

## Conteúdo de éster de forbol vs. produção de grãos de pinhão-mansão

Josi M. F. Pires (bolsista CNPq, josifirmo@oi.com.br), Gabriela R. Back (Embrapa Agroindústria de Alimentos, gabriela@ctaa.embrapa.br), Adelia F. Faria-Machado (Embrapa Agroindústria de Alimentos, adelia@ctaa.embrapa.br), Humberto R. Bizzo (Embrapa Agroindústria de Alimentos, bizzo@ctaa.embrapa.br), Rosemar Antoniassi (Embrapa Agroindústria de Alimentos, rosemar@ctaa.embrapa.br), Bruno Laviola (Embrapa Agroenergia, bruno.laviola@embrapa.br).

**Palavras Chave:** Ésteres diterpenos, produtividade, CLAE-DAD, *Jatropha curcas*.

### 1 - Introdução

O crescimento da produção de oleaginosas para produção de biodiesel tem gerado um aumento e diversificação de tortas e farelos desengordurados que devem ser aproveitados de forma a melhorar a sustentabilidade da cadeia produtiva. A torta resultante da extração do óleo das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas*) é rica em proteína (53-63 %), o que a torna potencialmente útil como suplemento proteico para alimentação animal, sendo necessário, no entanto, que os fatores antinutricionais e tóxicos sejam removidos.<sup>1,2</sup> Os principais compostos tóxicos de pinhão-mansão são os ésteres de forbol, os quais podem induzir a formação de tumores e respostas inflamatórias, sendo que os efeitos biológicos são dependentes da estrutura molecular do éster.<sup>3</sup>

Há grande interesse nos processos de extração e destoxificação das tortas de pinhão-mansão, sendo que os processos de remoção dos ésteres de forbol da torta estão em estudo no Brasil e em outros países. Além disso, o desenvolvimento de cultivares com boa produtividade que apresentem baixos teores de ésteres de forbol é um fator importante para ampliar o aproveitamento da torta de pinhão-mansão. Nesse contexto, a Embrapa está selecionando genótipos de pinhão-mansão mais adequados às condições de cultivo no Brasil, com boa produtividade e resistência a pragas e que apresentem baixos conteúdos de ésteres de forbol. Considerando o exposto, neste trabalho alguns genótipos de pinhão manso do banco de germoplasma da Embrapa foram avaliados quanto ao conteúdo de ésteres de forbol nas sementes comparado à produção de grãos da planta.

### 2 - Material e Métodos

A partir do Banco de Germoplasma de pinhão manso mantido pela Embrapa Cerrados, 49 genótipos foram avaliados quanto ao conteúdo de ésteres de forbol presentes nas sementes, bem como quanto à produção de grãos das plantas.

Os ésteres de forbol (PE) foram obtidos por meio de extração por Soxhlet durante 6 horas, utilizando metanol como solvente. Os extratos foram concentrados e diluídos com metanol e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A análise cromatográfica foi realizada em equipamento Waters Alliance 2695 com detector de arranjo de diodos (DAD) 2998 (Waters), utilizando coluna de fase reversa Waters XTerra C<sub>18</sub> (15 cm × 4,6 mm, 5 µm) e como fase móvel gradiente de acetonitrila e solução aquosa de ácido fórmico a 0,4 %. O fluxo foi mantido a 1 mL/min, com temperatura de coluna e de amostra no injetor de 25 e 15 °C, respectivamente. O forbol 12-miristato-13-acetato (TPA) foi utilizado como padrão para quantificação por meio de curva de calibração. Os picos cromatográficos referentes aos ésteres de forbol foram identificados por meio dos espectros de absorção no UV, considerando dados da literatura.<sup>4,5</sup>

A identificação dos ésteres de forbol presentes nas sementes foi confirmada por meio de análise por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (UPLC-MS/MS), utilizando UPLC Waters Acquity com espectrômetro de massas Waters Quattro Premier XE Tandem MS/MS, com fonte de ionização eletrospray (ESI) e analisador tripló-quadrupolo. Nas análises por espectrometria de massas foram utilizadas as seguintes condições: modo positivo, voltagem no capilar 2,5 kV, voltagem no cone 25 V, temperatura da fonte 120 °C, temperatura do gás de dessolvatação (N<sub>2</sub>) 500 °C a um fluxo de 700 L/h, energia de colisão 15 eV. As amostras foram monitoradas por experimento de MRM (monitoramento de reações múltiplas) para a transição 311 → 293 e varredura dos íons precursores de *m/z* 311.

Os dados obtidos para teor de ésteres de forbol e produção de grãos de cada genótipo foram analisados estatisticamente utilizando software *Statgraphics* (versão 7.1) e teste de Kendall.

### 3 - Resultados e Discussão

O teor de ésteres de forbol nas sementes de pinhão-mansão dos 49 genótipos avaliados variou de 2,6 a 5,9 mg/g, sendo que um genótipo apresentou 0,15 mg/g de ésteres de forbol. Esses resultados estão de acordo com aqueles encontrados para outros 11 acessos do Banco de Germoplasma da Embrapa, os quais apresentaram teores de ésteres de forbol entre 3,1 e 5,4 mg/g, sendo que 4 desses acessos foram considerados atóxicos, uma vez que os ésteres de forbol não foram detectados.<sup>6</sup>

A Figura 1 ilustra um cromatograma obtido, por UPLC-MS/MS a partir do monitoramento por MRM

311→293, para um extrato de ésteres de forbol de semente de pinhão-manso.

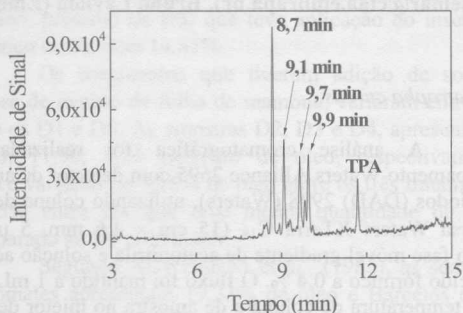


Figura 1. Cromatograma, obtido por UPLC-MS/MS, dos ésteres de forbol das sementes de pinhão-manso.

A Figura 2 mostra o gráfico obtido para a relação entre conteúdo de ésteres de forbol nas sementes dos diferentes genótipos e a produção em grãos apresentada pelo respectivo genótipo.

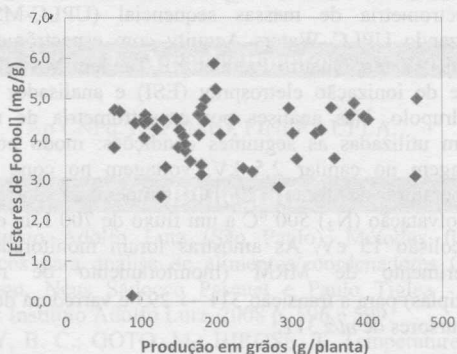


Figura 2. Conteúdo de ésteres de forbol nas sementes de pinhão manso em relação à produção em grãos das plantas.

Conforme esperado, o genótipo com 0,15 mg/g de ésteres de forbol apresentou baixa produção de grãos (87,5 g/planta). Por outro lado, os demais genótipos apresentaram produção de grãos variando entre 64,1 e 466,5 g/planta (Figura 2).

A correlação entre conteúdo de ésteres de forbol nas sementes e produção de grãos da planta não foi significativa ( $P = 0,4637$ ) para as amostras avaliadas, de acordo com os resultados obtidos na análise estatística por teste de Kendall.

Os resultados obtidos mostraram que os 49 genótipos mantidos no Banco de Germoplasma da Embrapa e avaliados neste estudo apresentam uma grande variabilidade em termos de produção de grãos, sem que a mesma esteja estreitamente relacionada ao conteúdo de

ésteres de forbol nas sementes, indicando que o banco dispõe de diversidade genética adequada para o desenvolvimento de cultivares não tóxicas e/ou com baixos conteúdos de ésteres de forbol.

#### 4 - Agradecimentos

A FINEP e CNPq pelo financiamento do projeto e ao CNPq pela concessão de bolsas.

#### 5 - Bibliografia

- Aderibigbe, A. O.; Johnson, C. O. L. E.; Makkar, H. P. S.; Becker, K.; Foidl, N. *Anim. Feed Sci. Technol.* **1997**, *67*, 223.
- Makkar, H. P. S.; Aderibigbe, A. O.; Becker, K. *Food Chem.* **1998**, *62*, 207.
- Makkar, H. P. S.; Becker, K.; Spore, F.; Wink, M. J. *Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 3152.
- Haas, W., Mittelbach, M. *Indust. Crops Prod.* **2000**, *12*, 111.
- Haas, W.; Sterk, H.; Mittelbach, M. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1434.
- Laviola, B.G.; Mendonça, S.; Ribeiro, J.A.A. *Anais do IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas* **2010**, *1*, 1617.