

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE QUÍMICA  
CURSO DE BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**MARILIA RONSEN**

**EXTRAÇÃO DE ALCALOIDES DE SEMENTE DE MAMONA  
(*Ricinus communis* L.)**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PATO BRANCO**

**2011**

**MARÍLIA ELIZABETH RONSSSEN**

**EXTRAÇÃO DE ALCALOIDES DE SEMENTE DE MAMONA**

*(Ricinus communis L.)*

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Professora Orientador: Dr<sup>a</sup>. SIRLEI DIAS TEIXEIRA.

Pato Branco, 2011

## TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **EXTRAÇÃO DE ALCALOIDES DE SEMENTE DE MAMONA** (*Ricinus communis* L.) foi considerado APROVADO de acordo com a Ata No. 034B2 de 2011.

Fizeram parte da banca os professores.

Sirlei Dias Teixeira

Larissa Macedo dos Santos

Davi Costa Silva

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus.

À minha família.

Ao meu namorado Andre Cristiano Miotto pelo incentivo, companheirismo e paciência.

À professora orientadora Dr<sup>a</sup> Sirlei Dias Teixeira, agradeço pela confiança, dedicação e amizade.

À professora Dr<sup>a</sup> Raquel Dalla Costa da Rocha pela colaboração e dedicação.

A todos os professores, agradeço pela paciência e disponibilidade.

Aos colegas de turma, pela convivência e diversões durante a realização deste estudo.

A minha amiga Patrícia Appelt, por me orientar nos primeiros passos desse trabalho.

E a todos meus verdadeiros amigos, que muito me incentivaram e colaboraram, gostaria de externar meu afeto e agradecimento.

“Que os nossos esforços desafiem as impossibilidades. Lembraivos que as grandes proezas da história foram conquistas daquilo que parecia impossível”. (Charles Chaplin)

## RESUMO

RONNSEN, Marília E. Extração de alcaloides de semente de mamona (*Ricinus communis* L.). 2011.32 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química Industrial). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma planta oleaginosa largamente cultivada no Brasil, por produzir um óleo com qualidades atípicas, utilizado na fabricação de diversos produtos cosméticos, farmacêuticos, têxteis incluindo o biodiesel. A industrialização da mamona produz um resíduo conhecido como torta de mamona, que apresenta qualidades como adubo do solo e também poderia ser empregado como ração animal, pois possui grande quantidade de proteína. Contudo, apresenta alto grau de toxidez devido a presença da toxalbumina ricina, do alcaloide ricinina e do complexo alergênico CB-1A. O presente trabalho tem por objetivo extrair e quantificar os alcaloides presente nas sementes de mamona. Verificando sua existência ou não através de reveladores específicos e CCD (Cromatografia de Camada Delgada).

**Palavras-chave:** Mamona, Ricinina, Alcaloide, extração.

## ABSTRACTS

RONNSEN, Marilia E. Extraction of alkaloids from seed of castor bean (*Ricinus communis* L.). 2011.32 f.Trabalho completion of course (Bachelor of Industrial Chemistry). Federal Technological University of Parana. Pato Branco, 2011.

The castor bean (*Ricinus communis* L.) is an oleaginous plant widely cultivated in Brazil, to produce an oil with unusual qualities, used in the manufacture of various cosmetics, pharmaceuticals, textiles including biodiesel. The industrialization of castor oil produces a residue known as castor bean, which has qualities as a fertilizer and soil could also be used as animal feed because it has lots of protein. But has a high degree of toxicity, due to the presence of ricin toxalbumina, alkaloid ricinine and complex allergen CB-1A. The present work aims to extract and quantify the alkaloids present in castor beans. Checking its existence or not by revealing specific and CCD (Thin Layer Chromatography).

Keywords: Castor bean, ricinine, alkaloid extraction.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Triglicérideo do ácido ricinoléico .....	16
Figura 2 - Estrutura tridimensional da Ricina.....	17
Figura 3 - Fórmula estrutural da ricinina.....	18
Figura 4 - reagentes : 1 Dragendorff , 2 Mayer e 3 Hager.....	25
Figura 5 - Cristais de ricinina.....	27
Figura 6 - Teste biomassa : 1 Dragendorf , 2 Mayer e 3 Hager .....	28
Figura 7 - Teste solução acrescida de álcool etílico: 1 Dragendorff e 2 Hager .....	28
Figura 8 - Cromatoplaça solução banho de gelo.....	29
Figura 9 - Cromatoplaça : 1 lavagem do papel filtro, 2 resíduo da filtração e 3 cristais .....	29

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Poder fertilizante de alguns adubos orgânicos Kg/ton - 1933 .....	15
Tabela 2 - Variação do teor de ácidos graxos no óleo de mamona - 1986 .....	15
Tabela 3 - Setores de aplicação dos óleos e corpos graxos obtidos a partir da mamona - 2001 .....	16

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	<b>13</b>
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>13</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1 Mamona</b> .....	<b>14</b>
3.1.1 Ricina .....	17
3.1.2 Ricinina.....	18
3.1.3 CB-1A Castor-bean allergen .....	20
<b>3.2 Metabólitos secundários</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3 Alcaloides</b> .....	<b>21</b>
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>23</b>
<b>4.1 Coleta da biomassa vegetal</b> .....	<b>23</b>
<b>4.2 Secagem</b> .....	<b>23</b>
<b>4.3 Preparo do extrato em solvente lipofílico</b> .....	<b>23</b>
4.3.1 Preparo do Extrato 1 .....	23
4.3.2 Preparo do Extrato 2 .....	24
<b>4.4 Preparo dos reagentes específicos</b> .....	<b>24</b>
4.4.1 Reagente de Dragendorff .....	24
4.4.2 Reagente de Mayer .....	25
4.4.3 Reagente de Hager .....	25
<b>4.5 Teste da presença de alcaloides no extrato de mamona extrato 2</b> .....	<b>25</b>
<b>4.6 Cromatografia de Camada Delgada (CCD)</b> .....	<b>26</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>31</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma planta originária da África, da família das euforbiáceas e tem se destacado por ser produtora de um óleo especial, solúvel em álcool, sendo o mais denso e viscoso de todos os óleos vegetais e animais, tendo propriedades singulares que o fazem o mais versátil de todos, com mais de 1000 aplicações industriais e considerado um dos melhores para produção de biocombustíveis, como o biodiesel.

Desde 1940, a mamona encontrou condições favoráveis para se desenvolver no Brasil, o mesmo foi o primeiro produtor mundial de bagas desta euforbiácea (DEMANT, 2008). Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de mamona, e o segundo exportador mundial de óleo obtido das sementes dessa oleaginosa (SAVY FILHO, 2005).

O óleo desta oleaginosa tem sido usado com diversas finalidades, que vão desde a produção de sabões, manufatura de cosméticos, germicidas, lubrificantes de aeronaves militares, fabricação de corantes, desinfetantes aderentes, além de diferentes polímeros. Assim, o cultivo da mamona tem sido destinado praticamente à industrialização do óleo, obtendo-se como subproduto a torta da mamona. A torta da mamona é utilizada como adubo orgânico pois é um produto de baixo valor agregado se comparado com sua aplicação como alimento animal. Seu alto teor de nitrogênio (5%) e presença de outros macronutrientes como, por exemplo, a fibra (35%) torna-a um excelente adubo que contribui também para o fornecimento de matéria orgânica para o solo (SILVA, 1971; *apud* FORNAZIERI JÚNIOR, 1986).

A torta, resultante da última prensagem, é moída e transformada em farelo, rico em nitrogênio, que possui, como fertilizante, a capacidade de restauração de terras esgotadas (SILVA JUNIOR. et al., 1996). Apesar de apresentar um alto teor de proteínas (32 a 40%), não se recomenda o uso da torta para ração animal, pois esta é tóxica devido à presença da proteína ricina (toxoalbumina), do alcaloide volátil ricinina e do complexo alergênico, denominado nas décadas passadas de CB-1A (*castor-bean allergen*) (SILVA JUNIOR et al., 1996). Segundo Demant, (2008), estas toxinas são constituídas por complexos de duas cadeias de ricina e aglutinina (RCA), que atuam paralisando os ribossomos e interrompendo assim a produção de proteínas.

Atualmente, existem diversos métodos baseados nas mais diferentes técnicas analíticas para a extração e quantificação dos metabolitos secundários presentes na mamona. Destes, os métodos cromatográficos apresentam-se como de excelente resolução, separando de forma satisfatória os compostos de interesse daqueles co-extraídos, além de apresentarem excelente precisão e exatidão (CARDOSO et al., 2007).

Considerando a elevada produtividade e crescente inovação em adventos de métodos, objetivou-se nesse trabalho avaliar a preparação de extratos, sua respectiva extração, e posteriormente a detecção dos metabolitos secundários (alcaloides) em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.)

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Realizar a extração e detecção de alcaloides presentes em sementes de mamona.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Realizar a extração de alcaloides;
- Preparar reagentes específicos para detecção de alcaloides
- Realizar testes qualitativos para detecção de alcaloides;

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Mamona

A mamona (*Ricinus communis L.*) é uma planta oleaginosa (planta que possui óleos e gorduras que podem ser extraídos por meio de processos adequados) da família das Euforbiáceas, originária da Etiópia, no Continente Africano. É um gênero monotípico, o que significa que é a única espécie do gênero *Ricinus* (CANGEMI et al., 2009).

Existem relatos que há pelo menos 4000 anos a mamona era utilizada pelos egípcios para iluminação e produção de unguentos. No Brasil, a planta foi trazida pelos portugueses com a finalidade de utilizar seu óleo para iluminação e lubrificação de eixos de carroça (CANGEMI et al., 2009).

O clima tropical facilitou seu alastramento, a ponto de, hoje, a mamona ser encontrada de norte a sul do país. Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial, perdendo para China e Índia. O estado da Bahia concentra 85% da produção nacional (ADITAL, 2009).

A mamoneira tem elevado valor industrial, pois dela muito se aproveita. A haste, além de fornecer celulose própria para a fabricação do papel, fornece matéria-prima para a produção de tecidos rústicos. As folhas servem de alimento para o bicho da seda. Das sementes, que são o principal foco da produção dessa oleaginosa, extrai-se um óleo que é uma das principais matérias para a produção de biodiesel, plásticos, fibras sintéticas, esmaltes, resinas e lubrificantes.

Na área médica, com os biopolímeros, tem-se uma revolução na produção de órgãos artificiais do corpo humano e próteses.

Como subproduto da industrialização da mamona, obtém-se a torta, que possui a capacidade de restaurar terras esgotadas, pela sua adição ao solo, com dosagens variando de acordo com a cultura e o tipo de solo e da riqueza ou não de nutrientes, além de suprir as necessidades nutricionais das plantas, a adição ao solo aumenta o pH do solo, eleva o conteúdo de carbono e promove a melhoria geral na parte física do mesmo (LEAR, 1959). Além de possuir alto teor de nitrogênio, fósforo,

potássio e cálcio quando comparada a outros adubos comumente utilizados (Tabela 1).

Tabela 1- Poder fertilizante de alguns adubos orgânicos Kg/ton - 1933

<i>Fonte</i>	<i>Nitrogênio (%) (N)</i>	<i>Fósforo (%) (P)</i>	<i>Potássio (%) (K)</i>	<i>Cálcio (%) (Ca)</i>
Torta de mamona	37,70	16,20	11,20	64,10
Esterco bovino	3,40	1,30	3,50	8,20
Esterco misto	5,0	2,60	0,53	8,13
Torta de algodão	31,30	12,70	11,70	55,70

Fonte: Bayma,1933.

O óleo de mamona possui características químicas atípicas quando comparadas à maioria dos óleos vegetais, sendo entre 84,0 e 91,0% da sua composição correspondente a presença do triglicerídeo do ácido ricinoléico, que é um ácido graxo hidroxilado não muito frequente nos óleos vegetais (CANGEMI et al., 2009).

A Tabela 2 mostra a composição média (em faixas) do teor de ácidos graxos no óleo de mamona.

Tabela 2 - Variação do teor de ácidos graxos no óleo de mamona - 1986

<i>Ácido Graxo</i>	<i>Porcentagem</i>
Ácido Ricinoléico	84,0-91,0
Ácido Linoléico	2,9-6,5
Ácido Oléico	3,1-5,9
Ácido Esteárico	1,4-2,1
Ácido Palmítico	0,9-1,5

Fonte: MOSHKIN,1986.

A estrutura molecular do triglicerídeo do ácido possui a particularidade de ser um dos poucos ácidos graxos naturais cuja estrutura química (Figura1) possui três grupos funcionais altamente reativos: o grupo carbonila no primeiro carbono, a dupla ligação (ou insaturação) no 9º carbono e o grupo hidroxila no 12º carbono (CANGEMI, 2006).

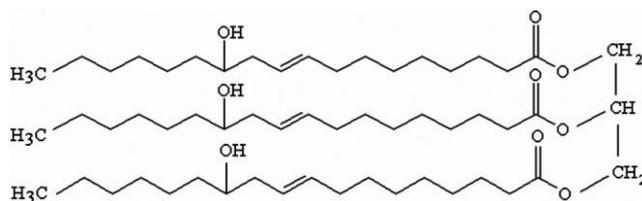


Figura 1 - Triglicerídeo do ácido ricinoléico  
Fonte: CANGEMI et al., 2009.

Esses grupos funcionais fazem com que o óleo de mamona possa ser submetido a diversos processos químicos, que por meio da ricinoquímica (a química do óleo de mamona) produzem diversos produtos, nos mais variados setores, dentre estes, médico, farmacêutico, cosméticos e aeronáutico, conforme demonstra a Tabela 3.

Tabela 3 - Setores de aplicação dos óleos e corpos graxos obtidos a partir da mamona - 2001

<b>Óleos e corpos graxos</b>	<b>Aplicações industriais</b>
Ácidos graxos e derivados	Plástico, agentes de higiene e limpeza, sabões, cosméticos, corantes têxteis, borrachas, lubrificantes, indústria de couro e papel
Ésteres metílicos de ácidos graxos	Cosméticos, agentes de higiene e limpeza, biodiesel
Glicerol e derivados	Cosméticos, pasta dental, produtos farmacêuticos, comestíveis, lacas, plásticos, resinas sintéticas, explosivos e processamento de celulose
Alcoóis graxos e derivados	Agentes de higiene e limpeza, têxteis, cosméticos, Indústrias de couro e papel
Aminas graxas e derivados	Mineração, biocidas, indústrias têxteis e fibras, aditivos para óleos minerais
Óleos secantes	Lacas, corante, vernizes
Derivados de óleos neutros	Sabões

Fonte: Freire, 2001.

Após a extração do óleo por prensagem uma massa orgânica chamada torta de mamona fica retida nos filtros (GANDHI; CHERIAN; MULK, 1994). A torta de mamona bruta apresenta compostos tóxicos e alergogênicos, que são: a proteína tóxica ricina, o alcaloide relativamente inofensivo ricinina e um alergogênico, o *castor-bean allergen* (CB-1A), sendo este uma mistura de proteínas de baixo peso molecular e polissacarídicas (WEIS, 1983).

A produção de torta de mamona corresponde a aproximadamente 1,2 toneladas para cada tonelada de óleo extraída. Dependendo da semente utilizada e do cultivo, esse valor pode variar (COSTA, 2004). A torta de mamona desintoxicada

e sem o alergogênico pode ser utilizada como complemento em rações animais devido ao seu elevado valor protéico, aproximadamente 42,5% de proteína bruta.

Os compostos tóxicos e alergogênicos da mamona serão descritos especificamente abaixo.

### 3.1.1 Ricina

É proteína de toxidez elevada, presente em torno de 6 a 9% em composição na baga (LIMA, 2007). É membro da família chamada de toxinas A-B, que são proteínas produzidas por plantas e bactérias e que possuem alta capacidade de penetração nas células humanas tornando-as altamente letais. Devido a sua ação catalítica sobre polipeptídios (A cadeia A ou Ricina A (RTA)), se liga de maneira covalente via ligação simples de disulfeto, ligando-se aos polipeptídios da célula (A cadeia B ou RTB) (LORD; ROBERTS; ROBERTUS, 1984).

A ricina pode ser eliminada por processo de cozimento com vapor de água saturado, pois apresenta uma baixa estabilidade térmica e solubilidade em água. A estrutura tridimensional da ricina é mostrada na Figura 2.

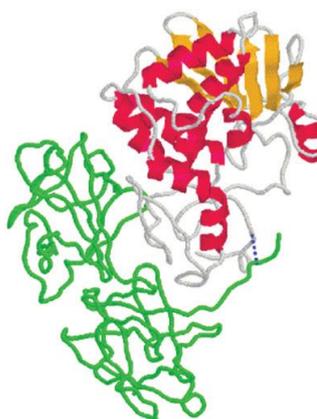


Figura 2 - Estrutura tridimensional da Ricina.  
Fonte: LIMA, 2007.

A ricina pode ser fatal, mesmo em pequenas doses. Quando inalada é extremamente tóxica, tendo sido utilizada como arma química em guerras e em bioterrorismo. Quando administrada pelas vias aéreas, pode causar edema pulmonar ou inflamações nos alvéolos. A morte ocorre como uma consequência de

uma severa falta de oxigenação no sangue, uma vez que ocorre a falência do fluxo alveolar não havendo assim a captura de oxigênio (DEMANT, 2008).

O Centro Britânico de Controle e Prevenção de Doenças classifica a substância como do tipo B, uma ameaça moderada. É considerada relativamente fácil de ser produzida em quantidades pequenas (BBC BRASIL, 2003).

### 3.1.2 Ricinina

Segundo Leite et al. (2005), outro componente tóxico encontrado na mamona é a ricinina (Figura 3), um alcaloide tóxico que possui fórmula molecular ( $C_8H_8N_2O_2$ ), nomeada 1,2-dihidro-4-metoxi-1-metil-2-oxo-3-piridinocarbonitrila, cuja fórmula estrutural é formada por um monocíclico derivado da piridina com o grupo cianeto. Ocorrendo normalmente nas sementes, mas também é encontrada nas folhas.

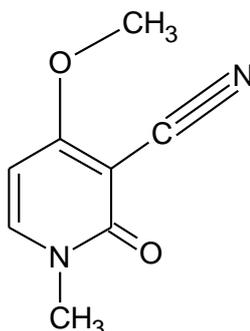


Figura 3 - Fórmula estrutural da ricinina.  
Fonte: Ronssen, 2011

Possui massa molecular igual a 164,16, toxicidade ( $LD_{50}$ )  $19-20 \text{ mg Kg}^{-1}$  para ratos. Os sintomas de envenenamento por ricinina são semelhantes aos da ricina, incluindo: vômitos, dores abdominais fortes, sede extrema, diarreia com sangramento, aceleração do batimento cardíaco, convulsões e morte.

A ricinina é pouco afetada pelos tratamentos térmicos com vapor, passando para as tortas residuais. Encontra-se nas bagas em quantidades relativamente pequenas, cerca de 0,3%.

Possui ponto de fusão entre  $200$  e  $201^\circ\text{C}$  e uma temperatura de sublimação de  $152^\circ\text{C}$ . O tratamento da torta com calor a vapor não elimina a ricinina eficientemente, já o tratamento com a amônia elimina cerca de 25% da ricinina, mas

possui como desvantagem a formação de produtos de degradação cuja toxidez não foi ainda avaliada (LEITE et al., 2005).

### 3.1.3 CB-1A Castor-bean allergen

O complexo alergênico CB-1A (*Castor-bean allergen*) é um composto não tóxico, porém de elevada ação alergogênica, que na baga está presente em torno de 3 a 6%. E na torta representa cerca de 12,5% do peso (GARDNER et al., 1960). Esta substância está presente na semente, pólen e partes vegetativas da planta. Em pessoas expostas continuamente ao CB-1A podem surgir sintomas alérgicos como: conjuntivite, fobia à luz, faringite, dermatite urticária e bronquite asmática, embora não tenham sido constatados sintomas alérgicos em animais (TÁVORA, 1982). Em um levantamento feito por Weiss (1971), *apud* Távora, (1982), o teor de CB-1A na torta de diversas cultivares variou entre 6,1 e 9,0%.

Para uso da torta de mamona como alimento animal, o CB-1A não representa grande entrave, pois sua alergenicidade só é danosa quando ele é injetado ou absorvido pela respiração, o que só acontece se houver exposição a grandes quantidades do produto em ambiente pouco ventilado (BANDEIRA et al., 2004).

## 3.2 Metabólitos secundários

No interior das células dos vegetais, ocorre um conjunto de reações químicas denominadas metabolismos vegetal. Para fins didáticos, ele é dividido em primário e secundário, contudo não há uma linha divisória definida entre ambos.

A fotossíntese é um processo sintético primário, por meio da qual os vegetais utilizam a energia solar para a produção de compostos orgânicos. Um pequeno grupo de metabólitos primários inicia a síntese de outros compostos em reações catalisadas enzimaticamente. As rotas metabólicas são estabelecidas pela presença de enzimas específicas dentro das células vegetais. As degradações, formações e transformações oriundas desse processo formaram os metabólitos secundários (SALOMÉ, 2007).

Os metabólitos secundários tem como função a defesa contra herbívoros e microrganismos; à proteção contra os raios UV (ultravioleta), à atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes, bem como produção de substâncias alelopáticas, como nutriente, dependendo de cada caso específico (SIMÕES et al., 2004).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: alcaloides, terpenos e compostos fenólicos. Os alcaloides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina). Os terpenos são sintetizados a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). E os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. (SALOMÉ, 2007).

Nesse trabalho serão estudados os metabólitos secundários alcaloides, explanados a seguir.

### 3.3 Alcaloides

Alcaloides (termo linguisticamente derivado da palavra árabe *alquali*, denominação vulgar da planta da qual a soda foi originalmente obtida) são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados predominantemente nas angiospermas. Na sua grande maioria, possuem caráter alcalino, com exceções tal como colchicina, piperina, oximas e alguns sais quaternários como o cloridrato de larifolina (SIMÕES et al., 2004).

Os alcaloides podem ser encontrados em todas as partes de um vegetal, contudo, em um ou mais órgãos, haverá um acúmulo preferencial dessas substâncias. Esse acúmulo ocorre principalmente em quatro tipos de tecidos ou células: (i) tecidos com crescimento ativo; (ii) células epidérmicas e hipodérmicas; (iii) bainhas vasculares e (iv) vasos lactíferos (SIMÕES et al., 2004).

De acordo com Pelletier, (1988), a definição para alcaloides seria:

“Um alcaloide seria uma substância orgânica, de origem natural, cíclica, contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos” (SIMÕES et al, 2004).

Essa definição facilita a classificação dos alcaloides, uma vez que essa classe de substância apresenta certas dificuldades devido a uma ausência de separação precisa entre alcaloides e aminas complexas de ocorrência natural.

A formação do sistema heterocíclico dos alcaloides ocorre através de dois mecanismos gerais: reações do tipo Mannich e formação de bases de Schiff.

Os alcaloides se subdividem em inúmeras subclasses, de acordo com o aminoácido precursor:

-Triptofano: alcaloides indólicos e quinolínicos;

-Ornitina e lisina: alcaloides pirrolidínicos, tropânicos, pirrolizidínicos, piperidínicos e quimolizidínicos;

-Fenilalanina e tirosina: protoalcaloide, alcaloides isoquinolínicos e benzilisoquinolínicos.

Os alcaloides pirrolizidínicos têm ação de proteção da planta contra predadores, sendo substâncias muito tóxicas, agindo de maneira deletéria principalmente sobre hepatócitos (COSTA, 2008).

## **4 METODOLOGIA**

A extração do alcaloide ricinina das sementes de *Ricinus communis* mamona foi possível através de métodos de isolamento e purificação. A identificação foi realizada por meio de teste específico para essa classe de metabólitos segundo Matos, (1997), com posterior confirmação por análise cromatografia conforme descrito a seguir.

### **4.1 Coleta da biomassa vegetal**

A biomassa vegetal foi coletada em terrenos baldios do município de Pato Branco durante os meses de setembro à novembro de 2011. Após cada coleta, o material vegetal era encaminhado imediatamente para secagem em estufa.

### **4.2 Secagem**

O processo de secagem foi realizado em estufa a 40 °C durante um período de 24 horas.

### **4.3 Preparo do extrato em solvente lipofílico**

#### **4.3.1 Preparo do Extrato 1**

Após a secagem do material vegetal removeu-se o pericarpo e pesou-se 57 g. Em seguida foram trituradas em moinho. O material assim obtido permaneceu, a frio, por 24 h, sendo extraído em éter etílico (200 mL) Passado esse período, filtrou-se o extrato e o filtrado foi descartado. Ao material sólido foram adicionados 130 mL de etanol a frio, permanecendo assim por 24 h. Após, procedeu-se a evaporação do etanol em evaporador rotativo para a concentração do extrato. Deixou-se em

repouso a 5°C por 24 h para a cristalização da ricinina. A cristalização foi efetuada com adição de etanol a frio (CARDOSO et al., 2007).

#### 4.3.2 Preparo do Extrato 2

Após a secagem do material vegetal removeu-se o pericarpo e a tegumento (casca da semente) e pesou-se 15 g, que foram trituradas em moinho. Após foram adicionados 100 mL de éter etílico, permanecendo por 24 h, a frio. Em seguida, filtrou-se o extrato e o filtrado foi descartado. O material sólido permaneceu por 24 h, imerso em 30 mL de etanol a frio. Em seguida procedeu-se a evaporação do etanol em evaporador rotativo para a concentração do extrato. Deixou-se em repouso a 5°C por 24 h para a cristalização da ricinina. Os cristais foram obtidos fazendo a dissolução à quente da biomassa vegetal em banho maria. Em seguida, foi filtrado à quente, utilizando-se um funil comum e o líquido proveniente dessa filtração foi levado a um banho de gelo, a fim de que os cristais se formassem. Após 24 h, filtrou-se em funil de Buchner.

Parte da biomassa restante da filtração foi levada à estufa e submetida a 100°C, durante 20 min.

### 4.4 Preparo dos reagentes específicos

#### 4.4.1 Reagente de Dragendorff

Em banho de gelo, foram dissolvidos 5 g de carbonato de bismuto em 50 mL de água destilada. Cuidadosamente, adicionou-se 12 mL de ácido clorídrico concentrado e, por fim, gradativamente, foi adicionado 25 g de iodeto de potássio, sendo que o volume foi completado para 100 mL com água destilada.

#### 4.4.2 Reagente de Mayer

Dissolveu-se 1,35 g de cloreto de potássio em 60 mL de água destilada e 5 g de iodeto de potássio em 20 mL de água. Posteriormente, as duas soluções foram misturadas e o volume completado para 100 mL com água destilada.

#### 4.4.3 Reagente de Hager

Ácido pícrico a 2%.

Dissolveu-se 4,58 g de ácido pícrico em 100 ml de água.

A figura 4 mostra os três reagentes preparados segundo os itens 6.4.1, 6.4.2 e 6.4.3.



**Figura 4 - reagentes : 1 Dragendorff , 2 Mayer e 3 Hager**  
Fonte: Ronssen, 2011

#### 4.5 Teste da presença de alcaloides no extrato de mamona extrato 2

Uma pequena amostra da biomassa que permaneceu na estufa foi dissolvida em clorofórmio e parte dessa solução foi utilizada para o teste da presença de alcaloides com os reagentes específicos. Essa dissolução foi distribuída igualmente em três tubos de ensaio. Nos tubos 1, 2 e 3 foram adicionadas 3 gotas do reagente de Mayer, do reagente de Hager e do reagente de Dragendorff, respectivamente.

Outra alíquota dessa dissolução da biomassa em clorofórmio foi acrescida com álcool etílico. E a distribuição em três tubos de ensaio e o acréscimo dos reagentes ocorreu como descrito anteriormente.

#### 4.6 Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

Para análise da ricinina por Cromatografia de Camada Delgada (CCD), primeiramente aplicou-se a amostra da solução que estava em banho de gelo em uma placa de sílica. Preparou-se 10 mL do sistema de solventes Hexano/Acetato de etila na proporção 70:30 (v/v) e colocou-se a placa em uma cuba cromatográfica. Essa placa foi retirada da cuba e deixou-se secar por alguns minutos. Então a placa foi revelada utilizando-se luz UV (257 e 365 nm) e após a visualização colocou-se a placa em recipiente tampado contendo iodo, por 12 h, com objetivo queimar toda a sílica para revelar as substâncias ali contidas.

Os cristais obtidos no processo de secagem em estufa da biomassa vegetal da filtração comum foram dissolvidos em clorofórmio. O líquido sobressalente da filtração em funil de Buncher foi acrescido de clorofórmio. Por fim, o papel de filtro utilizado no funil de Buncher foi lavado com clorofórmio.

As soluções obtidas anteriormente foram aplicadas em uma placa de sílica, em seguida a placa foi colocada em uma cuba cromatográfica composta por uma solução de Hexano/Acetato de Etila 70:30 (v/v). Após, foi realizada a revelação em luz UV (257 e 365 nm), após a visualização, colocou-se a placa em recipiente tampado contendo iodo, por 12 h, com o objetivo de queimar toda a sílica para revelar as substâncias ali contidas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

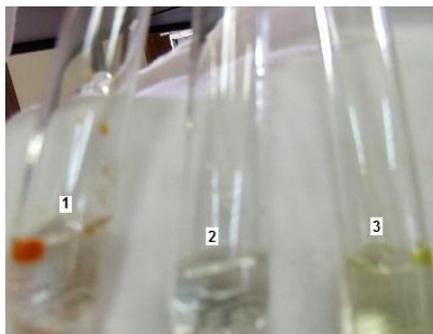
A primeira tentativa de obtenção dos cristais de ricinina não foi bem sucedida. Provavelmente por não ser sido retirado o tegumento (casca) das sementes, dificultando dessa forma, a extração dos metabólitos de interesse. Além disso, a grande quantidade de amostra foi prejudicial no processo de extração realizado pelos solventes e também na observação da formação dos cristais pelo operador. A cristalização em temperatura ambiente realizada na primeira tentativa também não obteve sucesso, pois a ricinina é um alcaloide, desta forma, um composto orgânico pouco solúvel em solventes orgânicos a temperatura ambiente (Matos,1997). Na segunda tentativa, com a remoção do tegumento (casca) e a utilização da extração à quente, o resultado foi satisfatório porquanto houve a formação dos cristais.

A literatura indica que os cristais se formariam na fase líquida após o banho de gelo. Contudo, os cristais se formaram na fase sólida, ou seja, na biomassa vegetal que foi levada a estufa a 100°C. Após o resfriamento em temperatura ambiente, os cristais foram observados como mostra a figura 4.



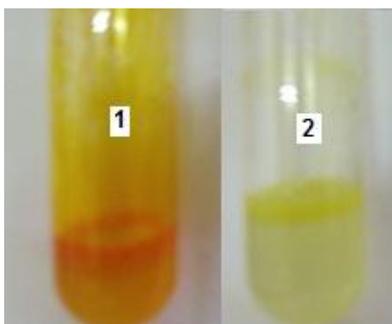
**Figura 5 - Cristais de ricinina**  
Fonte: Ronssen, 2011.

O teste para presença de alcaloides feito na dissolução da biomassa seca em estufa com clorofórmio foi inconclusivo, pois os reagentes não interagiram com a amostra, como mostrado na Figura 6.



**Figura 6 - Teste biomassa : 1 Dragendorff , 2 Mayer e 3 Hager**  
Fonte:Ronssen,2011.

Isso ocorreu porque estes reagentes não interagem com fases orgânicas. Quando as amostras foram acrescidas de álcool etílico, o resultado foi positivo para o reagente de Dragendorff e Hager, ocorrendo a formação do precipitado floculoso, conforme observado na figura 7.



**Figura 7 - Teste solução acrescida de álcool etílico: 1 Dragendorff e 2 Hager**  
Fonte:Ronssen,2011.

O reagente de Mayer não reagiu. Contudo, segundo Mattos (1997), quando existem dois reagentes positivos, a existência do alcaloide é confirmada.

A CCD realizada a partir da solução que estava em repouso no banho de gelo para formação dos cristais mostrou resultado positivo. Mesmo com a alta concentração de solvente na amostra, pode-se observar através da luz UV e do iodo revelador a presença do composto ricinina, conforme figura 8.



**Figura 8 - Cromatoplaça solução banho de gelo**

Fonte: Ronssen,2011.

A CCD realizada com as amostras dos cristais, do resíduo da filtração e a da lavagem do papel filtro, mostrou resultado positivo, mesmo com a baixa concentração de solvente nas amostras. Entretanto, não foi possível a visualização através da luz UV, mas sim através do iodo revelador, como mostra a figura 9.



**Figura 9 - Cromatoplaça : 1 lavagem do papel filtro, 2 resíduo da filtração e 3 cristais**

Fonte: Ronssen, 2011.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ricinina é o principal alcaloide presente na mamona e, como alcaloide, é um metabólito secundário tóxico, daí o grande cuidado ao se trabalhar com a extração da mamona.

Este trabalho apresentou a extração da ricinina a partir de sementes de mamona, a frio e a quente, sendo que esta última forma foi mais eficiente.

Testes qualitativos, utilizando reveladores específicos, foram usados, obtendo-se resultados positivos.

Contudo, uma maior purificação das amostras traria resultados mais confiáveis, com melhor visualização tanto nos teste qualitativos quanto por CCD.

A análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) prevista não foi possível, em função de que o equipamento está temporariamente inoperante. Portanto, pretende-se, em outro trabalho de conclusão de curso, fazer essa análise.

Outro estudo realizado, mas cujos resultados não constam neste trabalho, foi a obtenção experimental da curva de secagem dos frutos da mamona. Esse estudo permite o conhecimento do comportamento do produto durante a secagem, na obtenção da equação de razão de umidade para a modelagem e simulações de secagem dos frutos. Esses resultados não foram conseguidos em tempo hábil para serem relatados neste trabalho. Mas as análises serão discutidas e tem-se a intenção de originarem um artigo a ser submetida para publicação.

## REFERÊNCIAS

ADITAL. Brasil - **Mamona, biocombustível e agricultura familiar no semiárido**. Disponível em: <<http://www.adital.org.br/site/noticia.asp?lang=PT&cod=31823>>. Acesso em 20 jun. 2011

BANDEIRA, D.A. CARTAXO, W.V. SEVERINO, L.S. BELTÃO, N.E. M; Resíduos industriais da mamona como fonte alternativa na alimentação animal. In: Congresso Brasileiro de Mamona, 1., 2004, Campina Grande. Energia e sustentabilidade - **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004. s.p.

BAYMA, A.C. Indústria da mamona. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1933.  
FREIRE, R. M. M. **Ricinoquímica**. In: AZEVEDO, D. M. P. e LIMA, E. F. (Orgs.). O agronegócio da mamona no Brasil. Brasília: Embrapa, 2001. p. 295-335

BBCBRASIL.COM. **Suspeitos de produzir ricina são acusados de terrorismo**. 2003. Disponível em: <[http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2003/030111\\_ricinaae.shtml](http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2003/030111_ricinaae.shtml)>. Acessado em jun. 2011.

CARDOSO, D.; GUEZO, L.; CASTRO, J.; COELHO, M.; BRITO, M. N. **Desenvolvimento de método analítico para determinação de Ricinina por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por uv-visível**. In II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, 10. , 2007, João Pessoa. Disponível em: <[http://www.redenet.edu.br/publicacoes/arquivos/20080221\\_100901\\_QUIM-013.pdf](http://www.redenet.edu.br/publicacoes/arquivos/20080221_100901_QUIM-013.pdf)>, acessado em: 24 jun. 2011.

COSTA, C. T. C. **Atividade anti-helmíntica e imunomoduladora de extratos de *Cocos nucifera L.*** UECE - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Fortaleza - CE, 2008.

COSTA, F. X. ; SEVERINO, L. S. ; BELTRÃO, N. E. M. ; FREIRE, R. M. M. ; LUCENA, A. M. A. ; GUIMARÃES, M. M. B. Composição química da torta de mamona. In Congresso brasileiro de mamona, 1., 2004, Campina Grande. Energia e sustentabilidade - **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004. s.p.

DEMANT, R. Carlos Alberto. **Metodologia Para Quantificar Ricina em sementes de Mamona com o uso de *Caenorhabditis elegans***. 2008. 45f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp- Campus de Botucatu, Botucatu, 2008.

FORNAZIERI JÚNIOR, A. **Mamona: uma rica fonte de óleo e de divisas**. São Paulo: editora Ícone, 1986. 71 p.

GARDNER JUNIOR, H. K. ; D'AQUIN, E .L. ; KOLTUN, S. P. ;McCOURTNEY, E. J.; VIX, H.L.E. **Detoxification and deallergenization of castor beans**. *The Journal of the American Oil Chemists Society* 37, 142-148, 1960.

GHANDHI, V. M. ; CHERIAN, K. M. ; MULKY, M. J. **Detoxification of castor seed meal by interaction with sal seed meal**. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 71, p. 827-831, 1994.

LEAR, B. **Application of castor pomace and cropping of castor beans to soil to reduce nematóide populations**. *Plant Disease Report*, v. 43, 1959.

LEITE, A. C. ; FERNANDES, J. B.; CABRA, E. C. ; VIEIRA, P. C.; SILVA, M F. das G. F. Isolamento do alcaloide ricinina das folhas de *ricinus communis* através de cromatografias em contracorrente. **Química Nova**, Brasil, 2005.

LIMA, E.P. Estudo da estrutura e função da ricina e de tecnologia para o uso da torta de mamona como alimento animal. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, 2., 2007, Joao Pessoa. **Anais...** João Pessoa: 2007.s.p

LORD, J. M.; ROBERTS, L. M. ; ROBERTUS, J. D. Ricin: structure, mode of action, and some current applications. **FASEB Journal**, Stanford, USA, p. 201-208, 1984.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2 Ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

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

SIMÕES, C. M. O. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Ed. 4ª. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora UFRS/ UFSC, 2004.

SALOMÉ, R. Juliana. **Análise fitoquímica dos princípios ativos, filantina, hipofilantina, e nirantina da espécie quebra-pedra (*Phyllanthus amarus* Schumach & Thonn), sob condições de déficit hídrico**. 2007. 94f. Tese (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

SAVY FILHO, A. **Mamona tecnologia agrícola**. Campinas: EMOPI, 2005. 105p

SILVA JUNIOR, J. G.; MACHADO, O. L. T., IZUMI, C.; PANDOVAN, J. C.; CHAIT, B. T., MIRZA, U. A.; GREENE, L. J. **Aminoacid sequence of new 2S albumin from *Ricinus communis* with is part of 29-Kda precursor protein**. Archives of Biochemistry and Biophysics. Vol336, p10-18, 1996.

SILVA, N. M. **Estudo preliminar do emprego de torta de mamona associada à adubação mineral do algodoeiro**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 1971. 8p.

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

WEISS, E.A. **Castor**. In: WEISS, E.A. (org.) Oilseed crops. London: Longman, 1983. p. 31-99.