



# I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

## Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

### ANÁLISE BIOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE TRATAMENTOS TÉRMICOS SOBRE A TORTA PROCESSADA DE MAMONA\*

Ana Lúcia Ponte Freitas<sup>1</sup>, Draulio Costa da Silva<sup>1</sup>, Luciano de Sousa Chaves<sup>1</sup>, Liv Soares Severino<sup>2</sup>. (1) Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Campus do Pici, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE. e-mail: pfreitas@ufc.br, drauliocosta@ig.com.br. (2) Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, 58107-720, Campina Grande, PB. e-mail: liv@cnpa.embrapa.br.

#### RESUMO

A torta de mamona, subproduto obtido a partir da utilização da planta em processos industriais, é rica em nitrogênio, razão por que vem sendo empregada como fertilizante na recuperação de solos esgotados; todavia, seu uso mais abrangente tem sofrido limitações devido à elevada toxicidade em decorrência principalmente da presença de ricina, uma toxalbumina extremamente tóxica. Avaliou-se, neste trabalho, o potencial tóxico da proteína da torta de mamona em camundongos e também a atividade hemaglutinante no extrato total aquoso, além da composição centesimal e dos efeitos do calor seco nas atividades hemaglutinante e tóxica presentes no material.

#### INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis*, L., Euphorbiaceae) é uma oleaginosa, cujo constituinte mais importante é representado pelas sementes. Praticamente, toda a produção de mamona é industrializada, com vistas à obtenção do óleo, seu produto principal, e à torta, a qual representa um composto ricamente nitrogenado, eficiente na recuperação de terras esgotadas e com elevado potencial para utilização como suplemento alimentar, após ser moído e obtido o farelo, para formulações de ração animal, porém a torta de mamona possui limitações para seu uso devido à elevada toxicidade em virtude, principalmente, da presença de ricina, uma toxalbumina de 66 KDa, extremamente tóxica, que compõem de 1% a 5% a semente de *Ricinus communis*, o que tem limitado o emprego da torta apenas como adubo orgânico.

Diversos estudos são realizados sobre as características e ação da ricina. Tal proteína é uma lectina constituída por duas porções polipeptídicas conectadas por pontes dissulfeto (OLSNES, e KOZLOV, 2001). Um desses polipeptídeos é tóxico e inibe a síntese de proteínas (NARANG *et al.*, 1997). Hoje, são bem conhecidos a estrutura e os potenciais tóxicos dessa proteína nas células de mamíferos; no entanto, dados sobre o quadro clínico-patológico da intoxicação e a dose letal em diversas espécies animais por via oral, ainda são escassos (BRITO e TOKARNIA, 1996).

A toxicidade pode ocorrer por diversas formas de administração: inalação, injeções intramuscular, endovenosa e intraperitoneal, mas, a via oral apresenta uma resposta tóxica menor em



# I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

## Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

relação às demais vias de administração, devido, possivelmente, aos processos do trato gastrointestinal.

Objetivou-se, com este trabalho, avaliar o potencial tóxico da proteína da torta de mamona em camundongos e também a atividade hemaglutinante no extrato total aquoso, além da composição centesimal e dos efeitos do calor seco nas atividades hemaglutinante e tóxica presentes no material.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes da cultivar BRS 149 Nordestina, cedidas pela Embrapa Algodão, Campina Grande, PB. Inicialmente, retirou-se o tegumento, triturando a amêndoa e, depois, extraiu-se o óleo com hexano em aparelho Soxhlet. A farinha foi então secada ao ar, sem aquecimento.

A análise centesimal dos componentes protéicos da farinha processada foi determinada segundo o método de Kjeldhal, citado pela AOAC (1990).

Extratos protéicos foram feitos com a farinha desengordurada e empregados em testes de atividade hemaglutinante e tóxica. A farinha foi mantida sob agitação para extração protéica na presença de tampão fosfato de potássio 0,01M, pH 6,8, com NaCl 0,15M, conforme descrito por WOO et al. (1998).

Os testes para detecção da atividade hemaglutinante foram realizados segundo o método descrito por AINOUIZ *et al.* (1995). Nesses testes, utilizaram-se eritrócitos de coelho em estado normal ou tratados enzimaticamente.

Os tratamentos térmicos para se avaliar a resistência da lectina de *R. communis* foram feitos com a farinha em estufa a 100°C por 1, 2, 3, 4 e 24 horas, e em chapa aquecida em forno elétrico a temperaturas de 100, 200 e 300°C durante 15, 30 e 60 minutos; em seguida, o material foi submetido a extração, conforme descrito, e avaliado quanto à presença de atividade hemaglutinante.

A avaliação da atividade tóxica foi realizada em camundongos Swiss machos, pesando entre 25 e 30g. Os animais foram separados em grupos de 4 indivíduos, injetados intraperitonealmente com diferentes doses do extrato protéico de 0,01 mg de proteína/kg de animal a 1 mg de proteína/kg de animal, e, então, observados, registrando-se o número de mortes por um período de 48 horas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato aquoso da farinha de mamona apresentou atividade hemaglutinante. Tanto eritrócitos normais como tratados com diferentes enzimas, foram fortemente aglutinados pela lectina presente na amostra, sendo os títulos de 1024 UH para eritrócitos em estado normal ou tratados com subtilisina, papaína e bromelaina e de 2048 para células tratadas com tripsina (Tabela 1). Deste modo, pode-se afirmar que o processamento da torta não inativou a proteína.



# I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

## Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

**Tabela 1.** Atividade hemaglutinante presente no extrato total da farinha de mamona

	TÍTULO DE AGLUTINAÇÃO
ERITRÓCITO NORMAL	1024
ENZIMAS	
Subtilisina	1024
Papaína	1024
Bromelaína	1024
Tripsina	2048

Tendo em vista a presença de atividade hemaglutinante no extrato, realizou-se um teste de toxicidade para determinação da DL-50 em camundongos. Conforme os dados obtidos com as doses de 0,01 mg/kg a 1 mg/kg, pode-se afirmar que a dose mínima capaz de matar 50% dos indivíduos expostos encontra-se de 0,1 a 0,5 mg de proteína/kg de animal (Tabela 2).

**Tabela 2.** Toxicidade presente no extrato aquoso de farinha de mamona

DOSE EMPREGADA (mg/kg) E NÚMERO DE INDIVÍDUOS (n)*	NÚMERO DE MORTES
0,01 (4)	-
0,05 (4)	-
0,1 (4)	1
0,5 (4)	4
?1 (4)	4

A partir dos dados, tornaram-se evidentes a elevada atividade hemaglutinante e a alta toxicidade; e a farinha processada foi, então, submetida a tratamentos térmicos sob calor seco, em diferentes intervalos de tempo e temperaturas. As amostras foram mantidas em estufa a temperatura de 100°C durante 1, 2, 3, 4 e 24 horas, e após esse período, submetidas à extração de proteínas, filtradas e empregadas na determinação da atividade hemaglutinante. Todas as amostras mantiveram atividade elevada (1024 UH) em todos os tempos testados, evidenciando-se a atividade lectínica. A desnaturação das proteínas presentes foi realizada em forno elétrico, com chapa aquecida a 100, 200 e 300°C, durante 15, 30 e 60 minutos, sob agitação ocasional; após esse tratamento, constatou-se a relação da atividade hemaglutinante (Tabela 3). Conforme os dados obtidos, a temperatura de 200°C, por 15 minutos, foi capaz de diminuir os títulos da atividade lectínica na farinha; enquanto nos períodos de 30 e 60 minutos, a atividade hemaglutinante foi totalmente extinta.



# **I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA**

**Energia e Sustentabilidade**

**23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB**



# I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

## Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

**Tabela 3.** Atividade hemaglutinante do extrato de farinha de mamona após tratamento térmico em forno elétrico

TEMPO (minutos)	TEMPERATURA (°C)	TÍTULO (UH)
15	100	1024
30	100	1024
60	100	1024
15	200	32
30	200	AUSENTE
60	200	AUSENTE
15	300	AUSENTE
30	300	AUSENTE
60	300	AUSENTE

Quanto à análise centesimal, o teor calculado de proteína total presente na amostra em estudo foi de 55,31%, aproximando-se ao resultado registrado na literatura, que é de 40% a 50% de proteína nas tortas obtidas de *Ricinus communis*.

### CONCLUSÃO

- A farinha avaliada, mantém ainda suas atividades hemaglutinante (1024 UH) e tóxica (DL-50 de 0,1 a 0,5 mg/kg em camundongos) intactas;
- A atividade lectínica foi eliminada quando a farinha foi submetida a torrefação em forno elétrico a 200°C, por 60 minutos.

\*Suporte Financeiro: UFC e Embrapa Algodão, Campina Grande, PB

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINOUZ, I.L.; SAMPAIO, A.H.; FREITAS, A.L.P.; BENEVIDES, N.M.B.; MAPURUNGA, S. Comparative study on hemagglutinins from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and *Bryothamnion triquetrum*. **R.Bras.Fisiol.Veg.7(1)**: 15-19, 1995.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry**. 15 ed. Arlington, Virginia, 1990. 683p
- BRITO, M.F.; TOKARNIA, C.H. Experimental poisoning by the ground seeds of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) in the rabbit. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 16(4): 00-00.1996.
- NARANG, U.; ANDERSON, G.P.; FRANCES, S.L.; BURANS, J. Fiber optic-based biosensor for ricin. **Biosensors & Bioelectronics**. Vol. 12 N° 9-10 pp. 937-945, 1997.
- OLSNES, S., KOZLOV, J. V. Ricin. **Toxicon** 39 1723-1728, 2001.
- WOO, B. H.; LEE, J.T.; LEE, K.C. Purification of Sepharose-Unbinding Ricin from Castor Beans



# I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

## Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

(*Ricinus communis*) by Hydroxyapatite Chromatography. **Protein Expression and Purification**. 13, 150-154, 1998.