



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CAMPUS DE SOBRAL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E SUBCRÔNICA DA TORTA E FARELO DE
MAMONA DESTOXIFICADOS EM RATOS**

SOBRAL – CE

2023

THAIANE VASCONCELOS CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E SUBCRÔNICA DA TORTA E FARELO DE
MAMONA DESTOXIFICADOS EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará - UFC *campus* Sobral como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar.

Coorientadora: Profa. Dra. Hévila Oliveira Salles.

SOBRAL - CE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C329a Carvalho, Thaiane Vasconcelos.

Avaliação da toxicidade aguda e subcrônica da torta e farelo de mamona destoxificados em ratos / Thaiane Vasconcelos Carvalho. – 2026.
57 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2026.

Orientação: Profa. Dra. Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar.

Coorientação: Profa. Dra. Hévila Oliveira Salles.

1. Ricinus communis. 2. Toxicidade Aguda. 3. Testes de Toxicidade Subcrônica. I. Título.

CDD 660.6

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a meu pai, Carlos Antônio Vasconcelos Carvalho (*in memoriam*), que sonhou comigo esse título, mas que durante o percurso partiu abruptamente da sua própria vida e das nossas vidas, deixando uma grande lacuna, ora preenchida pelas dúvidas e questionamentos, ora pela saudade que não cessa. Mas que consumida por seu exemplo ímpeto de viver, me fez encarar este desafio até o fim.

À minha avó, professora Maria Neuma Vasconcelos Carvalho, exemplo de cidadã, educadora e missionária, que muito se alegra e vibra com esta conquista em minha jornada acadêmica.

À minha mãe, Maria Cheila de Vasconcelos Carvalho, a maior acreditadora do meu potencial, pela força, orações e confiança.

Agradeço a Deus por me manter consciente de minhas qualidades e não me deixar escapar do seu amor, que vence toda e qualquer batalha.

Gratidão à Bárbara, minha “IC” e anjo do laboratório, que me auxiliou copiosamente em todas as atividades deste trabalho, agradeço em nome de todos os estudantes que contribuíram para a realização deste feito.

À professora, orientadora dra. Lissiana Magna, toda a minha admiração pela inteligência, sensatez, serenidade, respeito, e sobretudo demasiada compreensão.

À professora dra. Hévila pela disposição em compartilhar seus conhecimentos e contribuir com a concretização deste trabalho.

À Alana, médica veterinária, e ao professor Anderson Weyne, que estiveram sempre disponíveis para a orientação quanto ao manejo dos animais e processamentos histopatológicos.

Às minhas amigas Arkila e Anne, em nome de todos os meus amigos que indireta ou diretamente participaram deste trabalho comigo, seja a me acompanhar em visitas ao laboratório, ou ouvir minhas lamentações.

À EMBRAPA pelo incentivo e apoio financeiro.

Em memória de todos os animais sacrificados para que a realização deste trabalho fosse possível, vocês me renderam lágrimas, e confesso que dei o melhor de mim para mantê-los sem sofrimento.

RESUMO

Este estudo buscou avaliar a toxicidade aguda e subcrônica dos subprodutos do *Ricinus communis* (mamona) dextoxificada por CaO e do farelo da mamona dessolventizado em ratos *Wistar* fêmeas e machos, a fim de verificar sua viabilidade como ração animal. O farelo e a torta da mamona destoxificados foram fornecidos pela EMBRAPA. Foi realizado o processamento desses subprodutos, a fim de extrair as proteínas solúveis para realizar o tratamento. Foram utilizados ratos *Wistar* (150g), machos e fêmeas. Foi realizado teste de toxicidade aguda (2.000 mg/kg) nas fêmeas, conforme o protocolo da OECD 423. Realizou-se testes subcrônicos em machos e fêmeas divididos em grupos controle (NaCl 0,9 %) e subcrônicos (5, 50 e 300 mg/kg de farelo e torta da mamona), conforme OECD 407. Foi avaliado o peso ponderal, screening hipocrático, AST, ALT, Ureia, Creatinina de todos os animais e Hemograma completo dos machos. Os resultados mostraram que a taxa de sobrevivência foi de 94,56 %, com ganho de peso gradual, sem diferenças significativas entre os grupos. Não foram observadas alterações significativas na avaliação do screening hipocrático. Com relação às avaliações bioquímicas e hematológicas, observou-se que níveis de AST em fêmeas tratadas com o farelo aumentaram no grupo agudo ($P < 0,0172$) comparado ao grupo controle e com os tratamentos subcrônicos: 5 mg/kg ($P < 0,0001$), 50 mg/kg ($P < 0,0006$) e 300 mg/kg ($P < 0,0001$). Nas fêmeas tratadas com a torta, AST aumentou no grupo agudo quando comparadas ao grupo controle ($P < 0,0002$) e também em relação aos subcrônicos, 5 mg/kg ($P < 0,0001$), 50 mg/kg ($P < 0,0001$) e 300 mg/kg ($P < 0,0001$), resultado semelhante foi obtido com o ALT do grupo agudo (63.3 ± 10.4), que aumentou quando comparado ao grupo controle ($P < 0,0016$). A Ureia em fêmeas tratadas com o farelo agudo (2000 mg/kg) apresentou aumento quando comparado ao grupo controle ($P < 0,0001$) e com os tratamentos subcrônicos. Não foram observadas alterações significativas nos parâmetros hematológicos dos grupos tratados com torta ou farelo quando comparados ao grupo controle. As alterações observadas nos animais tratados, embora significativas em comparação com os animais controles, não ultrapassaram os níveis de referência, portanto, não demonstrando toxicidade dos compostos torta e farelo destoxificados, nas doses e tratamentos agudo e subcrônico testados.

Palavras-chave: *Ricinus communis*; Toxicidade Aguda; Testes De Toxicidade Subcrônica.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the acute and subchronic toxicity of the by-products of *Ricinus communis* (castor oil plant) detoxified by CaO and the desolventized castor oil plant bran in female and male Wistar rats, in order to verify their viability as animal feed. The detoxified castor bran and castor cake were supplied by EMBRAPA. The processing of these by-products was performed in order to extract the soluble proteins to perform the treatment. Wistar rats (150g), male and female, were used. Acute toxicity test (2,000 mg/kg) was performed in females, according to OECD 423 protocol. Subchronic tests were performed in males and females divided in control (NaCl 0.9%) and subchronic groups (5, 50 and 300 mg/kg of castor meal and castor cake), according to OECD 407. Weight, hypocratic screening, AST, ALT, Urea, Creatinine of all animals and complete blood count of males were evaluated. The results showed that the survival rate was 94.56 %, with gradual weight gain, without significant differences between the groups. No significant changes were observed in the evaluation of the hypocratic screening. Regarding biochemical and hematological evaluations, it was observed that AST levels in females treated with the bran increased in the acute group ($P < 0.0172$) compared to the control group and with the subchronic treatments: 5 mg/kg ($P < 0.0001$), 50 mg/kg ($P < 0.0006$) and 300 mg/kg ($P < 0.0001$). In females treated with the pie, AST increased in the acute group when compared to the control group ($P < 0.0002$) and also in relation to the subchronic, 5 mg/kg ($P < 0.0001$), 50 mg/kg ($P < 0.0001$) and 300 mg/kg ($P < 0.0001$), similar result was obtained with ALT in the acute group (63.3 ± 10.4), which increased when compared to the control group ($P < 0.0016$). Urea in females treated with the acute bran (2000 mg/kg) showed an increase when compared to the control group ($P < 0.0001$) and with the subchronic treatments. No significant changes were observed in hematological parameters in the pie or bran treated groups when compared to the control group. The changes observed in the treated animals, although significant compared to the control animals, did not exceed the reference levels, thus not demonstrating toxicity of the detoxified cake and bran compounds, at the doses and acute and subchronic treatments tested.

Keywords: *Ricinus communis*; Acute Toxicity; Subchronic Toxicity.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1Esquema utilizado para avaliação do *screening hipocrático*, onde os números 1 a 5 indicam a quantidade de animais acometidos pelas alterações comportamentais estudadas.
- Tabela 2 Taxa de sobrevida e alterações comportamentais em ratos *Wistar* F (fêmeas) e M (machos) tratados com F (farelo) e T (torta), nas fases aguda (2.000 mg/kg) e subcrônica (Sub.), nas doses de 5, 50 e 300 mg/kg ao longo dos 14 D (fase aguda) e 28 D (dias) de tratamento. Os valores correspondem à análise dos 184 animais do experimento.
- Tabela 3 Peso em gramas (g) a cada semana, de ratas fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
- Tabela 4 Peso em gramas (g) a cada semana, de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
- Tabela 5 Peso em gramas (g) a cada semana, de ratas fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg) e subcrônicos 5 mg/kg, 50

mg/kg e 300 mg/kg.

Tabela 6	Peso em gramas (g) a cada semana, de ratos machos da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 7	Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos fêmeas da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 8	Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos machos da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 9	Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos fêmeas da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 10	Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos machos da linhagem <i>Wistar</i> , na fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 11	Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos fêmeas da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg. Os valores correspondem à análise das medidas efetuadas em animais.

Tabela 12	Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos machos da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 13	Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos fêmeas da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 14	Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos machos da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 15	Parâmetros Hematológicos de ratos machos da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle, 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.
Tabela 16	Parâmetros Hematológicos de ratos machos da linhagem <i>Wistar</i> , da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.....Folhas de *Ricinus communis* L. (mamona).
- Figura 2.....*Ricinus communis* L. (mamona) e porte arbóreo.
- Figura 3.....Frutos da *Ricinus communis* L (mamona).
- Figura 4.....Linha do tempo do teste de toxicidade aguda e subcrônica em ratos Wistar fêmeas e machos durante a administração das soluções de torta e farelo da mamona destoxificados.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Fases e soluções administradas durante a execução dos protocolos experimentais.
----------------	---

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Aminotransferase de aspartate
ALT	Aminotransferase de alanina
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico pirúvica
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
RCA I	<i>Ricinius communis</i> aglutinina I
RCA II	<i>Ricinius communis</i> aglutinina II
RNA	Ácido ribonucleico
Ca(OH) ₂	Hidróxido de cálcio
NaOH	Hidróxido de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
CaO	Óxido de cálcio
Cu	Cobre
Pb	Chumbo
Hg	Mercúrio

Cd	Cádmio
As	Arsênio
DL50	Dose letal mediana
Cb1A	<i>Castor Beans</i> 1 ^a
Ric C1	Albumina alergênica da Ricina C1
Ric C3	Albumina alergênica da Ricina C3
D.P.	Desvio padrão
VCM	Volume corpuscular médio
HCM	Hemoglobina corpuscular média
CHCM	Concentração da hemoglobina corpuscular média
Sub. F.	Subcrônico Farelo
Sub. T.	Subcrônico Torta
A	Animal
D.	Dias
F	Fêmea
M	Macho
OECD	Organização para a cooperação de desenvolvimento econômico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1	Ricinus communis L.....	19
2.2	Toxicidade e alergenicidade da mamona.....	22
2.3	Subprodutos da mamona na alimentação animal.....	24
2.4	Torta e farelo da mamona na alimentação animal	24
3	OBJETIVOS	26
a.	Objetivo Geral	26
b.	Objetivos Específicos	26
4	METODOLOGIA.....	27
4.1	Desenho do estudo e aspectos éticos	27
4.2	Animais.....	27
4.3	Destoxificação do farelo e torta da mamona	27
4.4	Extração de proteínas solúveis presentes na torta e farelo da mamona	28
4.5	Eutanásia	29
4.6	Delineamento experimental	29
4.7	Estudos de toxicidade	29
4.8	Observação dos sinais de toxicidade (<i>Screening</i> hipocrático)	30
4.9	Avaliação do peso ponderal	31
4.10	Método de Coleta e Análise.....	32
4.11	Análise estatística.....	32
5	RESULTADOS	33
5.1	Testes de toxicidade aguda e subcrônica	33
5.2	Taxa de sobrevivência dos animais e alterações comportamentais.....	33
5.3	Peso ponderal dos animais	35
5.4	Níveis séricos de enzimas hepáticas.....	39
5.5	Níveis séricos de Ureia e Creatinina.....	43
5.6	Parâmetros hematológicos	46
6	DISCUSSÃO	50
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
	REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

Com a significativa poluição atmosférica advinda das fontes naturais não renováveis como o carvão vegetal, petróleo e gás natural e a crescente preocupação ambiental em todo o mundo, surgiu a necessidade de buscar novas alternativas eficientes e sustentáveis para prover energia. Assim, iniciaram-se a produção de biocombustíveis como biodiesel e bio-óleo, a partir de fontes naturais renováveis, menos prejudiciais ao meio ambiente (Lourenço et al., 2012).

Dessa forma, com a ampliação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), a produção de biodiesel vem contribuindo com a promoção e redução das desigualdades sociais e progresso econômico, tecnológico e industrial (Melo, 2018). O Brasil por sua vez, com condições favoráveis de clima e solo, possui um grande potencial para a produção de biomassa, principalmente de gorduras e óleos vegetais e vem explorando a cultura da mamoneira desde o início dos anos 2000 (Severino *et al.*, 2021).

Nesse sentido, o cultivo de oleaginosas como combustível renovável tem-se expandido, favorecendo a tecnologia limpa. As principais fontes exploradas são: soja, milho, girassol, amendoim, algodão, canola, mamona, babaçu, palma (dendê) e macaúba (Embrapa, 2020).

A Mamona, da espécie *Ricinus communis* L. e família *Euphorbiaceae*, tem caráter arbustivo e de fácil cultivo. É amplamente distribuída em todas as regiões temperadas do mundo, cultivada devido a sua fácil adaptação aos variados climas (Sogan, et al, 2018). No Brasil, seu maior cultivo prevalece no semiárido nordestino, o qual possui período chuvoso espaçado e altas temperaturas. Sua matéria prima é a semente, com características oleaginosas e de alta estabilidade frente aos estressores abióticos (Sousa, 2017).

O óleo contido nas sementes da mamona é o produto de maior interesse econômico atual, e dentro da sua cadeia de produção há obtenção de resíduos citotóxicos, a torta e o farelo da mamona, que representam cerca da metade do peso total da semente após o processamento (Rocha, 2022). Esses resíduos podem ser utilizados na produção de adubo, devido sua alta concentração de fósforo e cálcio, além de possuírem um alto teor de proteínas, classificando-os como um potencial atrativo

para a alimentação animal, após o processo de desintoxicação para inativação dos fatores tóxicos e alergênicos (Silva et al., 2018; Araújo et al., 2020).

Assim, a mamona possui três compostos tóxicos: *Ricinius communis* aglutinina II (RCA II), uma glicoproteína inativadora de ribossomos, mais letal, representando 1,5

% da torta de mamona; o alcaloide Ricinina; e o fator alergênico *Ricinius communis* aglutinina I (RCA I), impedindo seu pleno uso na alimentação animal (Silva et al., 2010; Dang e Van Damme, 2015). Estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que a RCAII, além da síntese proteica, provoca também estresse oxidativo, liberando espécies reativas de oxigênio que resultam em morte celular (Suntres; Stone; Smith, 2005).

Dentre os principais sinais clínicos de intoxicação causados por esses compostos tóxicos, temos: irritação gastrointestinal, êmese, diarreia sanguinolenta e dor abdominal, além de efeitos nefrotóxicos e hepatotóxicos, distúrbios cardíacos, desidratação, letargia, convulsões e morte. Como a semente precisa ser triturada para liberação do seu resíduo tóxico, a ingestão da torta e farelo pode ser ainda mais perigosa (Albretsen; Gwaltnei-Brant; Kahn, 2000; Hong et al., 2011; Fonseca, 2014).

Contudo, tem-se intensificado os meios de destoxificação do farelo e da torta de mamona, através de três processos distintos: O processo físico, sob autoclavagem; o melhoramento genético, a partir do silenciamento gênico por meio da técnica de RNA Interferente; e o processo químico, que consiste no uso de soluções de hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) e hidróxido de sódio (NaOH), para eliminação das lectinas (Anandan et al., 2005; Sousa, 2017; Araújo, 2019).

Estudos com animais não ruminantes como pintos, poedeiras, suínos e ovinos utilizando a torta e o farelo destoxificados como alimento foram realizados, demonstrando que embora haja alguns prejuízos ao animal, não se deve à Ricina e ao processo de destoxificação, mas à carência de aminoácidos, que podem ser adicionados à torta de mamona. Já o uso do resíduo destoxificado em substituição ao farelo de soja em ovinos de diferentes raças foi bem sucedido e sem danos (Santos et al., 2013; Bueno, et al., 2014; Duarte et al., 2014; Pompeu et al., 2020).

Apesar de ainda apresentar um fator alérgeno no manuseio, a mamona tem um grande potencial futuro como alimento para animais de criação (Akande et al, 2015).

Desse modo, torna-se necessário o estudo toxicológico de seus efeitos, através de testes de toxicidade aguda e subcrônica *in vivo*, induzidas em ambiente laboratorial em ratos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Ricinus communis* L.

A mamona, *Ricinus communis* L. (Figura 1), pertencente à família *Euphorbiaceae*, é um arbusto perene exótico não comestível, de crescimento rápido em climas tropicais, adaptando-se às diversas condições ambientais, mesmo em locais com uma baixa necessidade de recursos (Hu et al. 2016; Rodrigues *et al.*, 2020).

Figura 1: Folhas da *Ricinus communis* L. (mamona)



Fonte: Própria autora.

Sua denominação varia de forma genérica de acordo com o território geográfico onde é cultivada, recebendo também os nomes de carrapateira, mamoneira, rícino, bojeira ou palma-de-cristo (Milani, 2020; Puthur, 2020). É uma planta medicinal com importância cultural e comercial em todo o mundo, inclusive no Brasil (Rissato et al., 2015; Gad-El Kareem et al., 2017).

Os principais países cultivadores da mamona são Índia, China, Moçambique e Brasil, respectivamente. No Brasil, o estado da Bahia, na região Nordeste, é responsável por 80 % da área cultivada, e consequentemente, pela maior produção. O total de

hectares plantados chega a 46,6 mil em todo o território nacional, com uma produção em média de 30,6 mil toneladas de grãos a cada safra (Fao, 2018; CONAB, 2019).

Quanto às características botânicas, a *Ricinus communis* é uma árvore de madeira macia que apresenta ampla fenotipagem, com diversas variações encontradas, especialmente em relação ao tamanho, podendo existir desde tipos botânicos de porte baixo ou arbóreo (Figura 2) (Rodrigues et al., 2020; Milani, 2020).

Figura 2: *Ricinus communis* L. (mamona) de porte arbóreo



Fonte: Própria autora.

Suas folhas são grandes, medindo aproximadamente, 15 a 30 cm de largura. Possui flores em racemos terminais onde se formam os frutos, que tem características de cápsulas espinhosas, triloculares, com sementes em cada lóculo (Fonseca; Soto-Blanco, 2014).

Figura 3: Frutos da mamona



Fonte: Própria autora.

Com a característica de acumuladora de metais pesados, a mamona passou a ser agregada a serviços ecológicos e bioeconômicos por sua capacidade de se desenvolver em solos extremamente poluídos, atuando como uma fitorremediação, pois a mesma retém, com diferentes mecanismos, os íons metálicos tóxicos e metais pesados como Cobre (Cu), Chumbo (Pb), Mercúrio (Hg), Cádmio (Cd) e Arsênio (As) presentes nos solos poluídos, contribuindo para a revegetação de terras contaminadas (Abdelsalam et al., 2019; Palanivel et al., 2020; Sharma, 2021).

As sementes dessa espécie produzem o óleo de rícino, matéria-prima com grande aplicabilidade no mercado, como material industrial para produção de tecidos, corantes, adesivos, fios, nylon e espumas plásticas, tintas, alimentos, além de produtos cosméticos e farmacêuticos (Severino et al, 2012; Rissato et al., 2015).

A comercialização do óleo da mamona no mercado internacional é crescente, visto que o mesmo possui mais de 700 aplicações diferentes na indústria, podendo também substituir os petroquímicos na fabricação de diversos materiais derivados como resinas, polímeros, plásticos e lubrificantes (Mohamed et al., 2015).

Além disso, a mamona vem sendo utilizada na medicina tradicional a mais de 4.000 anos, apresentando propriedades medicinais bem documentadas na literatura, aplicada como um agente terapêutico para inúmeros sintomas, tais como: alívio de dores e constipação gastrointestinais, hepatoproteção, anti-inflamatório, diurético, anticancerígeno, inseticida e hipoglicemiante com a ingestão do óleo, aumento da produção de leite em vacas com o consumo das folhas, e a infusão das folhas possui propriedades antifúngicas, larvicidas e antimicrobianas (Abdul et al, 2018; Sogan et al., 2018; Elkousy et al., 2021).

2.2 Toxicidade e alergenicidade da mamona

Apesar de ser um produto natural, a *Ricinus communis* apresenta inúmeros fatores antinutricionais como compostos alergênicos e lectinas citotóxicas, destacando-se a *Ricinius communis* aglutinina II (RCA II) - ricina; o alcaloide Ricinina; e o fator alergênico *Ricinius communis* aglutinina I (RCA I). E já que possui um amplo uso, conhecer o perfil de toxicidade é essencial para garantir o consumo da mesma com segurança e sem maiores riscos (Andrade, 2015; Abbas et al., 2018).

Além das diversas atividades biológicas, a *Ricinus communis* é conhecida por conter um agente causador de intoxicações em humanos e animais, atribuídos principalmente à lectina ricina (Worbs et al., 2011). Subproduto da produção de óleo de mamona, a toxina ricina é uma das moléculas mais potentes e letais conhecidas, tendo uma produção em massa acima de um milhão de toneladas por ano. Em tempos de guerra foi utilizada como arma biológica, visto todo o seu potencial em causar intoxicação de maneira fácil, especialmente quando dispersa por aerossóis (Toxins, 2019).

Por ser quimicamente estável, a ricina pode ser armazenada sem refrigeração, e sua facilidade de extração e disponibilidade, viabilizam seu uso como arma biológica (Pelat et al., 2009; Pincus et al., 2011; Pereira, 2020). Estudos apontam que desde 1.500 a.C., no antigo Egito, há vestígios e relatos do uso da mamona como veneno, além da descrição de suas demais propriedades biológicas (d'Errico et al., 2012; Toxins, 2023).

Várias utilizações da ricina como arma biológica foram relatadas ao longo dos anos, como na Segunda Guerra Mundial, pelos Estados Unidos e Reino Unido. Em 1978 seu uso como arma ganhou notoriedade pelo assassinato de Georgi Markov, um dissidente búlgaro em Londres. Há relatos da produção da toxina pelo Iraque na Guerra do Golfo e também pela França, em 2003. Entre 2004 e 2018, cartas e encomendas contendo a substância ricina foram enviadas a senadores e presidentes dos EUA (BBC News, 2023). Vale salientar que a ricina é uma proteína solúvel em água, sendo assim, não é utilizada para o óleo de rícino, esse então é considerado seguro.

A ricina é uma ribotoxina, pertencente ao grupo de proteínas inativadoras de ribossomos do tipo II, presente principalmente no endosperma das sementes de *Ricinus communis*, mas também em outras partes da planta, tendo capacidade de inativar os

ribossomos. (Worbs et al., 2011; Fonseca; Soto-Blanco, 2014; Abbas et al., 2018).

Seu mecanismo tóxico é decorrente de sua ligação com glicoproteínas e glicolipídeos presentes na membrana plasmática das células, provocando endocitose da molécula de ricina para o meio intracelular, sendo transferida através de transporte vesicular até o complexo de Golgi, seguindo para o retículo endoplasmático. Após isso, a ricina é translocada para o citosol, adquire uma estrutura enzimaticamente ativa, responsável por inativar até 1.500 ribossomos por minuto, inibindo a síntese proteica, e consequentemente, causando a morte celular (Hoffman, et al., 2007; FFUP, 2014; CETOX UFC, 2023; Hayoun, 2023).

Por possuir uma absorção lenta, os sintomas clínicos de intoxicação da ricina podem surgir em até 24 horas após exposição (inalação, ingestão oral ou injeção), a dose letal inalatória (DL50) é de 3 a 5 µg/kg, enquanto a DL50 oral é de 20 mg/kg, sendo a via inalatória a mais letal (4 a 8 horas após exposição), provocando náuseas, vômitos, diarreia, hematêmese, melena, necrose tecidual gerando lesões no fígado, rins e baço, convulsões, choque, edema pulmonar, falência de órgãos, depressão respiratória e morte (Chen e Lim, 2008; Hayoun, 2023).

A ricinina por sua vez, é um alcaloide venenoso, apresentando uma toxicidade de 19 a 20 mg/kg em ratos. Os principais sintomas de envenenamento por essa toxina são êmese, dores abdominais, melena e diarreia, taquicardia, convulsões e morte (Leite et al., 2005). No entanto, suas concentrações podem variar nas diferentes partes da mamoneira: cerca de 0,03 % no endosperma da semente e 0,15 % na casca da semente (Moshkin, 1986).

Coulson e colaboradores (1960) já descreveram que a torta da mamona possui um teor alergênico, causado pelo CB1A (*“Castor Beans”*, semente da mamona em inglês). A mamona ainda possui albuminas alergênicas Ric c1 e Ric c3, presentes nas sementes e responsáveis pela doação de nitrogênio e enxofre durante a germinação (Pomés, 2008). Os alérgenos da planta caracterizam-se como proteínas defensivas e de armazenamento, como um mecanismo de resistência aos estresses bióticos e com grande capacidade de provocar alergias em animais sensíveis.

2.3 Subprodutos da mamona na alimentação animal

O óleo da mamona é o principal produto de interesse industrial, e durante sua extração, são gerados subprodutos potencialmente exploráveis: a torta e o farelo, apontados como uma alternativa para a alimentação animal.

A torta é obtida a partir da extração do óleo durante o processamento mecânico da mamona, com auxílio de prensas e caracteriza-se por ter uma maior proporção de óleo residual. Já o farelo, que é obtido durante a extração com solventes, contém menor teor de óleo e maior teor de proteína bruta, tornando esse tipo de extração mais atraente para as indústrias (Lira et al., 2013; Porto Júnior, 2015; Rocha, 2022).

O hexano é atualmente, o solvente mais utilizado para a extração de óleos vegetais em escala industrial, pois o mesmo passa pelo processo de destilação, sendo condensado e reutilizado ao final do processo (Ozório-Gonzales et al., 2020).

No entanto, como a ricina não é solúvel em lipídios, o processo de extração do óleo resulta na torta ou farelo com concentrações elevadas da mesma (Medeiros et al., 2015; Santos, et al., 2018; Jesus Filho et al., 2019). Assim, apesar da alta composição proteica desses subprodutos, a presença de compostos tóxicos e alergênicos faz-se necessário um tratamento prévio, para então o alimento tornar-se desprovido de toxinas e seguro para os animais.

2.4 Torta e farelo da mamona na alimentação animal

Um dos maiores desafios da indústria agropecuária está relacionado à alimentação animal, visto que, agregam alto valor, pois exige alimentos nobres, como a soja e o milho (Rocha, 2022).

Dessa maneira, a busca da indústria pela redução nos custos com alimentação animal é constante, e uma das possíveis soluções é agregar ou até mesmo substituir a alimentação animal comum por subprodutos obtidos em larga escala, e até mesmo desperdiçados no meio ambiente, como a torta e o farelo da mamona.

O alto teor de proteína bruta e nitrogênio dos subprodutos da mamona são fatores atraentes para o seu emprego na alimentação animal. De acordo com Beltrão (2003), o farelo da mamona ainda apresenta 45 % de proteína bruta após a extração do óleo, no entanto, possuem em sua composição os ácidos ricinoleico, oleico, linoleico e

linolênico, necessitando de estudos para avaliar o comportamento dessas substâncias nos organismos dos animais (Araújo et al., 2021).

A torta da mamona é um alimento proteico-energético de boa digestibilidade, e quando destoxificada, possui um alto teor de fibras, chegando a 40 % (Severino, 2006; Dang & Van Damme, 2015). Sua forma *in natura* tem um efeito positivo no controle de parasitas gastrintestinais em ovinos a pasto (Maranguape et al., 2020).

Diversos métodos de destoxificação para a torta e farelo da mamona são descritos na literatura, tais como: meios físicos (calor e pressão), químicos (substâncias como ureia, amônia, hexano, fosfatos, sais, dentre outros), biotecnológicos (através de microorganismos e genética), e até utilizando a combinação de um ou mais métodos (Akanke et al., 2015).

A torta da mamona destoxificada por processo de autoclavagem apresentou um bom desempenho como um substituto parcial de outras fontes proteicas de origem vegetal na produção de ração para tilápias do Nilo, não havendo comprometimento da água dos peixes, além de ser economicamente viável no custo final da produção da ração (Silva, 2010).

Andrade e colaboradores (2019) verificaram através de ensaios de hemaglutinação com eritrócitos de coelho, que a destoxificação da torta e farelo de mamona com hidróxido de sódio (NaOH) e óxido de cálcio (CaO) são completamente eficientes.

Já Menezes (2022), apresentou em seu estudo que a utilização da torta de mamona destoxificada por óxido de cálcio (CaO) em substituição ao farelo de soja na dieta de ovinos reduziu a digestibilidade e ganho de peso dos mesmos, porém não apresentou alterações hepáticas ou renais.

Como supracitado, embora várias espécies animais tenham comportamentos distintos e variáveis na intoxicação por mamona, onde as poedeiras são mais resistentes, os suínos, bovinos e ovinos são intermediários, e os equinos e cães são mais vulneráveis (Garland; Bailey, 2006; Alexander et al., 2008; Botha; Penrith, 2009; Tokarnia et al., 2012; Pompeu, 2020; Nogueira, 2021; Rocha, 2022), há uma necessidade de estudos toxicológicos agudos e subcrônicos que possam viabilizar o uso dessa fonte nutricional promissora, que se elucidada, favorecerá também na redução da poluição ambiental através do reaproveitamento dos excedentes da mamona como alimentação animal.

3 OBJETIVOS

a. Objetivo Geral

Realizar teste de toxicidade aguda e subcrônica dos resíduos das sementes de mamona (*Ricinus communis* L.): farelo e torta, gerados após extração do óleo, e submetidos, respectivamente ao tratamento térmico ou alcalino com óxido de cálcio (CaO).

b. Objetivos Específicos

- a) Observar as alterações comportamentais e sinais de toxicidade aguda e subcrônica após 28 dias de administração do farelo e torta de *Ricinus communis* L. (mamona), através do *screening* hipocrático;
- b) Analisar a segurança pré-clínica da administração do farelo e torta de *Ricinus communis* L. (mamona) em ratos *Wistar* durante 28 dias através das dosagens séricas de aminotransferase de aspartate (AST), aminotransferase de alanine (ALT) e metabólitos renais (ureia e creatinina);
- c) Analisar a segurança pré-clínica da administração do farelo e torta de *Ricinus communis* L. (mamona) em ratos *Wistar* durante 28 dias através de análises do hemograma completo.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo e aspectos éticos

Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado, controlado, utilizando modelos animais.

O protocolo experimental seguiu os preceitos da Lei nº 11.79, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e os princípios da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais Para Fins Científicos e Didáticos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). Para realização deste estudo, o mesmo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) (Protocolo n° 06/19) da Universidade Federal do Ceará-Campus Sobral. Foram realizados todos os meios possíveis para minimizar o número e o sofrimento dos animais utilizados.

4.2 Animais

Segundo a OECD 423, que discorre sobre os métodos de estudos de toxicidade aguda, e OECD 407, que trata dos estudos de toxicidade subcrônica, embora outros animais possam ser utilizados, o rato é o animal preferencialmente utilizado nesse tipo de estudo (OECD, 2008).

Portanto, foram utilizados 184 ratos *Wistar*, machos e fêmeas (200-300 g), em proporção de 1:1, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC) e alocados no Biotério de experimentação da Faculdade de Medicina de Sobral. Os animais foram alojados em gaiolas de polietileno, em sala com temperatura controlada ($23^{\circ}\text{C} \pm 2$), obedecendo aos ciclos claro e escuro (de 12 em 12 horas) com água e comida *ad libitum*.

4.3 Destoxificação do farelo e torta da mamona

O farelo e a torta de mamona dextoxificados utilizados no experimento foram fornecidos pela Empresa Brasileira de Caprinos e Ovinos (Embrapa).

A torta de mamona foi destoxificada com óxido de cálcio (CaO) na concentração de 90 g por quilograma de torta, diluídos em 2.500 mL de água (Andrade et al., 2019), sendo essa mistura homogeneizada periodicamente, a cada trinta minutos, durante oito horas, com o auxílio de uma betoneira equipada com motor trifásico. Após

repousar ao longo do período de 18 horas, o material foi posto sobre lona plástica para secar ao sol, sob incidência direta da luz solar (Araújo et al. 2020). Em seguida, após secagem, a mamona foi moída em trituradora de forragem e, em seguida, em moinho com peneira de malha de 0,5 mm.

Já o farelo da mamona foi obtido pelo processamento normal de extração do óleo da mamona, que consiste em: passagem do material por peneira para retirada de galhos e areia, depois de peneirado, o material foi aquecido a 100-110 °C por 1h a 1h30min, prensado em prensa extrusora (Pompeu, 2020).

Logo após, realizou-se a extração com solvente hexano a 60°, por 2h30min, e por fim, a dessolventização (evaporação do solvente) a 100 °C a 110 °C por duas horas. Para obter a dieta experimental, o farelo foi submetido à peneiramento prévio em peneira com orifícios de 0,5 mm, a fim de obter um maior teor de proteína bruta do animal (Pompeu, 2020).

A torta e o farelo foram administrados por via gavagem orogástrica na forma de solução aquosa, tendo o NaCl 0,9 % como veículo. Em todos os testes haverá um grupo controle, tratado apenas com o veículo. As administrações ocorreram diariamente, sempre no mesmo horário (06:00h às 07:00h A.M.), realizados pela própria autora da pesquisa.

4.4 Extração de proteínas solúveis presentes na torta e farelo da mamona

Para obtenção das proteínas solúveis e solução a ser administrada nos animais, a torta e o farelo da mamona finamente moídos foram diluídos em solução de NaCl 0,15 M (0,9 %) na proporção: 10 gramas de peso X 30 mL de volume. Em seguida o material foi mantido sob agitação por 1 h, e posteriormente centrifugado a $10.000 \times g$ a 4 ° C por 30 min, e o sobrenadante filtrado através de um papel de filtro quantitativo, gerando o extrato protéico, armazenado sob refrigeração de 2 – 8 graus (ANDRADE et al., 2019). Os extratos eram preparados semanalmente e retirados da refrigeração por 30 minutos antes de iniciar a administração nos animais.

4.5 Eutanásia

Foi realizada logo após a coleta de sangue por punção cardíaca com o animal profundamente anestesiado, utilizando-se 75 mg/kg cetamina + 10 mg/kg xilazina intraperitoneal. O animal morre por hipovolemia.

4.6 Delineamento experimental

Foram utilizados 184 animais, divididos em duas etapas do experimento. Em cada etapa, utilizou-se 03 fêmeas para os testes de toxicidade aguda do farelo e da torta da mamona (dose de 2.000 mg/kg). Para a fase subcrônica, foram elencados 06 fêmeas em cada grupo, nos seguintes grupos: controle (NaCl 0,9 %), subcrônico torta 5 mg/kg, subcrônico torta 50 mg/kg, e subcrônico torta 300 mg/kg, totalizando 04 grupos. Os mesmos foram divididos também para os machos, e para os testes com o farelo da mamona, na mesma proporção, conforme Quadro 1. Os animais serão tratados via gavagem, e o tempo de tratamento está retratado na Figura 4.

Quadro 1 – Fases e soluções administradas durante a execução dos protocolos experimentais.

Experimentais.				
FASES	SOLUÇÃO ADMINISTRADA	DOSE (mg/kg)	Nº DE ANIMAIS	
			Macho	Fêmea
Aguda	Solução Salina – NaCl 0,9%	-	0	4
	Torta da mamona destoxificada	2.000	0	2
	Farelo de mamona dessolventizado	2.000	0	2
Subcrônica	Solução Salina – NaCl 0,9%	-	18	14
	Torta da mamona destoxificada	5	12	09
		50	12	09
		300	12	09
	Farelo de mamona dessolventizado	50	12	15
		50	12	15
		300	12	15
SUBTOTAL			90	92
TOTAL			184	

Fonte: Própria autora.

4.7 Estudos de toxicidade

Os estudos de toxicidade aguda foram realizados conforme as diretrizes da OECD 423, onde foram observadas as alterações comportamentais durante quinze minutos,

trinta minutos, uma hora, duas horas, três horas, seis horas, doze horas e 24 horas após a administração dos tratamentos. Depois deste período, a observação ocorreu todos os dias subsequentes à administração até o décimo quarto dia, sempre no mesmo horário (06:00h às 07:00h A.M.), realizado pela autora da pesquisa, diariamente (Figura 4).

O estudo de toxicidade subcrônica foi realizado de acordo com as diretrizes da OECD 407, onde os tratamentos são administrados diariamente, no mesmo horário, durante 28 dias (Figura 4), e a observação dos comportamentos é diária até o fim do tratamento. Os parâmetros comportamentais de ambas as fases (aguda e subcrônica) foram avaliados de acordo com o *screening* hipocrático.

LINHA DO TEMPO TESTE DE TOXICIDADE COM USO DA TORTA E FARELO DA MAMONA

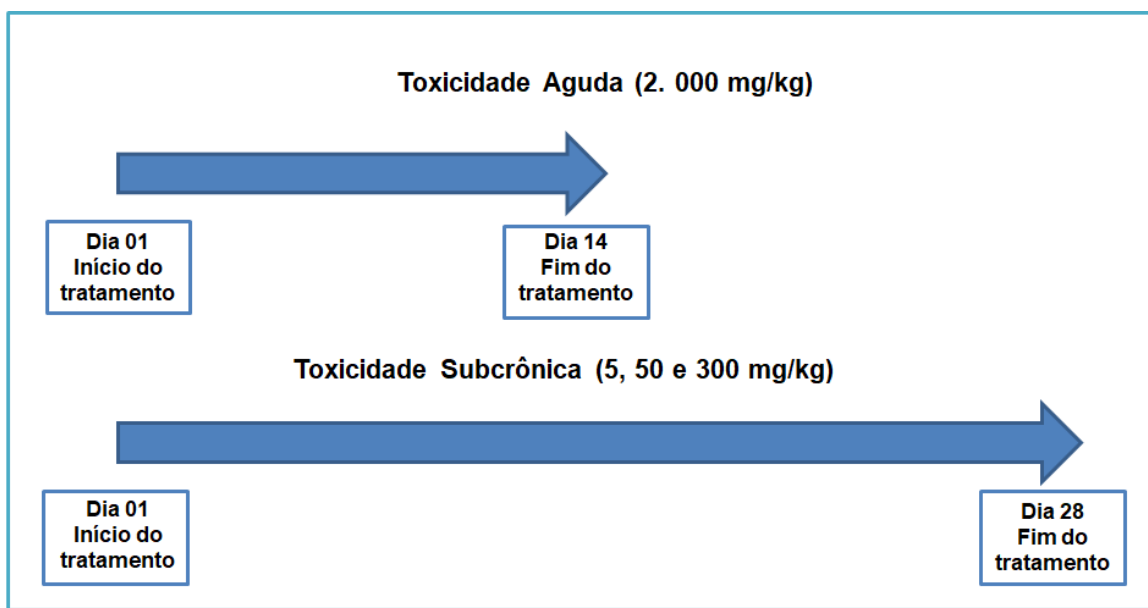


Figura 4: Linha do tempo do teste de toxicidade aguda e subcrônica em ratos *Wistar* fêmeas e machos, durante administração das soluções de torta e farelo da mamona destoxificados. Fonte: Própria autora.

4.8 Observação dos sinais de toxicidade (*Screening* hipocrático)

Para a realização das observações das alterações comportamentais, foi utilizado o *screening* hipocrático, através do qual foram registrados os seguintes comportamentos dos animais: piloereção, contorção, cambalhotas, lambidas, pulsão sexual, sonolência, agitação, agressividade, rodopiar e morte (OECD 421, 2016). Este ensaio, proposto por Malone e Robichaud (1983), permite detectar atividades farmacológicas e toxicológicas,

através da observação comportamental sobre a disposição geral, estado consciente, atividade e coordenação do sistema motor e reflexo do animal.

As observações foram realizadas nos períodos de quinze e trinta minutos, uma, duas, três, seis, doze, 24 horas e até 14 dias após a administração dos compostos para avaliar a toxicidade aguda, e periodicamente, até o 28º dia para toxicidade subcrônica (Tabela 1).

Tabela 1: Esquema utilizado para avaliação do *screening hipocrático*, onde os números 1 a 5 indicam a quantidade de animais acometidos pelas alterações comportamentais estudadas.

ALTERAÇÃO	1º Dia							2º ao 14º dia (fase aguda) / 1º ao 28º dia (fase subcrônica)		
	15 min.	30 min.	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas	12 horas			
Contorção	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Piloereção	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Cambalhotas	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Lambidas	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Pulsão Sexual	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Sonolência	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Agitação	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Agressividade	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Rodopiar	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6
Morte	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6	1 2 3 4 5 6

Fonte: Adaptada de BRAGA, 2018.

4.9 Avaliação do peso ponderal

Os animais foram pesados em balança semi-analítica antes da administração dos seus respectivos tratamentos e durante todos os dias para adequação das doses.

4.10 Método de Coleta e Análise

A coleta sanguínea foi realizada através de punção cardíaca. Após a anestesia profunda (com 75 mg/kg cetamina + 10 mg/kg xilazina intraperitoneal) dos animais, realizou-se o teste de sensibilidade a estímulos dolorosos, na ausência de dor, os animais foram então colocados em decúbito dorsal, sendo passada uma gaze embebida em álcool 70% por toda a extensão do seu tronco. Em seguida, a agulha foi introduzida em um ângulo de 45° com uma leve inclinação para a esquerda no final da cartilagem xifoide para coletar entre 8 a 10 mL de sangue.

As amostras foram distribuídas em tubos sem anticoagulante, com acelerador de coágulo e gel separador para os testes de aminotransferase de aspartate (AST), aminotransferase de alanine (ALT) e metabólitos renais (uréia e creatinina). Já para a avaliação hematológica, foram utilizados microtubos contendo anticoagulante EDTA sódico a 10 %.

O sangue coletado em tubos contendo acelerador de coagulação, foi centrifugado a 3500 rpm, por 10 minutos, para obtenção do soro, para posterior análise bioquímica.

O material foi encaminhado ao laboratório SOS Pet Clínica para processamento e análise pela médica veterinária e patologista, Elciane Alves Passos, CRMV-CE: 2427. Os hemogramas foram analisados pelo método manual. Já os exames bioquímicos utilizaram: Ureia - método enzimático UV; Creatinina - Labtest; AST (TGO) e ALT (TGP) – Cinética UV –IFCC. O parâmetro utilizado para comparação dos resultados dos exames foi de ratos Wistar oriundos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará – UFC, retratados por Lima (2018).

4.11 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do software GraphPadPrism versão 7.05 para Windows, GraphPad Software, San Diego, California EUA (Copyright © 1992-2009 GraphPad Software, Inc).

Os resultados obedecem a uma distribuição paramétrica, sendo analisados por Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tuckey. Os valores foram representados pela Média $\pm$ Erro Padrão da Média (EPM) e valores mínimo e máximo. O critério de significância utilizado foi de $P < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Testes de toxicidade aguda e subcrônica

Para determinar a segurança da torta e farelo da mamona destoxificados, foram realizados ensaios baseando-se em protocolos experimentais da OECD 407, que dispõe sobre os estudos de toxicidade subcrônica e a OECD 423, que dispõe sobre estudos de toxicidade aguda, com algumas adaptações.

5.2 Taxa de sobrevivência dos animais e alterações comportamentais

A taxa de sobrevivência dos animais obteve uma média de 94,56 %, apresentando 01 morte na fase subcrônica com o farelo da mamona na dose de 5 mg/kg, 02 mortes na dose de 50 mg/kg e 01 morte na dose 300 mg/kg em fêmeas; 02 mortes na fase subcrônica com a torta da mamona na dose de 300 mg/kg também em fêmeas; 01 morte na fase subcrônica do farelo (300 mg/kg) 01 morte na fase subcrônica da torta (300 mg/kg) em machos (Tabela 2).

De acordo com o *screening hipocrático*, as alterações comportamentais identificadas foram: agitação no animal 2 do grupo subcrônico farelo 5 mg/kg em fêmeas, piloereção nos animais 2 e 4, em dias alternados no grupo subcrônico farelo 300 mg/kg em fêmeas; piloereção em 2 animais e agitação em 1 animal do grupo subcrônico farelo 300 mg/kg em machos; agitação em 1 animal do grupo subcrônico torta 50 mg/kg e agitação em 1 animal do grupo subcrônico torta 300 mg/kg em machos.

Tabela 2: Taxa de sobrevivência e alterações comportamentais em ratos *Wistar* F (fêmeas) e M (machos) tratados com F (farelo) e T (torta), nas fases aguda (2.000 mg/kg) e subcrônica (Sub.), nas doses de 5, 50 e 300 mg/kg ao longo dos 14 D (fase aguda) e 28 D (dias) de tratamento. Os valores correspondem à análise dos 184 animais do experimento.

Tratamento	Sexo	Taxa de Sobrevivência	Alterações Comportamentais
Controle	F	100 %	-
Agudo F. 2.000	F	100 %	-
Agudo T. 2.000	F	100 %	-
Sub. F. 5	F	93,33 %	Morte em A1-D4; Agitação em A2-D11
Sub. F. 50	F	86,66 %	Morte em A1 –D5 e A5 –D4
Sub. F. 300	F	93,33 %	Piloereção em A2-D10, A4-D13; Morte em A2 – D11
Sub. T. 5	F	100 %	-
Sub. T. 50	F	100 %	-
Sub. T. 300	F	60 %	Morte em A5 –D8 e A4 –D20
Controle	M	100 %	-
Sub. F. 5	M	100 %	-
Sub. F. 50	M	100 %	-
Sub. F. 300	M	91,66 %	Morte em A5 –D3 e A4 –D6; Piloereção e agitação em A2 – D12; Piloereção em A3 - D18 e morte em D19
Sub. T. 5	M	100 %	-
Sub. T. 50	M	100 %	Agitação em A1-D26
Sub. T. 300	M	91,66 %	Morte em A1, D13; Agitação em A2, D17

Sub. F: Subcrônico farelo; Sub. T.: Subcrônico torta; F: fêmeas; M: machos; D: dia; A: animal. Fonte: Própria autora.

5.3 Peso ponderal dos animais

O peso dos animais foi avaliado na perspectiva de identificar a presença de toxicidade causada pela torta e farelo da mamona destoxificados. A tabela 3 apresenta a média e desvio padrão semanal do peso das fêmeas nos testes de toxicidade aguda (14 dias) e subcrônica ao longo dos 28 dias de administração do farelo da mamona dessolventizado, mostrando que houve ganho gradual de peso ao longo dos dias, como já esperado devido à ração e água *ad libitum* disponibilizadas aos animais.

Na tabela 4, podemos verificar a média e desvio padrão do peso dos machos nos testes de toxicidade subcrônica ao longo dos 28 dias de administração do farelo da mamona dessolventizado, também evidenciando aumento gradual de peso, conforme esperado. Dessa forma, o peso ponderal dos animais não foi afetado durante a exposição ao tratamento com o farelo da mamona.

Tabela 3: Peso em gramas (g) a cada semana, de ratas fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Dias de Tratamento	Controle	Agudo Farelo 2.000 mg/kg	Farelo 5 mg/kg	Farelo 50 mg/kg	Farelo 300 mg/kg
0 dias	202 ± 8.4 (192- 220)	202 ± 8.7 (195 -212)	181 ± 19.2 (156 – 206)	185 ± 7.2 (174 – 194)	184 ± 14.5 (173 – 209)
07 dias	216 ± 7.5 (208- 228)	210 ±10 (200 -220)	199 ± 19 (178-226)	203 ± 10 (193-214)	205 ± 18 (192-236)
14 dias	234 ± 8.1 (221-243)	218 ± 12 (211-232)	220 ± 15 (204-239)	224 ±11 (211-237)	228 ± 18 (214-260)
21 dias	247 ± 9 (236-261)	-	228 ± 16 (212-249)	235 ± 10 (222-245)	235 ± 20 (217-270)
28 dias	255 ± 8.9 (242-267)	-	243 ± 20.3 (218-270)	251 ± 10.5 (236-260)	253 ± 19.9 (236-287)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo. Os valores correspondem à análise das medidas efetuadas em 17 animais.

Tabela 4: Peso em gramas (g) a cada semana, de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Dias de Tratamento	Controle	Farelo 5 mg/kg	Farelo 50 mg/kg	Farelo 300 mg/kg
0 dias	187 ± 7.8 (180-202)	164 ± 9.5 (155-180)	178 ± 7.1 (166-188)	180 ± 16.2 (160-202)
07 dias	238 ± 12.2 (225-261)	212 ± 10.8 (202-232)	231 ± 8 (217-239)	223 ± 25 (199-252)
14 dias	298 ± 13.4 (282-319)	268 ± 17.9 (249-299)	297 ± 8.5 (283-307)	281 ± 35.9 (243-318)
21 dias	351 ± 13.8 (336-371)	319 ± 18.4 (301-345)	356 ± 14.5 (335-372)	352 ± 35.6 (311-376)
28 dias	416 ± 12.3 (401-435)	367 ± 21.3 (346-398)	397 ± 11.5 (383-412)	377 ± 53 (340-415)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo. Os valores correspondem à análise das medidas efetuadas em 24 animais, sendo o n de 6 animais por grupo.

Nas tabelas 5 e 6, podemos observar o ganho de peso semanal, durante os 28 dias de tratamento em ratas *Wistar* fêmeas e machos, com a torta da mamona destoxificada. Todos os animais obtiveram ganho de peso gradual conforme os sucessivos dias de tratamento. Portanto, o tratamento com a torta da mamona destoxificada não apresentou prejuízos ao ganho de peso dos animais.

Tabela 5: Peso em gramas (g) a cada semana, de ratas fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg) e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Dias de Tratamento	Controle	Agudo Torta 2.000 mg/kg	Torta 5 mg/kg	Torta 50 mg/kg	orta 300 mg/kg
0 dias	198 ± 4.6 (192-205)	169 ± 11 (161-177)	178 ± 10 (163-190)	179 ± 17 (167-209)	179 ± 7 (169-188)
07 dias	216 ± 7.5 (208-228)	181 ± 9.1 (175 -188)	193 ± 8.6 (180-202)	192 ± 17 (181-223)	192 ± 5.8 (189-200)
14 dias	234 ± 8.1 (221-243)	229 ± 4.2 (226-232)	208 ± 8.4 (196-218)	199 ± 15 (191-226)	210 ± 7.8 (201-219)
21 dias	241 ± 7.8 (232-254)	-	212 ± 7.6 (202-222)	203 ± 16.5 (187-231)	212 ± 5.1 (207-217)
28 dias	247 ± 7.9 (238-260)	-	216 ± 7.1 (209-228)	226 ± 24.1 (196-270)	218 ± 4.7 (213-222)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo. Os valores correspondem à análise das medidas efetuadas em 22 animais.

Tabela 6: Peso em gramas (g) a cada semana, de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Dias de Tratamento	Controle	Torta 5 mg/kg	Torta 50 mg/kg	Torta 300 mg/kg
0 dias	187 ± 7.8 (180-202)	238 ± 20.8 (215-267)	214 ± 16 (190-230)	235 ± 11.4 (224-248)
07 dias	238 ± 12.2 (225-261)	285 ± 24.6 (258-322)	258 ± 18.1 (229-279)	269 ± 26.5 (231-301)
14 dias	298 ± 13.4 (282-319)	335 ± 27.1 (300-375)	305 ± 16 (280-329)	315 ± 27.9 (275-350)
21 dias	351 ± 13.8 (336-371)	394 ± 27.3 (360-439)	344 ± 13.1 (329-361)	365 ± 33.7 (326-408)
28 dias	416 ± 12.3 (401-435)	412 ± 27.5 (380-457)	363 ± 15.1 (334-375)	374 ± 36.2 (336-420)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo. Os valores correspondem à análise das medidas efetuadas em 24 animais.

5.4 Níveis séricos de enzimas hepáticas

Para a constatação de segurança na administração oral dos tratamentos resultando em uma preservação da fisiologia hepática, foram realizadas provas bioquímicas estabelecendo dosagens séricas de AST e ALT.

A tabela 7 mostra as dosagens de AST/TGO e ALT/TGP nas fêmeas tratadas com o farelo da mamona.

Verificando os níveis de AST/TGO, o grupo agudo ($156.1 \pm \text{UI/L}$) apresentou aumento ($P < 0,0172$) quando comparado ao grupo controle ($84 \pm \text{UI/L}$), e aos grupos subcrônicos: 5 mg/kg ($38.8 \pm \text{UI/L}$) com $P < 0,0001$, 50 mg/kg ($53.2 \pm 23.8 \text{ UI/L}$) com $P < 0,0006$ e 300 mg/kg ($36.4 \pm 9.5 \text{ UI/L}$) com $P < 0,0001$. Os grupos subcrônicos por sua vez, quando comparados ao grupo controle, não apresentaram variâncias significativas.

Os valores de ALT/TGP em fêmeas tratadas com o farelo da mamona não apresentaram diferenças estatísticas quando comparados aos controles e aos grupos do tratamento subcrônico.

Tabela 7: Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Agudo Farelo 2000 mg/kg	Farelo 5 mg/kg	Farelo 50 mg/kg	Farelo 300 mg/kg
AST/TGO	84 ± 38.8	156.1 ± 49.2*	38.8 ± 11.6	53.2 ± 23.8	36.4 ± 9.5
(UI/L)	(37-132)	(80 -214)	(29 – 56)	(35 – 88)	(23 -48)
ALT/TGP	36.7 ± 8.4	48.6 ± 19.7	43.8 ± 11.8	54.5 ± 7.4	53.6 ± 9.5
(UI/L)	(27 – 46)	(22 – 72)	(27 – 57)	(44 – 61)	(42 – 65)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. * representa diferença significativa em relação ao grupo Controle. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (4 animais); agudo (8 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (4 animais); 300 mg/kg (5 animais).

Os resultados de AST/TGO e ALT/TGP nos machos tratados com o farelo da mamona estão expressos na Tabela 8. Os valores de AST/TGO demonstram que não houve diferenças significativas dos grupos subcrônicos: 5 mg/kg (96.2 ± 58.2 UI/L), 50 mg/kg (67.5 ± 22.7 UI/L) e 300 mg/kg (92 ± 63.7 UI/L) quando comparados ao grupo controle (135.3 ± 68 UI/L).

Resultados semelhantes foram obtidos com a determinação dos níveis de ALT em ratos machos tratados pelo farelo de mamona, onde também não foram observadas diferenças significativas nos grupos subcrônicos: 5 mg/kg (32.4 ± 16.3 UI/L), 50 mg/kg (32.2 ± 13.8 UI/L) e 300 mg/kg (38.2 ± 20.3 UI/L), quando comparados ao grupo controle (44.5 ± 14.5), conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8: Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Farelo 5 mg/kg	Farelo 50 mg/kg	Farelo 300 mg/kg
AST/TGO	135.3 ± 68	96.2 ± 58.2	67.5 ± 22.7	92 ± 63.9
(UI/L)	(49 – 239)	(26 -161)	(35 -88)	(26 – 199)
ALT/TGP	44.5 ± 14.5	32.4 ± 16.3	32.2 ± 13.8	38.2 ± 20.3
(UI/L)	(8 – 61)	(10 – 55)	(24 – 53)	(10 – 67)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (12 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (4 animais); 300 mg/kg (5 animais).

Os resultados de AST/TGO e ALT/TGP nos tratamentos das fêmeas com a torta da mamona estão expressos na Tabela 9. Foi observado aumento dos níveis de AST no soro dos animais do grupo agudo (208.7 ± 56.7 UI/L) em comparação ao grupo controle (84 ± 38.8 UI/L) ($P < 0,0002$) e quando comparado aos grupos subcrônicos: grupo 5 mg/kg (28.6 ± 7 UI/L; $P < 0,0001$), 50 mg/kg (29 ± 9.8 UI/L; $P < 0,0001$) e 300 mg/kg (21.3 ± 2 UI/L; $P < 0,0001$) (Tabela 9). Os demais grupos não apresentaram variações significativas.

Da mesma forma, foi observado aumento dos níveis de ALT no grupo agudo (63.3 ± 10.4) em comparação ao com o grupo controle (36.7 ± 8.4 ; $P < 0,0016$) e também quando comparado aos grupos subcrônicos: 5 mg/kg (41.6 ± 7 ; $P < 0,0058$), 50 mg/kg (41.6 ± 9.3 ; $P < 0,0058$), e 300 mg/kg (28 ± 7 ; $P < 0,0002$).

Tabela 9: Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Agudo Torta 2000 mg/kg	Torta 5 mg/kg	Torta 50 mg/kg	Torta 300 mg/kg
AST/TGO	84 ± 38.8	208.7 ± 56.7*	28.6 ± 7	29 ± 9.8	21.3 ± 2
(UI/L)	(37 – 132)	(125 -269)	(21 – 37)	(30 - 45)	(19 – 23)
ALT/TGP	36.7 ± 8.4	63.3 ± 10.4*	41.6 ± 7	41.6 ± 9.3	28 ± 7.2
(UI/L)	(27- 46)	(44 – 71)	(31 – 50)	(34 – 56)	(22 – 36)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey.

* representa diferença significativa em relação ao grupo Controle. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (4 animais); agudo (6 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (5 animais); 300 mg/kg (3 animais).

Na tabela 10 podemos verificar os níveis de AST/TGO e ALT/TGP em ratos *Wistar* machos tratados com a torta da mamona. Os resultados mostraram que os níveis séricos de AST e ALT em machos tratados com a torta da mamona não apresentaram alterações estatisticamente significativas. O que provavelmente denota ausência de toxicidade hepática da torta de mamona destoxificada nesse experimento.

Tabela 10: Parâmetros Bioquímicos AST/TGO e ALT/TGP de ratos machos da linhagem *Wistar*, na fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Torta 5 mg/kg	Torta 50 mg/kg	Torta 300 mg/kg
AST/TGO	135.3 ± 68	90.4 ± 10.5	163.2 ± 120.6	151.4 ± 11.4
(UI/L)	(49 – 239)	(80 – 107)	(59 – 348)	(45 – 338)
ALT/TGP	44.5 ± 14.5	37.6 ± 5.1	55 ± 36.7	76 ± 38
(UI/L)	(8 – 61)	(30 – 44)	(31 – 120)	(22 – 119)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (12 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (5 animais); 300 mg/kg (5 animais).

5.5 Níveis séricos de Ureia e Creatinina

Para avaliação da função renal foram realizadas dosagens nos níveis séricos de creatinina. Os níveis de ureia e creatinina em fêmeas tratadas com o farelo da mamona estão descritos na Tabela 11.

Os valores de Ureia em fêmeas tratadas com o farelo da mamona no grupo agudo (45.8 ± 4.7 mg/dL) não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao grupo controle (33.7 ± 14.1 mg/dL). Nos grupos dos tratamentos subcrônicos 5 mg/kg (5.8 ± 1.6 mg/dL; $P < 0,0001$), 50 mg/kg (8 ± 2.1 mg/dL; $P < 0,0003$) e 300 mg/kg (7.6 ± 6.9 mg/dL; $P < 0,0001$) houve redução dos níveis de uréia quando comparados ao grupo controle.

Ao analisar os níveis de creatinina nas fêmeas tratadas com o farelo da mamona, verificamos que apenas o grupo subcrônico 5 mg/kg (0.17 ± 0.03 ; $P < 0,0338$) apresentou redução significativa quando comparados ao grupo controle (0.38 ± 0.2). Os valores do grupo agudo (0.42 ± 0.08 mg/dL) foram maiores quando comparado aos valores dos tratamentos subcrônicos: 5 mg/kg (0.17 ± 0.03 mg/dL; $P < 0,0015$), e 300 mg/kg (0.18 ± 0.02 mg/dL; $P < 0,0027$).

Tabela 11: Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Agudo Farelo 2000 mg/kg	Farelo 5 mg/kg	Farelo 50 mg/kg	Farelo 300 mg/kg
Ureia	33.7 ± 14.6	45.8 ± 4.7	5.8 ± 1.6*	8 ± 2.1*	7.6 ± 6.9 *
(mg/dL)	(13 – 44)	(41 – 53)	(4 – 8)	(6 – 11)	(4 – 20)
Creatinina	0.38 ± 0.2	0.42±0.08	0.17 ± 0.03*	0.28 ±0.08	0.18 ± 0.02
(mg/dL)	(0.23 – 0.67)	(0.31-0.55)	(0.12 – 0.21)	(0.21 -0.41)	(0.15 – 0.22)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey.

* representa diferença significativa em relação ao grupo Controle. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (4 animais); agudo (8 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (4 animais); 300 mg/kg (5 animais).

Os níveis de ureia e creatinina em machos tratados com o farelo da mamona estão retratados na Tabela 12. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos tratados e o grupo controle. Além disso, os valores obtidos estão todos dentro dos padrões de referência para ratos *Wistar* dessa linhagem.

Tabela 12: Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Farelo 5 mg/kg	Farelo 50 mg/kg	Farelo 300 mg/kg
Ureia	40.8 ± 13.5	40.8 ± 3.2	43.7 ± 21.6	36 ± 10.7
(mg/dL)	(10 – 57)	(35 – 43)	(23 – 73)	(18 – 43)
Creatinina	0.34 ± 0.16	0.4 ± 0.08	0.31 ± 0.11	0.32 ± 0.08
(mg/dL)	(0.09 – 0.55)	(0.32 – 0.54)	(0.18 – 0.45)	(0.20 – 0.44)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (12 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (4 animais); 300 mg/kg (5 animais).

Nas fêmeas tratadas com a torta da mamona, os níveis séricos de ureia e creatinina estão expressos na tabela 13. Nas taxas de ureia retratadas, o grupo agudo (42.5 ± 5.1 mg/dL) não apresentou diferença significativa ao ser comparado ao controle (33.7 ± 14.6 mg/dL). Porém, foram observadas reduções nos níveis de uréia nos grupos subcrônicos, 5mg/kg (8.2 ± 4.9 mg/dl; $P < 0,0004$), 50 mg/kg (8.6 ± 3.5 mg/dL; $P < 0,0005$) e 300 mg/kg (1.3 ± 0.5 mg/dL; $P < 0,0001$), quando comparados ao grupo controle.

Analisando os níveis de creatinina, não foram observadas alterações significativas quando comparados os grupos tratados agudo e os subcrônicos com o grupo controle.

Tabela 13: Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos fêmeas da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, agudo (2.000 mg/kg), e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Agudo Torta 2000 mg/kg	Torta 5 mg/kg	Torta 50 mg/kg	Torta 300 mg/kg
Ureia	33.7 ± 14.6	42.5 ± 5.1	8.2 ± 4.9	8.6 ± 3.5	1.3 ± 0.5
(mg/dL)	(13 – 44)	(37 – 51)	(2 – 15)	(3 – 12)	(1 – 2)
Creatinina	0.38 ± 0.2	0.47 ± 0.1	0.17 ± 0.04	0.17 ± 0.03	0.18 ± 0.09
(mg/dL)	(0.23 – 0.67)	(0.28 -0.73)	(0.12 –0.23)	(0.14 –0.21)	(0.08 – 0.26)

Os resultados foram expressos com Média $\pm$ E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (4 animais); agudo (6 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (5 animais); 300 mg/kg (3 animais).

Na tabela 14, encontramos os níveis séricos de ureia e creatinina em ratos *Wistar* machos, tratados com a torta da mamona. Quanto aos níveis de ureia, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. O mesmo ocorreu com as determinações de creatinina.

Tabela 14: Parâmetros Bioquímicos Ureia e Creatinina de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle e subcrônicos 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Torta 5 mg/kg	Torta 50 mg/kg	Torta 300 mg/kg
Ureia	40.8 ± 13.5	33.4 ± 12.9	37.4 ± 10.6	29.8 ± 13.3
(mg/dL)	(10 – 57)	(18 – 54)	(21 – 48)	(12 – 47)
Creatinina	0.34 ± 0.16	0.19 ± 0.07	0.36 ± 0.09	0.19 ± 0.02
(mg/dL)	(0.09 – 0.55)	(0.15 – 0.32)	(0.22 – 0.45)	(0.16 – 0.23)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo; Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em: controle (12 animais); 5 mg/kg (5 animais); 50 mg/kg (5 animais); 300 mg/kg (5 animais).

5.6 Parâmetros hematológicos

Os parâmetros hematológicos dos ratos *Wistar* machos tratados com a torta e farelo de mamona são apresentados nas tabelas 15 e 16, respectivamente.

Os resultados da Tabela 15, referentes às dosagens de hemograma completo e contagem de plaquetas dos ratos machos da linhagem *Wistar* tratados com o farelo da mamona, mostram que não houve alterações significativas nesses parâmetros quando comparados os animais tratados com o grupo controle.

É importante salientar que no grupo subcrônico 5 mg/kg, com o farelo da mamona administrado em machos, foram analisadas 06 amostras, das quais, 04 apresentaram alterações significativas: foi identificada em uma a presença de plaquetas gigantes; em outra amostra, além de plaquetas gigantes, foi detectado a presença de linfócitos reativos; na terceira amostra foi encontrado neutrófilos hipersegmentados, e na quarta, a presença de neutrófilos hiperseguimentados e linfócitos reativos.

No grupo subcrônico 50 mg/kg, do farelo da mamona em machos, também foram analisadas 06 amostras, das quais, 03 amostras apresentaram neutrófilos

hipersegmentados, 01 amostra apresentou neutrófilos hiperseguimentados e plaquetas gigantes, e 01 apresentou apenas a presença de plaquetas gigantes.

Foram analisadas apenas 02 amostras do grupo subcrônico 300 mg/kg com o farelo da mamona em machos, pois, dos 06 animais experimentados, 04 vieram a óbito durante o experimento. Em uma das amostras analisadas desta fase, foi identificada a presença de neutrófilos hiperseguimentados.

A avaliação hematológica das amostras dos ratos *Wistar* machos tratados com a torta da mamona estão demonstrados na Tabela 16. Houve aumento no hematócrito, dos animais do grupo subcrônico 5 mg/kg ($P < 0,0008$) quando comparado ao grupo controle. Também foi observado aumento das hemácias ($P < 0,0024$) e da hemoglobina ($P < 0,0008$) no grupo subcrônico 300 mg/kg quando comparado ao controle.

Não houve variâncias significativas ao compararmos os demais parâmetros. Contudo, vale ressaltar que dentre as 06 amostras do grupo controle, em 01 amostra foi identificado a presença de linfócitos reativos, e em outra amostra foi identificado a presença de neutrófilos hiperseguimentados.

Tabela 15: Parâmetros Hematológicos de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com o farelo da mamona, nos grupos: controle, 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Farelo 5 mg/kg	Farelo 50 mg/kg	Farelo 300 mg/kg
Hemácias (milhões/mm ³)	8.3 ± 0.39 (7.7 – 8.99)	8.5 ± 0.4 (8.0 – 9.1)	9.1 ± 0.3 (8.7 – 9.7)	8.8 ± 0.14 (8.7 – 8.9)
Hematócrito (%)	48.6 ± 2.3 (45 - 52)	50.17 ± 2.4 (47 – 53)	53.67 ± 2.1 (51 – 57)	51.5 ± 0.7 (51 – 52)
Hemoglobina (%)	16.2 ± 0.7 (15 - 17.3)	16.7 ± 0.8 (15.6 – 17.7)	17.88 ± 0.7 (17 – 19)	17.15 ± 0.2 (17 – 17.3)
VCM (m ³)	58.4 ± 0.1 (58.3 - 58.8)	58.4 ± 0.17 (58.2 – 58.7)	58.53 ± 0.2 (58.2 – 58.8)	58.5 ± 0.1 (58.4 – 58.6)
CHCM (%)	33.32 ± 0.04 (33.3 – 33.4)	33.3 ± 0.06 (33.2 – 33.4)	33.32 ± 0.04 (33.3 – 33.4)	33.3 ± 0.0 (33.3 – 33.3)
Plaquetas (mm ³)	1.044.000 ± 270.333,1 (828.000 – 1.504.000)	978.000 ± 252.768,7 (784.000 – 1.344.000)	968.000 ± 284.815,7 (536.000 - 1.324.000)	1.166.000 ± 166.877,2 (1.048.000 – 1.284.000)
Leucócitos (mm ³)	7.500 ± 1.8 (3.800 – 8.900)	9.600 ± 2.500 (5.000 - 12.500)	8.300 ± 1.900 (5.900 – 10.100)	6.000 ± 300 (5.800 - 6.300)

Neutrófilos (%)	16.4 ± 6.5 (8 - 26)	15 ± 1.4 (14 - 17)	10 ± 2.8 (8.0 - 12)	14 ± 0.0 (14 - 14)
Bastões (%)	0	0	0	0
Eosinófilos (%)	0.6 ± 1.03 (0 - 2)	0	0.3 ± 0.8 (0 - 2.0)	0
Basófilos (%)	0	0	0	0
Linfócitos (%)	84.4 ± 6.5 (74 - 90)	85.5 ± 1.7 (83 - 87)	83.8 ± 5.2 (8 - 92)	80 ± 8.4 (74 - 86)
Monócitos (%)	0.6 ± 1.0 (0 - 2)	0	0	0
Proteínas (g/dL)	15.8 ± 22.62 (6 - 62)	6.3 ± 0.2 (6 - 6.6)	6.8 ± 0.2 (6.4 - 7.2)	6.7 ± 0.1 (6.6 - 6.8)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey.
 Valor mínimo e máximo; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular

média; CHCM: concentração da hemoglobina corpuscular média. Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em 20 animais.

Tabela 16: Parâmetros Hematológicos de ratos machos da linhagem *Wistar*, da fase subcrônica com a torta da mamona, nos grupos: controle, 5 mg/kg, 50 mg/kg e 300 mg/kg.

Parâmetro (unidade)	Controle	Torta 5 mg/kg	Torta 50 mg/kg	Torta 300 mg/kg
Hemácias – (milhões/ mm ³)	8.3 ± 0.39 (7.7 – 8.99)	8.7 ± 0.5 (7.7 – 9.4)	8.2 ± 0.4 (7.7 – 8.9)	9.4 ± 0.3 (8.9 – 9.9)
Hematócrito (%)	48.6 ± 2.3 (45 - 52)	51 ± 3.3 (45 – 55)	48.33 ± 2.5 (45 – 52)	55.5 ± 2.0 (52 – 58)
Hemoglobina (%)	16.2 ± 0.7 (15 - 17.3)	17 ± 1.1 (15 – 18.3)	16.08 ± 0.8 (15 – 17.3)	18.48 ± 0.6 (17.3 – 19.3)
VCM (m ³)	58.4 ± 0.1 (58.3 - 58.8)	58.48 ± 0.1 (58.2 – 58.6)	58.55 ± 0.2 (58.3 -58.8)	58.5 ± 0.1 (58.3 – 58.8)
CHCM (%)	33.32 ± 0.04 (33.3 – 33.4)	33.32 ± 0.04 (33.3 – 33.4)	33.2 ± 0.07 (33.2 -33.4)	33.3 ± 0.04 (33.3 – 33.4)
Plaquetas (mm ³)	1.044.000 ± 270.333,1 (828.000 – 1.504.000)	1.016.800 ± 245.852 (716.000 – 1.368.000)	1.180.800 ± 125.901,5 (1.024.000 – 1.224.000)	1.052.000 ± 85.566,35 (952.000 – 1.200.000)
Leucócitos (mm ³)	7.500 ± 1.8 (3.800 – 8.900)	7.900 ± 3.100 (2.700 – 11.600)	6.900 ± 3.800 (3.200 -1.400)	9.600 ± 1.800 (7.600 – 12.100)
Neutrófilos (%)	16.4 ± 6.5 (8 - 26)	19 ± 17.2 (6.0 -52)	10.67 ± 6.5 (2.0 – 18)	9.0 ± 5.1 (2.0 – 14)
Bastões (%)	0	0	0	0
Eosinófilos (%)	0.6 ± 1.03 (0 – 2)	0.33 ± 0.8 (0.0 – 2.0)	0	0.6 ± 1.0 (0.0 -2.0)
Basófilos (%)	0	0	0	0
Linfócitos (%)	84.4 ± 6.5 (74 – 90)	80.33 ± 17.77 (46 -94)	89 ± 6.8 (82 – 98)	90.33 ± 4.8 (86 -98)
Monócitos (%)	0.6 ± 1.0 (0 – 2)	0.33 ± 0.8 (0.0 – 2.0)	0.33 ± 0.8 (0.0 – 2.0)	0
Proteínas (g/dL)	15.8 ± 22.62 (6 – 62)	6.7 ± 0.5 (5.8 -7.4)	6.3 ± 0.3 (5.8 -6.8)	6.9 ± 0.3 (6.4 -7.4)

Os resultados foram expressos com Média ± E.P.M. One-way ANOVA seguido por Tukey. Valor mínimo e máximo; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração da hemoglobina corpuscular média. Os valores correspondem às análises das medidas efetuadas em 24 animais.

6 DISCUSSÃO

As pesquisas e modelos toxicológicos utilizando ratos são uma tendência atual da ciência moderna, visto que esses animais de laboratório são altamente semelhantes aos humanos em seus aspectos bioquímicos, fisiológicos e patológicos (Sathiya, 2018).

A torta e farelo da mamona são uma possibilidade atrativa de alimentação animal, reduzindo os custos com alimentação, e lixo orgânico gerado pela indústria que coleta o óleo de rícino. Porém, é necessário garantir que os métodos de destoxificação empregados nesses compostos sejam seguros para a administração em animais, apesar dos fatores antinutricionais e lectinas tóxicas presentes (Andrade, 2019).

Neste trabalho foram realizados testes de toxicidade aguda e subcrônica, englobando: testes comportamentais de *screening hipocrático*, peso ponderal, testes bioquímicos para avaliação da função renal, hepática e exames hematológicos em ratos *Wistar* fêmeas e machos tratados com o farelo e a torta destoxificada da mamona.

Em ambos os modelos experimentais (agudo e subcrônico), não houve alterações no peso dos animais, demonstrando ganho de peso gradual conforme ingestão de água e ração. Adewale e colaboradores (2016), afirmam que a redução de 10 % no peso original indica um efeito adverso do tratamento nos animais.

Entretanto, o estudo de *screening hipocrático* aponta morte em 5,7 % dos animais experimentados, sendo 04 fêmeas do grupo subcrônico com o farelo da mamona (01 animal do grupo 5mg/kg, 02 animais do grupo 50 mg/kg e 01 animal do grupo 300 mg/kg); e 03 machos do grupo subcrônico 300 mg/kg com o farelo da mamona. No tratamento subcrônico com a torta da mamona, houve morte de alguns animais, sendo eles 02 fêmeas no grupo 300 mg/kg, e 01 macho no grupo 300 mg/kg. Nota-se que a maior letalidade ocorreu nos animais tratados com dose de 300 mg/kg/dia do tratamento subcrônico (28 dias). É importante ressaltar que os animais que foram a óbito, apresentaram manutenção do mesmo peso por pelo menos 02 dias consecutivos

antes da morte, sem ganhos, mesmo seguindo a mesma dieta e água que todos do grupo. Quaisquer alterações significativas na ingestão de alimentos e água, como a não evolução do peso, podem indicar o impacto negativo do tratamento nos animais (Attanayake, 2013). Ainda no teste de *screening hipocrático*, os animais que apresentaram piloereção ou agitação, pertenciam aos grupos onde houve morte de animais.

O processo de gavagem pode implicar na administração inadvertida da solução nos pulmões do animal, provocando broncoaspiração (USP, 2023). Tendo em vista o número de animais utilizados (184), e que as alterações de comportamento se manifestaram apenas em animais de grupos em que houve óbito, pode-se levantar a hipótese de broncoaspiração durante a gavagem.

As enzimas aspartato e alanina aminotransferases (AST e ALT) são responsáveis por catalisar a repartição do nitrogênio entre aminoácidos e oxoácidos correspondentes, participando da glicogênese e do metabolismo proteico, sendo responsáveis pelo diagnóstico de doenças hepáticas. A presença de alterações no fígado aumenta os níveis séricos dessas enzimas (Yaser et al., 2022).

Nos testes bioquímicos para avaliação da função hepática, utilizaram-se como valores de referência os níveis de AST (61-210 UI/L) e ALT (38-82 UI/L) para ratos, de acordo com o método aplicado na análise. Os animais fêmeas e machos que utilizaram o farelo da mamona, não apresentaram alterações significantes nesta enzima.

Verificou-se que nos testes de toxicidade aguda em machos e fêmeas alimentados com o farelo e a torta da mamona, não houve mortes, alterações significativas nos exames hematológicos, nem sinais anormais das funções motora e sensoriais dos animais.

No entanto, foi observada elevação nos níveis de AST das fêmeas do tratamento agudo com a dose de 2000 mg/kg de farelo quando comparados ao controle e até mesmo com relação aos animais dos tratamentos subcrônicos 5, 50 e 300 mg/kg, o mesmo ocorreu com as fêmeas tratadas com a torta, porém nessas os níveis de ALT também foram aumentados. O que não foi observado nos animais machos, onde nenhuma alteração significativa foi observada quando comparados aos controles.

Já nos resultados de ureia e creatinina, nas fêmeas foi observada redução dos níveis em todas as doses no tratamento subcrônico com farelo de mamona e nos animais machos não houve alterações significativas, assim como nos grupos tratados com a torta de mamona de ambos os sexos.

Lima (2018) que avaliou os parâmetros bioquímicos de ratos machos e fêmeas provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará aponta que os níveis séricos de AST/TGO em machos foram: $104,35 \pm 12,8$ (80 – 125) UI/L e ALT/TGP: $54,95 \pm 9,89$ (40 - 80) UI/L e em fêmeas: AST $109,10 \pm 13,07$ (94,00-140,00); ALT $31,95 \pm 8,59$ (18,00-53,00). Os animais utilizados nesse estudo são provenientes do referido biotério e os valores estão próximos e compatíveis com os apresentados. Dessa forma, apesar das variações identificadas, nenhum parâmetro da fase aguda ultrapassou os valores de referência, portanto pode-se afirmar que não foram encontradas alterações nas funções hepáticas dos ratos tratados com o farelo ou torta da mamona nos protocolos utilizados neste estudo.

Ureia e Creatinina são produtos de resíduos metabólicos regulares eliminados por via renal considerados a maneira mais simples de monitorar a função renal (Marín-Garcia et al., 2022).

A toxicocinética das glicoproteínas da ricina ainda não foi elucidada, porém, sabe-se que elas são pouco absorvidas pelo trato gastrointestinal, e quando absorvidas, seguem uma distribuição semelhante à da albumina. Em sua biotransformação e eliminação são frequentemente observados aumento da creatinina sérica e hematúria (Biearman, 2005).

Avaliando a função renal através da dosagem dos níveis séricos de ureia e creatinina das fêmeas tratadas com o farelo da mamona, foi observado que houve redução dos níveis de uréia em todas as doses testadas do tratamento subcrônico e redução da creatinina apenas na dose de 5mg/kg. Estando todos os resultados obtidos dentro dos valores de referência de normalidade preconizados pelo Biotério Central da UFC (ureia = $49,76 \pm 6,01$ (39,00-58,0) e Creatinina = $0,47 \pm 0,15$ (0,10-0,75)).

Nos machos, os tratamentos com o farelo e a torta da mamona não apresentaram alterações significativas em comparação com o grupo controle e os resultados estão dentro dos valores de referência (Ureia = $53,15 \pm 11,77$ (34-70) e Creatinina = $0,33 \pm 0,15$

(0,15-0,85)). Portanto os resultados demonstraram que a torta e o farelo de mamona destoxificados não apresentaram toxicidade renal nos protocolos de tratamento agudo e subcrônico utilizados neste estudo.

Além disso, foram analisados os parâmetros hematológicos dos ratos *Wistar* machos tratados com farelo e torta da mamona. Os índices de hemácias no sangue ajudam a elucidar a prevalência de anemias, bem como o hematócrito e a hemoglobina, que está presente dentro das hemácias. O VCM indica o tamanho das hemácias, enquanto o CHCM indica a quantidade de hemoglobina por hemácia (Katsumi, 2021).

Agudamente, as toxalbuminas da ricina causam hemaglutinação, lesões gastrointestinais graves, hemorragias retinianas, pulso rápido e fraco e possível choque devido à perda de fluidos e eletrólitos por vômitos e diarreia (Biearman, 2005).

Nos machos tratados com o farelo e torta da mamona, ao compararmos com estudos de Lima (2018) e Biotério UFMS (2015) em ratos *Wistar* saudáveis, os valores, respectivamente, de hemácias ($9,51 \pm 0,58$ e $7,10 \pm 1,75$), hematócrito ($55,60 \pm 3,07$ e $40,09 \pm 3,78$), VCM ($58,65 \pm 4,39$ e $63,31 \pm 24,17$) e CHCM ($26,01 \pm 1,87$ e $35,82 \pm 2,35$) estão compatíveis com os encontrados em nosso estudo. Somente os valores de hemoglobina apresentaram-se mais altos que os encontrados nos estudos citados ($14,46 \pm 1,13$ e $14,48 \pm 1,38$). Todas as hemácias permaneceram normocíticas e normocrômicas.

As plaquetas encontraram-se aumentadas em número quando comparadas aos estudos de Lima (2018) e UFS (2014): $1144,6 \pm 154$ e $982,34 \pm 167,5$, respectivamente, no entanto, os ratos possuem quantidades de plaquetas e hemácias aumentadas fisiologicamente, apresentando maior viscosidade e rápida coagulação, o que justifica a presença de agregados plaquetários e plaquetas gigantes em algumas amostras. Não houve alterações estatísticas significantes. A comparação com outros estudos pode variar e apresentar discrepâncias, pois o ambiente, substratos, métodos, aparelhos, reagentes e condições fisiológicas interferem particularmente em cada estudo (Duncan e Prasse, 1982).

Os glóbulos brancos por sua vez, fazem parte do sistema e defesa do organismo. Dessa maneira, a contagem total de leucócitos fornece informações sobre possíveis

patologias encontradas. Nos ratos machos tratados com o farelo e a torta da mamona, os níveis de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e proteínas encontraram-se dentro dos valores de referência, considerados normais. A quantidade de eosinófilos encontradas nas amostras foi abaixo dos parâmetros normais, porém sem significado clínico.

Em todas as doses do tratamento subcrônico com o farelo da mamona em machos, foi identificada a presença de neutrófilos hipersegmentados em pelo menos 01 amostra de cada fase. Esse mesmo achado foi encontrado no grupo controle. A presença de neutrófilos hipersegmentados nesses casos não estava associada a leucocitose, ou seja, não indica aumento na produção de corticoides endógenos, não evidenciando estresse crônico. Todavia, esses achados isolados podem evidenciar anemia por deficiência de vitamina B12. (Silva, 2016). Entretanto, não há evidências de anemias quando avaliado o hemograma dos animais, já discutido acima. Portanto entende-se que esses achados não apresentam relevância.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foi possível concluir que tanto o farelo como a torta da mamona destoxificada não apresentaram toxicidade aguda e subcrônica em ratos *Wistar* fêmeas e machos, nos testes e exames realizados. No entanto, como houve óbitos durante os experimentos, são necessárias investigações histopatológicas dos órgãos dos animais, conforme descrevem os protocolos da OECD. Além disso, exames hematológicos em fêmeas também são necessários para elucidar totalmente o estudo.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Mazhar et al. Mutagenicity, cytotoxic and antioxidant activities of *Ricinus communis* different parts. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2018.
- AKANDE, T. O.; ODUNSI, A. A.; AKINFALA, E. O. A review of nutritional and toxicological implications of castor bean (*Ricinus communis* L.) meal in animal feeding systems. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. V. 100. P. 201-210, 2015.
- ALBRETSSEN, J. C.; GWALTNEY-BRANT, S. M.; KAHN, S. A. Evaluation of castor bean toxicosis in dogs: 98 cases. **Journal of the American Animal Hospital Association, Lakewood**, v. 36, n. 3, p. 229-233, 2000.
- ALEXANDER, J.; ANDERSSON, H. C.; BERNHOFT, A.; BRIMER, L.; COTTRILL, B.; FINK-GREMMEIS, J.; JAROSZEWSKI, J.; SOERENSEN, H. 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 (EFSA) Journal, Parma**, v. 726, p. 1-38, 2008.
- ANANDAN, A.; KUMAR, G. K. A.; GHOSH, J.; RAMACHANDRA, K. S. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology, Amsterdam**, v.120, n. 1-2, p.159-168, 2005
- ANANDAN, A.; KUMAR, G. K. A.; GHOSH, J.; RAMACHANDRA, K. S. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake. **Animal Feed Science and Technology, Amsterdam**, v.120, n. 1-2, p.159-168, 2005.

ANDRADE, A., PINTO, S. C., OLIVEIRA, R. S. Animais de Laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 f. Disponível em SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

ANDRADE, Igo Renan Albuquerque de. Destoxificação da torta de mamona por produtos químicos alternativos. 2015.

ARAÚJO, R. A. et al. Destoxificação e perfil nutricional da torta de mamona destoxificada por diferentes soluções alcalinas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 1947-1958, 2020.

ARAÚJO, R. A. Torta de mamona destoxificada por soluções alcalinas em dietas de fêmeas caprinas leiteiras, 2019, 260 F. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará, 2019.

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

BORJA, M. S., OLIVEIRA, R. L., SILVA, T. M., BEZERRA, L. R., NASCIMENTO, N. G., BORJA, A. D. P. Effectiveness of calcium oxide and autoclaving for the detoxification of castor seed meal in finishing diets for lambs. **Animal Feed Science and Technology**, 231, 76–88, 2018.

BOTHA, C. J.; PENRITH, M. L. Potential plant poisonings in dog sandcats in southern Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, Pretoria, v. 80, n. 2, p. 63-74, 2009.

BIERMAN, B. S. Encyclopedia of Toxicology (Second Edition) – Castor Bean. **Elsevier**. v. 2, p. 486-487, 2005.

BRAGA, A. C. L. Avaliação da toxicidade e do trânsito gastrointestinal de extratos e frações nematocidas de moringa oleífera em camundongos. 2018. 56 f. (Dissertação – Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Ceará. Sobral, 2018.

BUENO, C. F. D. et al. Torta de mamona destoxificada para alimentação de poedeiras comerciais. **Ciência Rural**. V. 44, n. 3, p. 538-543, 2014.

CAVALCANTE FILHO, Pedro Gilberto; BUAINAIN, Antônio Márcio; DE SOUZA BENATTI, Gabriela Solidario. A cadeia produtiva agroindustrial do biodiesel no Brasil: um estudo sobre sua estrutura e caracterização. **DRd-Desenvolvimento Regional em debate**, v. 9, p. 772-799, 2019.

CÉSAR, Aldara da Silva; BATALHA, Mário Otávio. Análise dos direcionadores de competitividade sobre a cadeia produtiva de biodiesel: o caso da mamona. **Production**, v. 21, p. 484-497, 2011.

DUARTE, S. S. et al. Expressão gênica de adipocinas em ovelhas alimentadas com resíduos da indústria do biodiesel da mamona. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.4, p.1171-1178, 2014.

ANDRADE, S. A. et al. Inactivation of lectins from castor cake by alternative chemical compounds. **Elsevier - Toxicon**, v. 160. p. 47-54, 2019.

EMBRAPA. Agência Embrapa de Informação Tecnológica, Agroenergia. Brasília, Distrito Federal. Disponível em:
<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000f837cz5s0z8kfsx007poikmekcqe.html>. Acesso em: 01 de março de 2020.

FERNANDES, K. V. et al. Simultaneous allergen inactivation and detoxification of castor bean cake by treatment with calcium compounds. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, p. 1002-1010, 2012.

FONSECA, N. B. S., SOTO-BLANCO, B. Toxicidade da ricina presente nas sementes de mamona. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1415-1424, 2014.

FONSECA, Nayanna Brunna da Silva; SOTO-BLANCO, Benito. Toxicidade da ricina presente nas sementes de mamona. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1415-1424, 2014.

GAD-ELKAREEM, Mohamed AM et al. Potential antidiabetic effect of ethanolic and aqueous-ethanolic extracts of *Ricinus communis* leaves on streptozotocin-induced diabetes in rats. **PeerJ**, v. 7, p. e6441, 2019.

GARLAND, T.; BAILEY, E. M. Toxins of concern to animals and people. **Revue Scientifique et Technique Office International of Epizootics**, Paris, v. 25, n. 1, p. 341-351, 2006.

HONG, I. H.; KWON, T. E.; LEE, S. K.; PARK, J. K.; KI, M. R.; PARK, S. I.; JEONG, K. S. Fetal death of dogs after their gestation of a soil conditioner. **Experimental and Toxicologic Pathology**, Jena, v. 63, n. 1-2, p. 113- 117, 2011.

HU, Wenjun et al. Morphological, physiological and proteomic analyses provide insights into the improvement of castor bean productivity of a dwarf variety in comparing with a high-stalk variety. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1473, 2016.

IQBAL, Jamshed et al. Antioxidant, antimicrobial, and free radical scavenging potential of aerial parts of *Periploca aphylla* and *Ricinus communis*. **International Scholarly Research Notices**, v. 2012, 2012.

JESUS FILHO, Hugo Pereira de. Caracterização de genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) para potencial utilização do farelo na alimentação animal. 2014.

LACERDA, Roseli Sengling. **Caracterização química, bioquímica e físico-química da torta de mamona para seu aproveitamento na produção de material biodegradável e na alimentação animal**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

LIRA, Cristiano Cavalcanti et al. Diferentes formas de processamento do farelo de mamona para viabilizar seu uso na alimentação de frangos de corte. In: **Embrapa Suínos e Aves-Artigo em anais de congresso**.

LOURENÇO, R. M. et al. Estudos relativos aos potenciais de determinadas oleaginosas para a produção de biocombustíveis. In: V Congresso Brasileiro de Mamona. Anais Desafios e Oportunidades. Campina Grande – PB. Emprapa Algodão, 2012, p. 16.

MEDEIROS, F. F. et al. Fontes proteicas alternativas oriundas da cadeia produtiva do biodiesel para alimentação de ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 519-526, 2015.

MELO, M. C. R. Políticas públicas brasileiras de biocombustíveis: estudo comparativo entre os programas de incentivos à produção, com ênfase em etanol e biodiesel, 2018, 86 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis. Uberlândia, Minas Gerais, 2018.

MENEZES, D. R. et al. Detoxified castor meal in substitution of soy bean meal in sheep diet: growth performance, carcass characteristics and meat yield. **Trop Anim Health Prod** .V. 48. P. 297-302, 2015.

NAZ, Rabia; BANO, Asghari. Antimicrobial potential of *Ricinus communis* leaf extracts in different solvents against pathogenic bacterial and fungal strains. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 12, p. 944-947, 2012.

OECD- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guideline 407. Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. 2008.

OECD- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guideline 421. Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test. 2016.

PATEL V.R., DUMANCAS G.G., VISWANATH L.C.K., MAPLES R. & SUBONG B.J.J. Castor oil: properties, uses, and optimization of processing parameters in commercial production. **Libertas Academica**. n. 9. P. 1-12, 2016.

RAMA RAO, S. V. Vegetable protein supplements in poultry diets. 2012. Disponível em: [http:// www.poultvet.com/index.php](http://www.poultvet.com/index.php) accessed 20 April 2012. Acesso em: 01 de março de 2020.

RIBEIRO, Leandro Sampaio Oliveira et al. Características fermentativas, composição química e fracionamento de carboidratos e proteínas de silagem de capim-elefante emurhecido ou com adição de torta de mamona. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1447-1462, 2014.

RISSATO, Sandra Regina et al. Evaluation of *Ricinus communis* L. for the phytoremediation of polluted soil with organochlorine pesticides. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

RODRIGUES, Douglas Almeida et al. Bioindicator potential of *Ricinus communis* to simulated rainfall containing potassium fluoride. **PeerJ**, v. 8, p. e9445, 2020.

SANTOS, P. A. Farelo de mamona na alimentação de ruminantes. Revista eletrônica nutritime. v. 10, n. 06, p. 2814 – 2827, 2013.

SILVA, L.M, SILVA, A.M., OLIVEIRA, C.H.A., CARNEIRO, H.A.V., SOUZA, P.T., BESERRA, F.J., SILVA, C.M.G. AND RONDINA, D. Reproductive responses and productive characteristics in ewes supplemented with detoxified castor meal for a long period, **Revista Brasileira de Zootecnia**, 43, 419–427, 2014.

SILVA, M. S.; MACEDO, L. C.; SANTOS, J. A. B.; MOREIRA, J. J. S.; NARAIN, N.; SILVA, G. F. Aproveitamento de coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel de mamona. **Exacta**, São Paulo, v. 8, p. 279288, 2010.

SILVA, T. R. G., et al. Avaliação de diferentes processos de destoxificação sobre o valor nutricional e energético da torta de mamona para suínos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.70, n.2, p.563-569, 2018.

SOUSA, N. L. Biodetoxificação de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) Mediante silenciamento gênico da ricina. 2017. 77 f. (Tese – Doutorado em Biotecnologia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2017.

SUNTRES, Z. E.; STONE, W. L.; SMITH, M. G. Ricin-induced tissue toxicity: the role of oxidative stress. **Journal of Medical Chemical, Biological and Radiological Defense**, Kaneohe, v. 3, n. 301, n. 1205, p. 1-21, 2005.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. Plantas Tóxicas do Brasil. 2ª edição. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, p. 119-124, 2012.

WORBS, Sylvia et al. *Ricinus communis* intoxications in human and veterinary medicine—a summary of real cases. **Toxins**, v. 3, n. 10, p. 1332-1372, 2011.

XIMENES, Polyana Karina Mendes. O pequeno produtor rural e a rentabilidade da cultura da mamona: a proposta de um modelo de simulação da cadeia produtiva do biodiesel. 2017. Disponível em <https://unichristus.edu.br/wp-content/uploads/2017/12/IX-Encontro-de-Inicia%C3%A7%C3%A3o-a-Pesquisa-e-%C3%A0-Doc%C3%Aancia-%E2%80%93-2012.pdf#page=34>.

DANG, L.; VAN DAMME, E.J.S. Toxic proteins in plants. *Phytochemistry*, v.117, p.51-64, 2015.