crescente pelo farelo de mamona. Segundo Chilliard et al. (2003), os ácidos graxos de cadeia longa (C18) exercem, na glândula mamária, um efeito inibitório na síntese “de novo” dos ácidos graxos de cadeia média (C8 a C16). Assim, o baixo nível de ácidos graxos de cadeia longa detectados no tratamento com 100% de substituição do farelo de soja explica o aumento significativo do ácido palmítico ($P < 0,05$), em comparação aos outros grupos avaliados.

O termo “ácido linoleico conjugado” (CLA) refere-se a um grupo de ácidos graxos isômeros (geométrico e posicional) do ácido linoleico (C18:2). Este complexo vem sendo

bastante estudado nos dias de hoje devido, principalmente, às propriedades anticarcinogênica, antidiabéticas e imuno-estimulantes a que lhe foram atribuídas (SAVOINI et al. 2010). As fontes alimentares ricas em CLA, utilizadas para a nutrição humana, são provenientes de produtos de origem animal. O ácido graxo C18:2 *cis-9 trans-11* é a forma predominante do CLA com atividade biológica e representa 90% do CLA presente na gordura dos ruminantes. Este ácido graxo é proveniente da biohidrogenação incompleta do ácido linoleico e da síntese endógena na glândula mamária, através da enzima $\Delta 9$ -desaturase, tendo como precursor o C18:1, que corresponde a 70% da produção do CLA na gordura do leite de ruminantes (GRINARI et al., 2000; BAUMAN et al., 2006). A inclusão na dieta de ácidos graxos polinsaturados precursores do ácido vaccênico, como o C18:2 n-6 (ácido linoleico) e o C18:3 n-3 (ácido linolênico), consiste em uma das estratégias utilizadas para aumentar os níveis de CLA no leite, através do aumento na produção ruminal de C18:1 *trans-11* (SAVOINI et al., 2010). No presente estudo, redução linear ($\hat{Y} = 0,48 - 0,001\text{FMD}$) significativa no C18:2 *cis-9 trans-11* foi detectada no leite obtido a partir do tratamento com 100% de substituição, em relação a grupo controle (0%). Tal fato pode ser explicado pelos baixos níveis dos ácidos linoleico e linolênico observados no mesmo produto, quando comparado ao tratamento controle ($P < 0,05$), já que estes compostos atuam como precursores do CLA. Ainda considerando a principal via de biohidrogenação dos ácidos graxos linoleico e linoleico conjugado, é possível entender a redução significativa dos níveis de ácido esteárico (C18:0) no tratamento 100% em relação ao 0%, pois este último é considerado um dos intermediários do sistema (CHILLIARD et al., 2003).

O perfil de ácidos graxos das dietas utilizadas não foi determinado neste estudo. Entretanto, a partir de informações relacionadas ao extrato etéreo dos ingredientes utilizados nas rações (tabela 01) e ao conteúdo de ácidos graxos dos óleos de soja e mamona descritos na literatura, é possível justificar o baixo teor de CLA no leite proveniente de cabras alimentadas com 100% de substituição do farelo de soja por farelo de mamona. A concentração, aproximadamente, dez vezes maior dos ácidos graxos linoleico e linolênico no óleo de soja, em comparação ao óleo de mamona, pode ser o principal responsável pelos baixos níveis de CLA no leite proveniente de cabras

pertencentes ao grupo com 100% de substituição. Como discutido anteriormente, o CLA é produzido a partir da biohidrogenação incompleta do ácido linoleico e, principalmente, através da síntese endógena de C18:1 *trans*-11, tendo o ácido linolênico como um de seus precursores (SAVOINI et al., 2010).

Para o cálculo do índice de aterogenicidade, diferentes pesos são atribuídos para as diferentes categorias de ácidos graxos, relacionando os compostos pró e antiaterogênicos presentes no leite. Quanto mais baixo este índice, melhor é a qualidade nutricional da dieta quanto à redução do potencial de risco de incidência de doenças cardiovasculares (ULBRICHT e SOUTHGATE, 1991). De acordo com os resultados encontrados neste estudo, foi verificado um aumento estatisticamente significativo no valor do índice de aterogenicidade nos tratamentos 66,7% e 100%, em relação aos outros grupos, indicando maior potencial de provocar placas ateromatosas nos vasos sanguíneos. Tal aumento é confirmado pela redução ($P < 0,05$) dos ácidos graxos polinsaturados nos grupos com substituição pelo farelo de mamona, em relação ao grupo controle, e elevação ($P < 0,05$) no grupo com 100% de substituição.

A substituição em 100% do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado também foi responsável pela redução dos ácidos graxos desejáveis ($\hat{Y} = 34,91 - 0,04\text{FMD}$) e essenciais ($\hat{Y} = 2,45 - 0,004\text{FMD}$) no leite. Estes últimos estão diretamente relacionados com a concentração dos polinsaturados não produzidos pelo organismo humano e fundamentais para o bom funcionamento do sistema de defesa. A diminuição nas concentrações dos ácidos graxos desejáveis e essenciais está relacionada, respectivamente, à redução dos níveis de C18:0 e C18:2 *trans* n6, C18:2 *cis* n6, C18:3 n3 e C18:2 *cis*-9 *trans*-11.

A comparação entre os tratamentos com 0% e 100% de substituição pelo farelo de mamona destoxificado indicou uma redução na concentração de ácidos graxos ômega-3 ($\hat{Y} = 0,27 - 0,001\text{FMD}$) e ômega-6 ($\hat{Y} = 1,89 - 0,003\text{FMD}$). Os ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa pertencentes à família dos ômega-3 e ômega-6 têm grande importância para a saúde humana, pois desempenham função nutricional e possuem propriedade anti-inflamatória (CATTANEO et al., 2006). No entanto, tais compostos não

podem ser sintetizados pelos ruminantes já que a insaturação dos ácidos graxos não ocorre em posições superiores à do carbono 9 (COOK, 1996; MATTOS et al., 2000).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, foi observada, neste estudo, uma redução ($P < 0,05$) nos índices que indicam sabor característico e sabor estranho, no tratamento com 66,7% de substituição, em relação ao grupo controle. Os menores ($P < 0,05$) teores dos ácidos C6:0 e C8:0 podem estar relacionado a estas observações, já que Luna et al. (2008) afirmam que o sabor dos derivados lácteos caprinos é, particularmente, afetado pelo conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta e média (C6 a C10) presentes no leite. Além disso, Chilliard et al. (2003) descrevem uma forte correlação negativa existente entre a atividade das enzimas lipolíticas e a concentração de C16:0 no leite. Assim, os altos níveis de ácido palmítico identificados nos tratamentos com substituição total do farelo de soja indicam uma baixa atividade de lipases e, conseqüentemente, menor possibilidade de oxidação e off-flavor.

Tabela 5. Valores médios dos atributos sensoriais pelo teste da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) do leite de cabras alimentadas com farelo de mamona destoxificado

Variáveis	Tratamentos				CV(%)
	0%	33,3%	66,7%	100%	
Odor Característico	4,46	4,31	3,75	4,32	28,95
Odor Estranho	3,93	3,72	3,43	3,83	22,80
Sabor Característico	5,75a	5,44ab	4,93b	5,33ab	19,15
Sabor Estranho	3,96a	3,83ab	3,42b	3,83ab	19,97
Sabor Rançoso	3,42	3,03	3,24	3,10	29,56
Sabor Adocicado	4,13	4,21	4,65	4,86	27,86
Aceitação Global	6,55	6,07	6,79	6,63	18,08

A partir da avaliação físico-química, sensorial, do rendimento de queijo e do perfil de ácidos graxos do leite de cabras alimentadas com farelo de mamona destoxificado, observa-se um grande potencial de utilização deste ingrediente na alimentação animal, visando a redução dos custos relacionados à nutrição e o favorecimento da cadeia produtiva da caprinocultura leiteira. Apesar da substituição de altos níveis de farelo de soja na dieta pelo farelo de mamona não ter favorecido a produção de ácidos graxos benéficos à saúde humana, a utilização de uma fonte de proteína de baixo custo pode viabilizar

economicamente o sistema de produção de caprinos leiteiros, já que os gastos com alimentação podem representar, até 70% do custo de produção total. Além do que, diversos trabalhos na literatura demonstram que a inclusão de fontes de óleos vegetais na dieta de ruminantes, apresenta como a forma que mais altera o perfil em lipídios do leite de cabra, podendo ser uma alternativa para se acrescentar na dieta quando se trabalhar com o FMD

CONCLUSÕES

O farelo de mamona destoxificado pode substituir, em 100%, o farelo de soja na dieta de cabras leiteiras, sem alterar a qualidade físico-química, rendimento em queijo e características sensoriais do leite produzido.

A substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado, em até 33,3%, não interfere no perfil de ácidos graxos relacionado às propriedades do leite benéficas à saúde humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 15 ed. Washington D.C., 1990, 1441p.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis**. 16 ed. Gaithersburg, MD, 1998.

BAUMAN, D.E.; MATHER, I.H.; WALL, R.J.; et al. Major advances associated with the biosynthesis of milk. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1235-1243, 2006.

BLIGH, E. C., DYER, W. J. A rapid method of total lipid. Extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology** v. 37, p. 911-917, 1959.

CATTANEO, D.; DELL'ORTO, V.; VARISCO, G.; Enrichment in n-3 fatty acids of goat's colostrum and milk by maternal fish oil supplementation. **Small Ruminant Research**, v. 64, p.22-29, 2006.

- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; ROUEL, J.; LAMBERET, G. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1751-1770, 2003.
- COOK, H.W. Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. In: Vance, D.E; Vance, J. (Eds.), **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**. Elsevier, Amsterdam, p.129-152, 1996.
- FARIA, E.V.; YOTSUYANAGI, K. Técnicas de Análise Sensorial. **ITAL/LAFISE** Campinas. 116p., 2002.
- FERREIRA, V.L. ALMEIDA, T.C.A.; PETTINELLI, M.L.V. et al., Análise Sensorial - Testes Discriminativos e Afetivos, Campinas: **Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos**. 127 p. 2000.
- GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; et al. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ -desaturase. **Journal of Nutrition**, v. 130, p.2285-2291, 2000.
- HARVATINE, K.J.; BOISCLAIR, Y.R.; BAUMAN, D.E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. **Animal**, v.3, n.1, p.40-54, 2009.
- KRONFELD, D.S. Major metabolic determinants of volume, mammary efficiency and spontaneous Ketosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.11, p.2204, 1982
- LAUDADIO, V.; TUFARELLI, V. Effects of pelleted total mixed rations with different rumen degradable protein on milk yield and composition of Jonica dairy goat. **Small Ruminant Research**, v.90, p.47-52, 2010
- LUNA, P.; BACH, A.; JUÁREZ, M.; et al. Effect of a diet enriched in whole linseed and sunflower oil on goat milk fatty acid composition and conjugated linoleic acid isomer profile. **Journal of Dairy Science**. v.91, p.20-28, 2008.
- MATTOS, R.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. **Reviews of Reproduction**, v.5, p.297-311, 2000.
- MILLIS, C.; LIAMADIS, D.; ROUBIES, N. et al. Comparison of corn gluten products and a soybean-bran mixture as sources of protein for lactating Chios ewes. **Small Ruminant Research**, v. 58, p.237-244, 2005.
- MORAES, M.A.C. **Métodos de avaliação sensorial dos alimentos**. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 35p. 1985.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington, D.C.: National Academy Press. 2007. 362p.

- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6rev.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1989. 158p.
- OLIVEIRA, A.S.; OLIVEIRA, M.R.C.; CAMPOS, J.M.S.; et al. *In vitro* ruminal degradation of ricin and its effect on microbial growth. **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, p.41-54, 2010.
- OTHMANE, M.H.; FUENTE,L.F.; CARRIEDO, J.A.; et al. Heritability and genetic correlations of test day milk yield and coposition, individual laboratory cheese yield, and somatic cell count for dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2692-2698, 2002.
- RIBEIRO, A.C.; RIBEIRO, S.D.A Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, v.89, p.225-233, 2010.
- ROBB, J.G.; LABEN, R.C.; WALKER, H.G.; et al. Castor Meal in Dairy Rations. **Journal of Dairy Science**. v.57, n.4, p.443-450, 1974.
- SAHOO, B.; WALLI, T.K. Effect of feeding undegradable protein with energy on nutrient utilization, milk yield and milk composition of crossbred goats. **Small Ruminant Research**, v. 75, p. 36-42, 2008.
- SAS - **STATISTICAL ANALISYS SYSTEM**. SAS Users Guide: Statistics. Eletronic Version 6.2 Cary, USA: 1996.
- SAVOINI, G.; AGAZZI, A.; INVERNIZZI, G.; et al. Polyunsaturated fatty acids and choline in dairy goats nutrition: Production and health benefits. **Small Ruminant Research**, v. 88, p.135-144, 2010.
- SILVA, H.G.O.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F.; et al. Farelo de cacau (*Theobroma caçãõ L.*) e torta de dendê (*Elaeis guineensis, Jacq*) na alimentação de cabras em lactação: consumo e produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1786-1794, 2005.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- ULBRICHT, T.L.V; SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v.338, n.19, p.985-992, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994, 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v.74, p.3583-3597, 1991.

VASTA, V.; NUDDA, A.; CANNAS, A.; et al. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. **Animal Feed Science and Technology**. v.147, p.223-248, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento da cadeia produtiva da mamona é importante para a sustentabilidade da agropecuária do nordeste do Brasil. Essa cadeia estará completa quando todos os seus produtos e subprodutos forem utilizados nos mais diversos ramos da agroindústria e, principalmente, na nutrição animal. Para que isso ocorra, estudos precisam ser realizados para o desenvolvimento de métodos de identificação e destoxificação da ricina, em pequena e grande escala, que sejam economicamente viáveis e acessíveis, principalmente, a pequenos agricultores.

A formação de grupos de pesquisadores envolvendo a interação entre as mais diversas áreas, como tecnologia de alimentos, farmacologia, produção vegetal e nutrição animais, deve ser estimulada para que avaliações mais completas sobre o uso dos subprodutos e sobre a eficiência de métodos de destoxificação sejam realizadas.

Este trabalho demonstrou que a destoxificação do farelo de mamona pode ser feita com agente alcalino barato e de fácil adoção por pequenos produtores sem prejudicar a qualidade nutricional do farelo de mamona.

Além disso, com pequenas alterações na composição em ácidos graxos em função do perfil diferenciado do óleo de mamona em relação ao de soja, o farelo de mamona destoxificado pode substituir com segurança de uso integralmente o farelo de soja em dietas de cabras lactantes sem impactos negativos sobre produção, composição ou aceitação.

Esses resultados são devido à alta aceitabilidade das dietas, a digestibilidade da MS e o valor biológico de sua proteína. Entretanto, ressalva deve ser feita à menor digestibilidade de sua fibra, provavelmente pelo seu conteúdo de fragmentos de cascas que, no entanto, é facilmente compensada pelo maior consumo de MS quando os animais consomem dietas onde a FDN não é o principal fator limitando o consumo.

A viabilidade econômica da utilização do farelo de mamona será o fator principal para a sua escolha como alimento da dieta.

APÊNDICE

A metodologia de destoxificação do farelo de mamona realizada neste trabalho proporcionou a produção de uma patente.