

COMPONENTES MINORITÁRIOS DO ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis* L.)

Rosana de Cassia de Souza Schneider¹, Daniela Matte Alves¹, Luciano Roni Silva Lara¹, Eduardo Lahud Pons¹, Elina Bastos Caramão², Márcia Martinelli²

¹Departamento de Química e Física Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC- Santa Cruz do Sul – RS - Brasil

²Instituto de Química, Universidade do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre – RS - Brasil

*E-mail:rosana@unisc.br

RESUMO

O óleo extraído de sementes de *Ricinus communis* L., conhecida como mamona, foi analisado neste trabalho quanto a presença de componentes minoritários extraídos na fase insaponificável. A extração de insaponificáveis foi realizada conforme o método AOCS (Ca 6a-40) e a análise das amostras de óleo foi realizada por Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-DEM) após derivatização com BSA. Entre as substâncias identificadas encontrou-se o Δ -tocoferol, γ -tocoferol, Δ^5 -ergosterol, stigmasterol, obtusifoliol, γ -sitosterol, fucosterol e cicloartenol. As amostras de óleo de diferentes variedades de mamona, obtidas por prensagem a frio e por solvente em extrator soxhlet apresentaram diferenças quanto as substâncias separadas. O método empregado para extração e análise foi apropriado para identificar a presença de componentes minoritários no óleo de mamona.

Palavras-chave: *Ricinus communis*. óleo de rícino. Esteróis. insaponificáveis.

1 Introdução

O óleo obtido da semente de mamona é um líquido espesso, muito viscoso, cuja cor varia, de incolor ao amarelo-escuro, apresentando, principalmente, o triacilglicerol do ácido ricinoléico, denominado tricinoleína.

Nos óleos em geral, os triacilgliceróis correspondem a 98% e podem ser separados na fase saponificável. Os 2% remanescentes correspondem aos componentes insaponificáveis, também denominados minoritários.

Na fase insaponificável, aproximadamente 1% do óleo de rícino, podem ser encontrados esteróis e tocoferóis, entre outros, em menores quantidades [1-2]. Para separar estes componentes minoritários, saponifica-se o óleo e separam-se os insaponificáveis, dissolvendo-os em água e extraíndo-os com éter etílico.[3].

Os esteróis, principais constituintes da fase insaponificável, são substâncias orgânicas encontradas abundantemente na natureza, usualmente em gorduras de origem animal e em óleos vegetais [4-5].

Entre os esteróis já identificados no óleo de mamona estão o β -sitosterol, stigmasterol e campesterol. A composição de esteróis que esta fase apresenta pode auxiliar na definição da origem da mesma, se animal ou vegetal. Este estudo pode ser realizado através da análise (de cristais) cristalográfica e do ponto de fusão [6].

Quanto aos tocoferóis, encontra-se principalmente o α -tocoferol, que apresenta (maior) pronunciada atividade biológica, com potencial vitamínico e poder antioxidante. Conforme Ferrari e colaboradores [7], nos óleos de soja, milho e colza, o γ -tocoferol encontra-se na fase insaponificável nas proporções de 64, 68 e 55%, respectivamente.

Em 1999, após extração em fase sólida (SPE), foram identificados e quantificados no óleo de mamona, os tocoferóis, principalmente o γ e o δ tocoferol, e os esteróis, campesterol, stigmasterol, β sitosterol, Δ^5 -avenasterol, Δ^7 stigmasterol e Δ^7 avenasterol. No entanto, não foram apresentados resultados relacionados à variedade *R. communis* L e o método de extração utilizado [8]. Quanto aos métodos de extração observam-se resultados relacionados ao conteúdo em fitosteróis em óleos comestíveis [9-11].

Neste trabalho os componentes minoritários presentes no óleo de sementes de mamona, foram extraídos e identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-DEM), objetivando-se avaliar as diferenças na composição de amostras provenientes de estudos agrônomicos no Vale do Rio Pardo – RS, Brasil e extraídas por solvente e por prensagem a frio.

2 Parte Experimental

2.1 Reagentes

Utilizou-se éter etílico Merck, hidróxido de sódio Merck e éter *bis*-trimetil-sililacetamida (BSA) da Sigma. Os padrões de ésteres dos ácidos graxos (mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico, araquídico, eláidico e ricinoléico), stigmaterol, γ sitosterol e fucosterol foram adquiridos de marcas Supelco e Sigma, com purezas (maiores que) superiores a 99%.

2.2 Amostragem

As amostras de semente de mamona empregadas nos estudos de extração foram originárias de três propriedades agrícolas (1, 2 e 3) da região do Vale do Rio Pardo. Os cultivares de *Ricinus communis* L. Utilizados foram coletados de 2000 a 2002 e registrados no Herbário HCB da Unisc, com as denominações de T1 (Tarabaí) - número 02239, G1 (Guarani) - número 02238 e C1 -número 02237.

As amostras foram coletadas quando dois terços dos frutos do cacho estivessem secos. O período de secagem foi realizado na lavoura sob exposição ao sol, e em laboratório foram descascados e selecionados. A determinação da umidade das sementes foi realizada em Balança de Umidade Metler a temperatura de 110 °C por 90 min.

As amostras de semente utilizadas foram selecionadas por catação, retirando as sementes danificadas. Desta forma, separou-se por propriedade 500g de cada variedade.

2.3 Extração de óleo

A extração de óleo das sementes de *Ricinus communis* L. foi realizada conforme métodos descritos por Schneider et al [12], onde foram empregados um sistema de prensa hidráulica para a extração por prensagem em escala laboratorial e um sistema de extração contínuo sólido-líquido do tipo soxhlet para a extração por solvente.

A massa de semente utilizada na extração por prensagem foi de 100g a uma pressão de até 6000 psi. A extração por solvente foi realizada a partir de 5 g de semente recentemente triturada, empregando hexano como solvente. Para os dois métodos de extração realizou-se a extração em triplicata.

2.4 Separação da fase insaponificável

Para a separação da fase insaponificável, primeiramente realizou-se a saponificação de 2 a 5 g de amostra, conforme o método AOCS (Ca 6a-40). Procedeu-se a saponificação das amostras pela adição de 50 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio a 1%, seguido de refluxo por 30 min.

Com o sistema a temperatura ambiente, realizou-se a separação da fase insaponificável, utilizando-se extração líquido – líquido, com 3 volumes de éter etílico como solvente. A fase etérea contendo os insaponificáveis, foi conduzida a três lavagens

com água deionizada para a retirada de resíduos de hidróxido de sódio.

O solvente foi evaporado em um recipiente previamente pesado, e o resíduo sólido foi seco em estufa até peso constante. O percentual de insaponificáveis foi calculado em relação à massa inicial de óleo.

Este resíduo sólido, correspondendo aos componentes minoritários das amostras de óleo, foram redissolvidos em éter etílico e levados à análise cromatográfica. Para cada amostra de óleo realizou-se uma extração de insaponificáveis.

2.5 Análise cromatográfica

Os componentes minoritários em éter etílico foram derivatizados com a adição de 1 a 2 gotas de éter *bis*-trimetil-sililacetamida (BSA). O BSA teve a finalidade de derivatizar os componentes da amostra na posição dos grupamentos OH dos esteróis, através da ligação de grupo trimetil silil ao oxigênio da hidroxila.

A amostra derivatizada foi analisada em um equipamento Shimadzu QP 5050^a com coluna capilar HP 5 (60m x0,25 mm x 0,25 μ m) e as condições cromatográficas otimizadas foram: temperatura inicial da coluna de 150°C, continuando a aquecer 5°C/min até 300°C e permanecendo nesta temperatura por 25 min; temperatura do injetor de 280°C; temperatura da interface de 300°C; injeção no modo split 1:27; fluxo da fase móvel (He) 1mL/min e volume injetado de 1,0 μ L, em triplicata.

A identificação dos componentes separados foi realizada por comparação com padrões analíticos e por comparação com a Biblioteca de espectros Wiley 226.

3 Resultados e discussões

Para cada amostra analisada foi calculado a repetitividade do método partindo-se dos valores totais das áreas dos esteróis identificados. Observou-se que a variação dos resultados para uma mesma amostra de uma mesma procedência não foi maior que 10% , porém os valores foram maiores para o óleo extraído por solvente, conforme Tabela 1. Nestes dados considera-se a variação do método de extração e de análise instrumental, sendo que cada valor corresponde a três extrações de óleo, uma extração de insaponificáveis e três injeções de cada amostra final.

De um modo geral, conforme cromatograma da Figura 1, foi possível identificar nas amostras de óleo de mamona extraídas, por CG-MSD, a presença de tocoferóis, ésteres, álcoois, esteróis e hidrocarbonetos.

Diferenças foram observadas com relação à natureza e quantidade dos componentes separados, sendo que a maioria das substâncias estavam presentes em todas as amostras (Tabela 2). Entre estas se destaca a presença constante de squaleno, ricinoleato de etila e esteróis. Os tocoferóis e ésteres etílicos de outros ácidos graxos que se encontram no óleo não estavam presentes em todas as amostras. Os espectros de massas dos

esteróis separados na fase insaponificável de óleo de mamona estão apresentados na Figura 2.

Tabela 1- Valores de desvio padrão relativo do método para os esteróis identificados nos extratos de insaponificáveis das amostras de óleo de mamona.

Propriedade	Variedade	RSD (%)	
		Óleo obtido por solvente	Óleo obtido por prensagem
1	T1	9	4
	C1	8	6
	G1	6	4
	S80	6	3
2	T1	6	4
	C1	6	3
	G1	7	5
	S80	5	4
3	T1	10	5
	C1	6	6
	G1	5	6
	S80	8	5

n=9 (1 extração de óleo, 3 extrações de insaponif e três injeções)

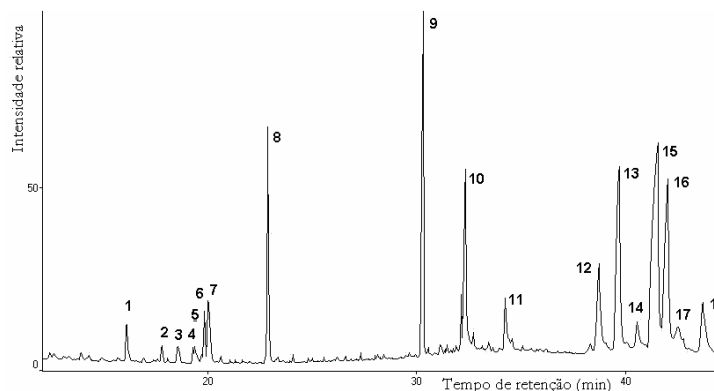


Figura 1 - Cromatograma do íon total (TIC) dos componentes minoritários do óleo de mamona da variedade T1 da propriedade 1 extraído prensagem

Um dos fatores relevantes para a existência de componentes minoritários nas amostras é o método de extração de óleo. As amostras analisadas foram extraídas em soxhlet com hexano e por prensagem a frio. Com a Figura 3, apresentam-se as diferenças das amostras com relação ao método de extração. Existem substâncias presentes nos óleos obtidos da extração por prensagem que não estão nos óleos obtidos na extração por solvente. Supostamente, em função da temperatura de extração, ocorre a degradação de alguns componentes.

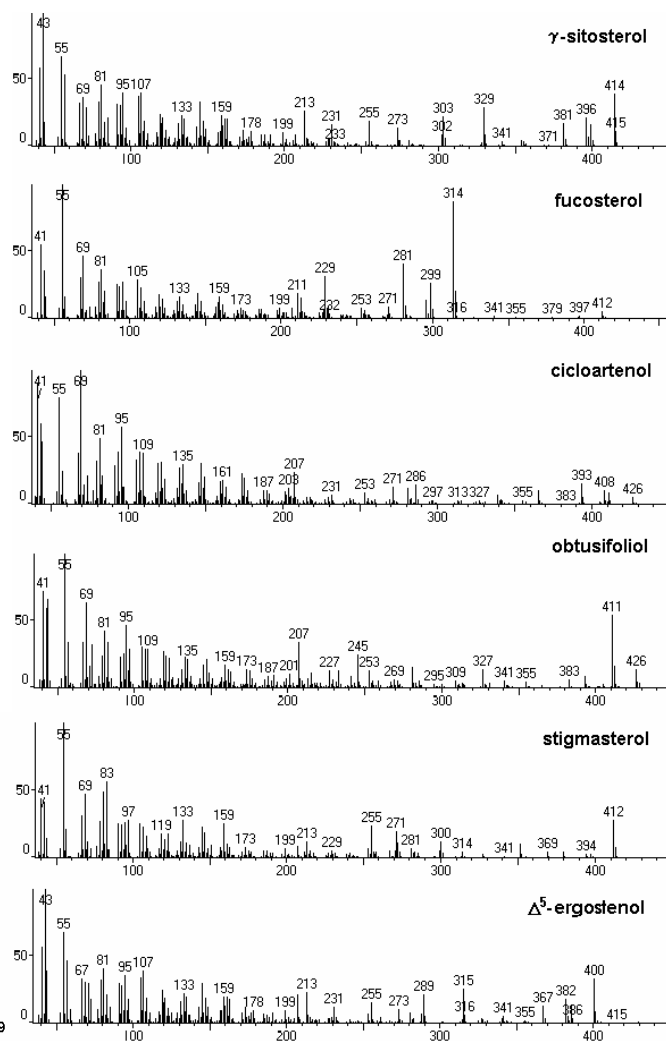


Figura 2 – Espectros de massas dos esteróis separados na fase insaponificável das amostras de óleo de mamona

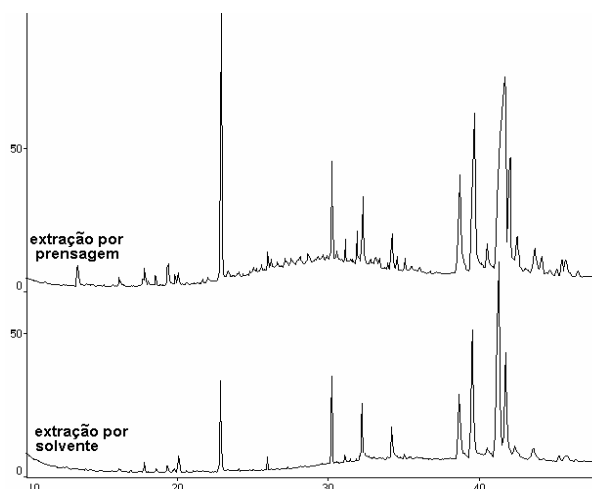


Figura 3 - Cromatograma do íon total (TIC) da fração insaponificável dos óleos extraídos por prensagem e por solvente do cultivar T1 da Propriedade 2.

Tabela 2 – Percentagem relativa dos componentes minoritários identificados no óleo de ricino obtido de diferentes amostras extraídas por prensagem a frio e por solvente.

Nomenclatura	Fórmula molecular	Peso molecular	P1		P2			P3			
			prensagem		S80	solvente	prensagem		prensagem		
			S80	T1			T1	S80	T1	C1	G1
Palmitato de etila	$C_{18}H_{36}O_2$	284	0,56	1,41	1,36	0,56	0,70	0,55	1,46	2,89	1,56
Fitol	$C_{20}H_{40}O$	296	0,48	0,56	0,72	0,47	0,60	0,47	0,56	0,63	0,60
Linoleato de etila	$C_{20}H_{36}O_2$	308	0,31	0,37	0,66	0,31	0,26	0,31	0,39	0,51	0,42
Oleato de etila	$C_{20}H_{38}O_2$	310	0,22	0,34	0,35	0,28	0,27	0,28	0,36	0,46	0,38
Estearato de etila	$C_{20}H_{40}O_2$	312	0,64	1,00	1,50	0,84	0,80	0,83	1,06	1,09	1,13
Farnesol	$C_{15}H_{26}O$	222	2,36	3,68	4,04	1,81	2,95	1,80	1,90	2,79	1,97
Ricinoleato de etila	$C_{20}H_{38}O_3$	326	6,14	9,58	10,00	7,04	7,68	6,99	10,16	10,67	10,87
Esqualeno	$C_{30}H_{50}$	410	5,55	11,40	6,30	9,57	13,19	9,50	7,74	12,81	11,56
Δ - tocoferol	$C_{27}H_{46}O_2$	402	4,74	8,43	5,98	5,88	7,17	5,83	4,09	5,03	4,12
γ - tocoferol	$C_{28}H_{48}O_2$	416	1,65	1,73	2,30	1,66	2,06	1,65	1,56	3,64	1,67
Δ^5 - ergostenol	$C_{28}H_{48}O$	400	5,19	6,44	7,05	6,18	5,63	6,13	5,79	5,95	6,20
Stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	412	9,37	11,92	9,10	11,45	14,21	11,36	12,73	10,19	11,48
Obtusifoliol	$C_{30}H_{50}O$	426	0,90	1,33	2,77	1,28	1,13	1,27	1,27	1,58	1,32
γ - sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	414	27,06	22,93	22,90	21,01	24,51	20,84	21,41	23,12	21,84
Fucosterol	$C_{29}H_{48}O$	412	10,87	13,27	10,45	12,74	13,52	12,64	13,81	15,19	12,64
Cicloartenol	$C_{30}H_{50}O$	426	2,12	2,20	3,87	1,01	2,65	1,00	1,96	2,01	1,97
		Total	78,16	96,6	89,35	82,09	97,33	81,43	86,25	98,56	89,73

n=12 (três extrações de óleo, 2 extração de insaponif e 2 injeções)

As principais diferenças observadas nos cromatogramas das amostras foram com relação a intensidade dos picos do ricinoleato de etila, esqualeno, tocoferóis e esteróis separados, de amostras que correspondiam a uma mesma massa de óleo de partida, mostrando que mudam as quantidade destes componentes, com relação a variedade e ao método de extração. Em algumas amostras, quando o óleo foi obtido por extração por solvente, não foram identificados os componentes 10 e 11 da Figura 1, que correspondem ao Δ -tocopherol e γ -tocopherol, devido ao aquecimento necessário no sistema de extração, que leva a degradação dos tocoferóis. A suscetibilidade a oxidação é destacada por Zhang et al [13], que (apresenta) afirma que a oxidação dos componentes minoritários do óleo é acelerada pelo aquecimento e outros fatores como a radiação ionizante.

Com as amostras dos cultivares T1, C1, G1 e S80 também foi possível constatar que a composição e a proporção dos componentes minoritários na fase insaponificável também pode estar relacionado a variedade. Na Figura 4 observa-se que para a C1 na mesma condição de plantio e da mesma propriedade que as outras (T1, G1 e S80) apresentaram quantidades maiores dos componentes separados, identificados pela altura e largura dos picos cromatográficos dos tocoferóis e esteróis identificados.

Neste trabalho foi possível obter uma boa separação dos componentes minoritários do óleo de mamona e constatou-se que estes compostos bioativos são suscetíveis a fatores biológicos, químicos e físicos que a planta pode estar sujeita durante o desenvolvimento. A amostra da S80, da propriedade 1, que sofreu com a presença de fungos, apresentou uma fase insaponificável diferente, revelando a modificação do metabolismo da planta quando em condições adversas as comumente expostas na lavoura. O resultado está apresentado na Figura 5 e merece um estudo mais aprofundado quanto ao efeito dos fungos na proporção de esteróis nas plantas oleaginosas, pois estes componentes apresentam alto valor comercial.

4 Conclusões

A presença de componentes minoritários no óleo de mamona está relacionado a variedade e condições de plantio. Os principais componentes separados nas amostras foram Δ -tocopherol, γ - tocoferol, Δ^5 -ergostenol, stigmasterol, obtusifoliol, γ -sitosterol, fucosterol e cicloartenol.

Para a identificação dos componentes minoritários presentes no óleo também deve-se considerar o método de extração do óleo pois, as substâncias inicialmente presentes na

semente podem ser degradadas quando emprega-se a extração por solvente sob aquecimento.

Destaca-se também que atualmente a produção de óleo de mamona está aumentando rapidamente com o objetivo de produzir biocombustíveis. Da grande produção de óleo, poderá ser obtido alguns componentes minoritários que, apesar de estarem no óleo em percentuais menores que 2%, detém valor de mercado, por serem bioativos.

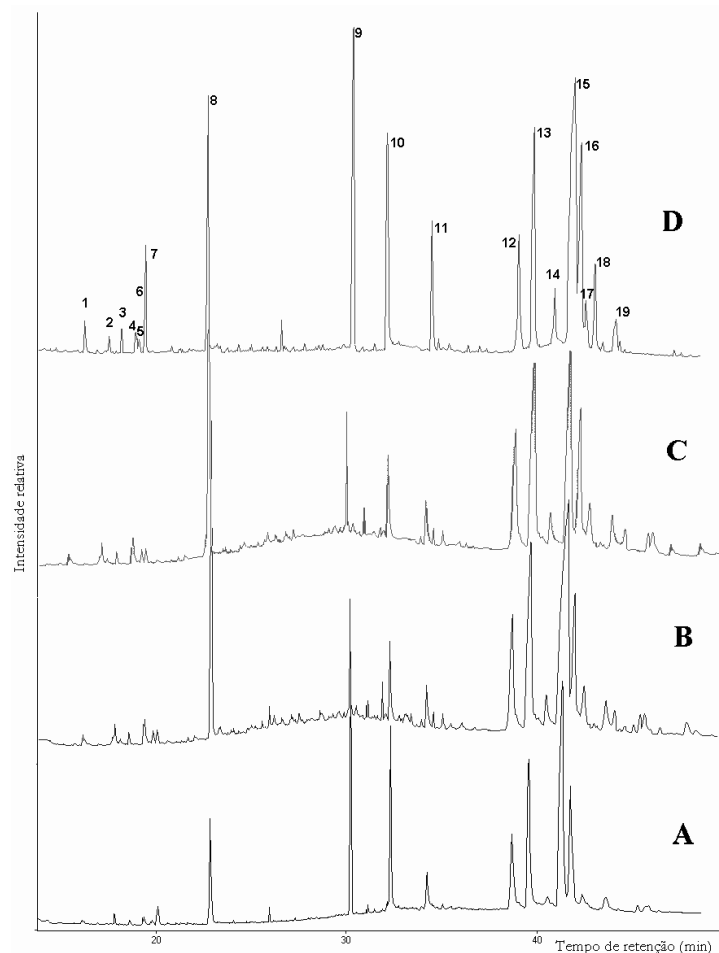


Figura 4 - Cromatograma do íon total (TIC) da fração insaponificável dos óleos extraídos por prensagem dos cultivares A) S80, B) G1, C) T1 e D) C1 coletadas na propriedade 3.

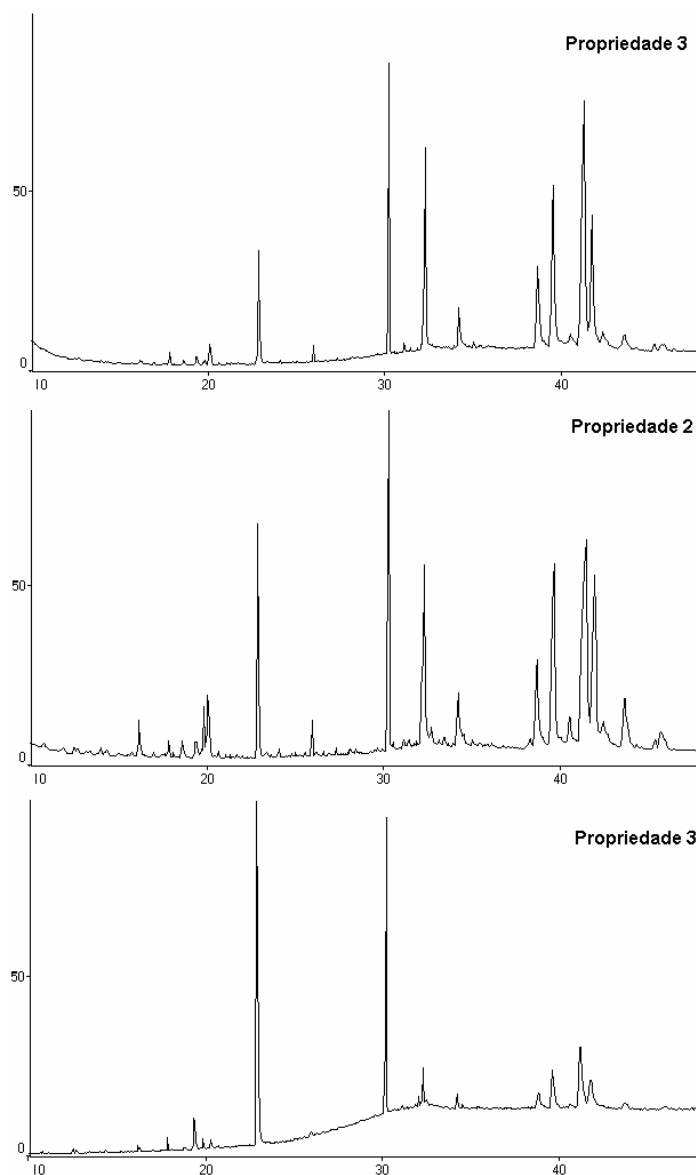


Figura 5 – Cromatogramas íon total obtidos por GC-MSD das amostras de insaponificáveis extraídas da variedade S80 das propriedades 1 a 3.

Agradecimentos

A Fapergs pela bolsa BIC concedida a L.R.S.L. e ao CNPq pela bolsa PIBIC concedida a E. L. P.

MINORITY COMPONENTS OF THE CASTOR OIL (*Ricinus communis* L.)

ABSTRACT: The oil extracted from the seeds of *Ricinus communis* L., known as castor oil plant, was analyzed in this work regarding to the presence of minority components extracted in the unsaponifiable phase. The extraction of unsaponifiable elements was accomplished according to the method AOCS (Ca 6a-40) and the analysis of the oil samples was accomplished through Gas Chromatography mass spectrometry coupled (GC-MS) after derivatization with BSA. Among the identified substances it was found Δ -tocoferol, γ - tocoferol, Δ^5 -ergostenol, stigmasterol, obtusifoliol, γ -sitosterol, fucosterol and cicloartenol. The oil samples of different castor oil plant varieties, obtained by cold pressing and by solvent in extractor soxhlet have presented differences concerning to separate substances. The method employed for extraction and analysis was adequate to identify the presence of minority components in the castor oil.

Keywords: *Ricinus communis*. Castor oil. Sterols. insaponifiable

Referências

- [1] Aparicio, R.; Aparicio-Ruiz, R.; *J. of Chromatography A*, 881, 93, **2000**.
- [2] Verleyen, T.; *et al. J. of Chromatography A*, 921, 277, **2001**.
- [3] AOCS Official Methods Ca 6a-40. *Insaponifiable matter*. American Oil Chemists' Society, **1997**.
- [4] Oliveira, B. H.; Bueno, D. D. *Química Nova*, 19 (3), 233, **1996**.
- [5] Lercker, G. Rodríguez-Estrada, M .T. *Journal of Chromatography A*, 881 105, **2000**.
- [6] Fedeli, E. *Et al.*, G.; *JAACS*, 43, 254, **1966**.
- [7] Ferrari, R. Ap. *et al. JAACS*, 73, 5, 587, **1996**.
- [8] Lechner, M., Reiter, B., Lorbeer, E. *J. of Chromatography A*, 857, 231., **1999**
- [9] Phillips, K. M.; Ruggio, D. M.; Ashraf-Khorassani, *J. Agric. Food Chem.*, 53(24), 9436, **2005**
- [10] Lagarda, M.J., García-Llatas, G., Farré, R. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41(5), 1486, **2006**.
- [11] Lercker, G., Rodríguez-Estrada, M.T. *Journal of Chromatography A*, 881 105, **2000**
- [12] Schneider, R.C.S. *et al. Redes*, 7, 23, **2001**
- [13] Zhang, X., *et al. Steroids* 70, 896, **2005**.