



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO RP-UPLC/PDA PARA DETERMINAÇÃO DE ÉSTERES DE FORBOL EM JATROPHA CURCAS

José AA Ribeiro*; Obede R Ferreira; Karline S Oliveira;
Simone Mendonça; Patrícia V. Abdelnur; Ceniilson M Rodrigues

Empresa Agroenergia, Parque Estação Biológica - PqEB, s/n, 70770-901, Brasília - DF

*joseribeiro@embrapabr

O óleo de pinhão-mansão (*Jatropha curcas*) é uma matéria-prima promissora para a produção de biodiesel. A torta de pinhão-mansão, gerada no processo de extração do óleo, tem alto teor proteico, mas seu aproveitamento para nutrição animal é limitado devido à presença de ésteres de forbol (EF), componentes com elevado grau de toxicidade. Processos de destoxificação têm sido desenvolvidos, e a avaliação da sua eficiência depende da determinação quantitativa de EF no material destoxificado. Métodos e protocolos empregados na identificação e quantificação de EF em análises de rotina são escassos na literatura. As metodologias mais empregadas são baseadas em análises por HPLC, com tempo de análise em torno de 80 minutos e vazão de fase móvel da ordem de 1,3 mL/min. Neste trabalho é apresentado o desenvolvimento e validação de um método rápido para determinação de EF em torta de pinhão-mansão por cromatografia líquida de ultraeficiência (UPLC). As análises cromatográficas foram realizadas utilizando um sistema Waters Acquity H-Class acoplado ao detector de arranjo de fotodiodos (PDA). Como padrão de referência foi utilizado 12-O-Tetradecanoyl-Phorbol 13-Acetate (TPA), sendo os teores de EF nas amostras expressos em equivalentes de TPA. Durante o desenvolvimento do método, foram testados diversos parâmetros para otimização, a saber: série eluotrópica, força de eluição, taxa de variação do gradiente, colunas cromatográficas com diferentes fases estacionárias, temperatura das colunas e utilização de modificadores na fase móvel. Os parâmetros simetria, resolução, seletividade e pureza dos picos foram avaliados para a escolha da melhor condição cromatográfica. Nas condições otimizadas para o método, amostras (2 µL) foram injetadas em uma coluna Acquity UPLC HSS T3 (150 x 2,1 mm, 1,8 µm, Waters), com pré-coluna de mesmo recheio, mantidas a 45°C, e eluídas empregando gradiente de eluição quaternário, constituído por A: água contendo 0,05% de ácido trifluoroacético; B: Acetonitrila; C: Metanol; e D: Isopropanol; a uma vazão de 0,4 mL/min. Para detecção dos EF, o comprimento de onda do PDA foi ajustado em 280 nm, com aquisição 3D na faixa de 210 a 400 nm. Nestas condições, os EF foram eluídos entre 7,4 e 8,5 minutos, com tempo de corrida total de 15 minutos, incluindo limpeza e reequilíbrio da coluna. O método foi aplicado efetivamente em amostras reais e apresentou linearidade na faixa de 10 a 5000 ng de TPA ($R^2 > 0,999$). Os limites de detecção e quantificação foram 2,5 ng e 10 ng, respectivamente. A recuperação foi avaliada em três níveis de concentração, variando entre 96-99%, com boa repetibilidade ($RSD < 2\%$). Comparado ao método HPLC, o novo método representa uma redução de 4,5 vezes no tempo de análise e de aproximadamente 15 vezes no consumo de solventes, implicando em menores impactos econômicos e ambientais.

Agradecimentos: SEG-EMBRAPA, FINEP, FAPDF.