

Análise e identificação de esteróides em óleo e biodiesel de soja
Kelly da Silva BEZERRA¹; Nelson Roberto Antoniosi FILHO¹

¹Laboratório de Métodos de Extração e Separação (LAMES)
Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO 74001-970, Brasil
E-mail: kizarrezeb@hotmail.com

Palavras-chave: óleo de soja, esteróides, cromatografia gasosa.

Introdução

Óleos e gorduras são lipídeos derivados de ácidos graxos insaturados e apresentam-se como misturas triacilglicéridicas líquidas à temperatura ambiente. Seus componentes químicos minoritários são aqueles que formam a chamada matéria insaponificável, que corresponde ao material constituído principalmente de esteróides, pigmentos, tocoferóis, dentre outras classes. A maioria destes componentes secundários é eliminada durante algum tipo de processamento do óleo. Já outros constituintes podem tornar-se valiosos subprodutos [1].

O biodiesel é um combustível alternativo composto de uma mistura de alquil ésteres obtida a partir de ácidos carboxílicos de compostos graxos de cadeia longa, por meio de um processo reacional o qual promove a linearização da molécula tridimensional do ácido graxo, tornando-a similar à do óleo diesel. O principal processo utilizado para a produção de biodiesel a partir de óleos graxos é a reação de transesterificação. A qualidade do biodiesel é determinada pela composição química e propriedades físico-químicas. Além do glicerol, componentes secundários estão presentes na mistura final de seu processo de produção, como ocorre nos óleos e gorduras, afetando algumas propriedades do biodiesel.

Os esteróides são compostos lipídicos tetracíclicos que possuem esqueleto carbônico de C₂₇ a C₂₉, derivados do anel ciclopentanoperidrofenantreno, sendo classificados em fitoesteróides e colesterol (gordura animal). Os fitoesteróides são extraídos de espécies vegetais, como exemplo o β-sitosterol, campesterol, estigmasterol e brassicasterol. O grupo dos fitosteróides inclui mais de 250 combinações diferentes entre átomos, formando diferentes tipos de esteróides, os quais têm sido identificados em várias amostras provenientes de fontes lipídicas. Em geral, estes constituintes estão presentes na faixa de 1000 a 5000 ppm na composição de óleos graxos.

As substâncias esteroidais presentes em óleos podem estar distribuídas de várias formas como esteróides livres (álcool cíclico insaponificável - S), esteróides ligados a uma cadeia glicosídica (SG) e/ou esteróides ligados a uma cadeia glicosídica e a um ácido graxo (ASG) [3].

O conteúdo de esteróides presentes nos óleos é um parâmetro analítico importante, sendo utilizada na identificação de óleos, para detectar uma possível adulteração ou mesmo para a determinação de pureza [4]. Geralmente, o chamado perfil de esteróides, ou seja, os tipos de esteróides e as proporções relativas dos mesmos não são iguais nos óleos e gorduras, tornando-se assim uma impressão digital dos mesmos. No biodiesel a análise de esteróides se torna de grande importância na caracterização e identificação do combustível, por possibilitar distinguir a matéria-prima utilizada em sua produção.

Nesta perspectiva, este trabalho tem como objetivo propor uma metodologia para a extração e a análise cromatográfica de fitoesteróides a partir do óleo e do biodiesel metílico de óleo de soja.

Materiais e métodos

Amostras analisadas: óleo de soja bruto; óleo de soja refinado comercial; biodiesel metílico de óleo de soja produzido a partir do óleo de soja bruto; e biodiesel (B100) de matérias-primas desconhecidas fornecido pela distribuidora de combustíveis, Premium Brasil de Senador Canedo – GO.

O óleo de soja bruto foi extraído em soxhlet, a partir de sementes de soja, utilizando como solvente o hexano, durante 5 horas. Através da reação de transesterificação produziu-se biodiesel metílico utilizando o óleo de soja bruto extraído. Para isso, dissolveu-se 0,2 g de KOH em 4,5 mL de metanol à temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se esta solução em 10 g de óleo e deixou-se reagir por 120 minutos em erlenmeyer sobre agitação constante à temperatura de 60°C. A mistura (ésteres/glicerina) foi transferida para um funil de separação e mantida em repouso por 12 horas, e posteriormente separou-se o glicerol. Em seguida, fez-se a lavagem do biodiesel utilizando-se uma solução de HCl 0,1 mol/L, e depois com água deionizada.

Para a extração da matéria insaponificável [5], primeiramente realizou-se a reação de saponificação pesando 1 g da matéria (óleo ou biodiesel) em um tubo de

ensaio e adicionou-se 15 mL de etanol e 7 mL de KOH 50%. O tubo de ensaio foi tampado e deixou-se reagir em banho-maria a 60°C por 90 min. Após o tempo reacional, transferiu-se a mistura para um funil de separação. O tubo de ensaio foi lavado sucessivamente com: 20 mL de etanol, 10 mL de água fria, 10 mL de água quente e 3 mL de éter de petróleo, sendo o resíduo de lavagem transferido para o funil de separação. A matéria saponificada contida no funil de separação foi lavada com 25 mL de éter de petróleo por cinco vezes. Os extratos etéreos, os quais contêm a matéria insaponificável, foram combinados e lavados com 10 mL de solução aquosa de etanol 10% (v/v), por três vezes. O solvente foi evaporado em rotaevaporador.

Para a análise cromatográfica fez-se a derivatização da matéria insaponificável dissolvendo-a em 1000 µL de piridina, sendo 200 µL transferidos para um frasco de análise, no qual foi adicionado 100 µL de MSTFA [N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamida] (Aldrich®). O frasco foi agitado manualmente e deixado em repouso por 20 min. Logo após adicionou-se 500 µL de n-heptano e agitou-se em vórtex por 1 min.

A análise da matéria insaponificável foi realizada em cromatógrafo a gás Agilent Technologies 7890A, com detector por ionização em chama (FID) mantido a temperatura de 320°C. Foi utilizada uma coluna capilar DB17HT (30 m x 0,25 mm x 0,15 µm - 50%-fenil-metilpolisiloxano). O gás de arraste foi H₂ a vazão de 40 mL/min. A temperatura do injetor foi de 280°C, com injeção no modo splitless, para injeção de 2 µL de amostra. O forno operou inicialmente na temperatura de 200°C, sendo aumentada até 330°C na razão de 3°C/min, e mantida nesta temperatura por 5 min.

Resultados e discussão

A Figura 1 apresenta os cromatogramas obtidos na análise dos esteróides, para: óleo de soja bruto (1), óleo de soja refinado comercial (2), biodiesel produzido com o óleo de soja bruto (3) e biodiesel comercial fornecido por distribuidora de combustíveis (4). Nota-se que houve boa separação dos componentes nos cromatogramas obtidos. Estes resultados concordam com os informados por Khalid [6], que determinou a presença de campesterol, estigmasterol e β-sitosterol em óleo de soja, para investigar possíveis adulterações de azeite de oliva por óleos vegetais.

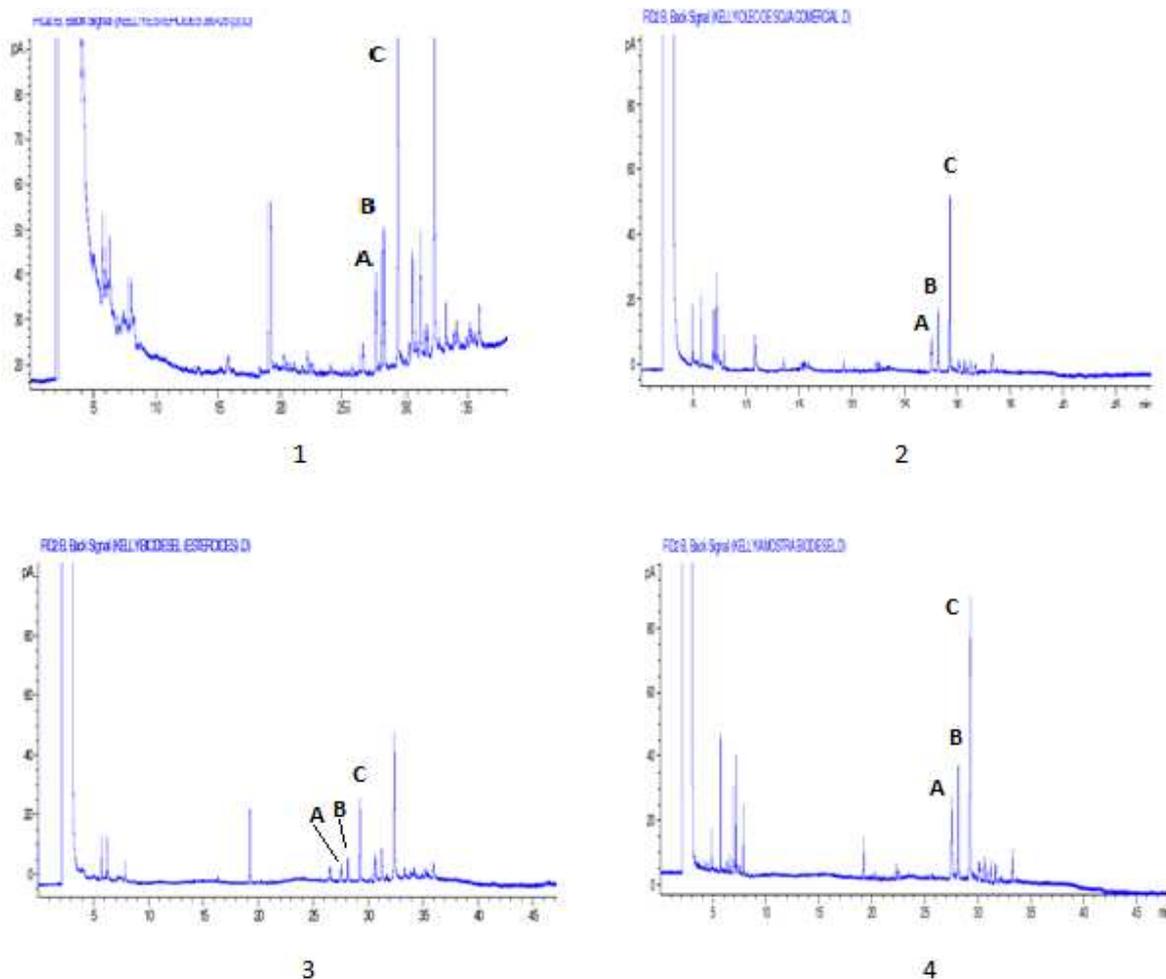


Figura 1. Cromatogramas obtidos da análise de esteróides. (1) óleo de soja bruto; (2) óleo de soja refinado comercial; (3) biodiesel produzido com o óleo de soja bruto; (4) e biodiesel fornecido por uma distribuidora de combustíveis.

No cromatograma referente ao óleo de soja bruto (1) é possível perceber claramente a presença dos esteróides livres na região de tempo de retenção entre 26 e 31 min. Conforme cromatogramas de padrões de esteróides encontrados na literatura [6], os picos de esteróides representam campesterol (pico A), estigmasterol (pico B) e β -sitosterol (pico C). É possível observar diferenças no cromatograma do óleo de soja bruto, bem como a intensidade dos picos de esteróides detectados consideravelmente maior, em relação ao óleo de soja refinado (2), uma vez que durante o processo de refino do óleo, boa parte da matéria insaponificável é eliminada, e nisso incluem os esteróides livres.

O biodiesel metílico de óleo de soja produzido (3) neste trabalho, partiu da utilização do óleo de soja bruto e não do óleo refinado, pois é mais visível a identificação dos esteróides e visa auxiliar na verificação da matéria-prima utilizada

para produção de biodiesel. O método proposto para a análise da rastreabilidade da matéria prima utilizada para a produção de biodiesel via análise de esteróides é aplicável como mostra o cromatograma do biodiesel adquirido via distribuidora de combustíveis, pois a mistura de diferentes matérias-primas utilizadas para a produção deste biodiesel comercial mostra a presença de óleo de soja, uma vez que o perfil de esteróides detectado é o mesmo obtido no cromatograma do óleo de soja refinado.

Conclusão

O método proposto para a obtenção dos fitoesteróides na matéria insaponificável mostrou-se satisfatório, pois é um método rápido e seguro já que o perfil de esteróides é reconhecidamente a “impressão digital” de uma matéria prima graxa. Além disso, por meio da análise cromatográfica obteve-se uma separação definida dos fitoesteróides na matéria insaponificável, com reduzido tempo de preparo e análise da amostra.

Agradecimentos: UFG, CNPq, Capes, Finep, Funape e MCT.

Referências bibliográficas

[1] Ivan Bohacenko and Zdena Kopicová. Detection of olive oils authenticity by determination of their sterol content using LC/GC. Czech J. Food Sci., vol. 19, n. 3, p. 97-103, 2001.

[2] Andrezza Beatriz Oliveira. Microencapsulamento de estigmasterol proveniente de *Musa paradisiaca* L., Musaceae. Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Paraná, Ciências Farmacêuticas, 2007.

[3] P. M. Panagiotopoulou and M. Tsimidou. Solid Phase Extraction: Applications to the Chromatographic Analysis of Vegetable Oils and Fats. Grasas y Aceites, vol. 53, p. 84-95, 2002.

[4] Inger Wretensjö and Bo Karlberg. Characterization of Sterols in Refined Borage Oil by GC-MS. JAOCS, vol. 79, n. 11, p. 1069-1074, 2002.

[5] Livro: Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, Capítulo XVI - Óleos e Gorduras. Instituto Adolfo Lutz (IAL). 4ª Edição, 1ª Edição Digital, pg. 593-629.

[6] Khalid M. Al-Ismail, Ali K. Alsaed, Rafat Ahmad and Maher Al-Dabbas. Detection of olive oil adulteration with some plant oils by GLC analysis of sterols using polar column. Food Chemistry, 2010.