



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**



**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**TADEU ANTÔNIO DE CAMPOS COSTA**

**PERFIL FITOQUÍMICO DE MATERIAIS  
BIOLÓGICOS USADOS EM DESSALINIZADOR  
CASEIRO DE ÁGUA SALOBRA**

SALVADOR

2011

TADEU ANTÔNIO DE CAMPOS COSTA

**PERFIL FITOQUÍMICO DE MATERIAIS  
BIOLÓGICOS USADOS EM DESSALINIZADOR  
CASEIRO DE ÁGUA SALOBRA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Vânia Palmeira Campos

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Costa, Tadeu Antônio de Campos  
Perfil fitoquímico de materiais biológicos usados em dessalinizador caseiro de água salobra /  
Tadeu Antônio de Campos Costa . - 2011.  
116 f. : il.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vânia Palmeira Campos.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2011.

1. Águas salobras. 2. Água- Fitoquímico. 3. Dessalinização da água- Umbu. 4. Dessalinização da  
água- Umburana. 5. Cromatografia. I. Campos, Vânia Palmeira. II. Universidade Federal da Bahia.  
Instituto de Química. III. Título.

CDD – 628.167  
CDU – 502:628.165

SALVADOR

2011

TERMO DE APROVAÇÃO

**TADEU ANTÔNIO DE CAMPOS COSTA**

PERFIL FITOQUÍMICO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS USADOS EM  
DESSALINIZADOR CASEIRO DE ÁGUA SALOBRA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química,  
Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Jorge Mauricio David Jmgand  
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)  
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Magda Beretta Magda Beretta  
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Vânia Palmeira Campos - Orientadora Vânia P. Campos  
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Federal da Bahia

Salvador, 19 de agosto de 2011.

## DEDICATÓRIA

À Deus, por ter me guiado e dado forças por mais esta etapa da minha vida;

Aos meus pais, Alirio e Elisabete (*in memoriam*), por todo o amor, dedicação, educação, valores e a formação do meu caráter;

A minha saudosa tia Naná, me faltam palavras para expressar a sua vida;

Ao meu amigo / irmão Gladston, meu grande incentivador;

Aos meus familiares, por todo incentivo e compreensão principalmente nos momentos de ausência;

Às minhas queridas Professoras Maria de Lourdes e Vânia, por nunca duvidarem do meu caráter e pela dedicação;

Aos meus eternos amigos Elisangela, Leonora, Islane, Jacqueline (Doida), Jacqueline Peixoto, Joilma, Juliana, Marcio (Acerola), Paula, Paulo, Rafael (Rato), Shana e Simone Ribeiro, que bom que vocês fazem parte da minha vida!

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Bahia em especial ao Instituto de Química, por ter possibilitado meu desenvolvimento pessoal, profissional e intelectual;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química por esta especialização;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

À minha orientadora Professora Dra. Vânia Palmeira Campos ao qual me acolheu, direcionou, aconselhou, apoiou e acreditou no meu desenvolvimento durante todos esses anos;

Aos membros da banca, Professora Dra. Magda Beretta e Professor Dr. Jorge Maurício David pelas valiosas sugestões para conclusão deste trabalho;

Aos professores Dr. Frederico Guaré Cruz e Dr. Sergio Telles de Oliva pelos ensinamentos, valiosas sugestões e paciência;

À professora Dra. Zênis Novais da Rocha e a Alanjones Azevedo pelos espectros de IR e UV;

À professora Dra. Regina Maria Geris dos Santos e a Ailton Santana pelo apoio e uso do Laboratório;

À professora Dra. Tânia Mascarenhas Tavares pelo inestimável apoio;

À minha querida amiga e irmã Joilma, parceira e maior incentivadora deste projeto;

À Chirlene e Jacqueline Almeida, vocês foram fundamentais para o término deste trabalho;

As minhas queridas amigas Jacqueline Peixoto, Juliana por estarem sempre do meu lado em todos os momentos;

Aos colegas / amigos do LAQUAM, Alexandre, Aline, Andrea, Ângela, Aurélio (*in memoriam*), Beth, Carolina, Charlene, Diego, Eagles, Fernando, Henrique, Prof<sup>a</sup>. Licia, Lidiane, Marcela, Marco, Michelle, Milena, Olivia, Sarah, Sonilda, Sidney e Simone meu agradecimento pelo incentivo e amizade.

Aos amigos Jorge Vitório (meu chefe) e Wilson Batista (tio) pelo apoio na realização deste trabalho;

A Rosemário C. Souza pela obtenção dos espectros de CG/EM;

Aos meus amigos André Rosa, Mauro (*in memoriam*), Gabriel, Lourenço, Olivalter e Tiago pela consideração e incentivo;

A todos aqueles que de alguma maneira colaboraram nesta etapa de crescimento profissional e pessoal.

***“É incrível a força que as coisas parecem ter,  
quando elas precisam acontecer”.***

***(Caetano Veloso)***

## RESUMO

Para tornar potáveis águas salobras ou salinas, é necessário fazer a dessalinização, processo que normalmente exige alto investimento e recursos tecnológicos complexos para a produção em larga escala. Uma solução simples e eficiente para as comunidades do Semi Árido pode ser a dessalinização de água salobra pelo contato com materiais biológicos, através do uso de dispositivos caseiros contendo, por exemplo, sementes que adsorvam parte do sal da água, reduzindo a salinidade da mesma. Em estudo desenvolvido recentemente sobre a capacidade de sorção de sais de água salobra por sementes típicas de regiões semi áridas foram consideradas mais eficientes sementes de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e Umburana (*Amburana cearensis* A. C. Smith). Em função disso, foi estudado neste trabalho o perfil químico desses materiais biológicos no seu estado natural e transformado em carvão quando aquecido a 250 °C por 1 hora, que foi a melhor condição encontrada para maior eficiência de dessalinização. Da análise fitoquímica da semente da umburana foi observada a presença de alcalóides, taninos, saponinas, cumarinas, triterpenos, esteróides e flavonóides, e o seu carvão apresentou resultados positivos para alcalóides, taninos, saponinas, esteróides e flavonóides. Na semente do umbu observou-se a presença de taninos, cumarinas, ácidos orgânicos, esteróides e flavonóides e no carvão não foram observados resultados positivos. No perfil dos ácidos graxos obtido por cromatografia gasosa (CG) dos ésteres metílicos produzidos por reação de esterificação dos extratos hexânicos das sementes, foram encontrados: na semente *in natura* da umburana dez ácidos graxos, sendo oito saturados (palmitico, margárico, oléico, esteárico, n-nonadecílico, araquídico, n-heneicosóico e lignocérico), um insaturado (ácido oléico) e outro que não foi possível identificar; o carvão desta semente apresentou os mesmos ácidos graxos, além do ácido mirístico; a semente *in natura* do umbu apresentou sete ácidos graxos saturados (mirístico, palmitico, esteárico, n-nonadecílico, araquídico, n-heneicosóico e behênico) e dois ácidos insaturados (oléico e linoléico); o seu carvão, apresentou a mesma composição dos ácidos graxos saturados que a semente *in natura*, mas apenas um insaturado (ácido oléico). A análise por CLAE dos extratos da semente da umburana *in natura* e como carvão e do umbu *in natura* revelou pela primeira vez a presença de ácido L-ascórbico e ácido gálico nestes materiais biológicos. A presença de alcalóides identificados no carvão da umburana não é um bom indicativo para sua utilização como dessalinizador, devido à conhecida toxicidade de substâncias dessa família, assim como pela presença de cumarina, em função da sua toxicidade e solubilidade parcial em água. No entanto, devido à facilidade de obtenção da cumarina a partir da semente moída da umburana, sua utilização poderá ser viável em indústrias de produtos de limpeza e cosméticos ou como material de partida para síntese de fármacos, entre outros. No carvão produzido com a semente de umbu não foi identificado nenhum dos metabólitos encontrados na semente *in natura* e este resultado é promissor para a sua utilização como dessalinizador. No seu carvão foi observado apenas ácido L-ascórbico, substância solúvel em água, que além de evitar doenças, é extremamente importante no combate dos radicais livres oriundos de processos oxidativos. Além disso, este material, rico em ácidos graxos, poderá ser mais bem aproveitado, principalmente pela presença do ácido linoléico, considerado benéfico à saúde.

**Palavras Chave:** Análise fitoquímica, Umbu, Umburana, Semi Árido

## ABSTRACT

To make drinking brackish or saline water, it is necessary to make the desalination, one process that typically requires high investment and complex technological resources for large-scale production. A simple and efficient solution for the Semi Arid communities may be the desalination of brackish water by contact with biological materials, using homemade devices containing, for example, seeds that adsorb part of the salt content of the water, reducing its salinity. Recently we developed a study on the desalination of brackish water for human watering, where were tested various biological materials native of semi-arid region, in relation to the sorption capacity of salts contained in brackish water. Were considered more efficient the umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) and Umburana seeds (*Amburana cearensis* A. C. Smith). So, has been studied in this work the chemical profile these biological materials in their natural state and transformed into coal when heated to 250 °C for 1 hour, that was the found best condition for greater efficiency in the desalination homemade device. Through the phytochemical analysis of the umburana seeds was observed the presence of alkaloids, tannins, saponins, coumarins, triterpenes, steroids and flavonoids, and the tests with their coal were positive for alkaloids, tannins, saponins, steroids and flavonoids. In the *in natura* umbu seeds were observed the presence of tannins, coumarins, organic acids, steroids and flavonoids, but in its coal were not seen positive results. In the fatty acid profile was obtained by gas chromatography (GC) in the methyl esters produced by esterification reaction of the hexanic extracts for each of the types of seeds, were found: in the *in natura* umburana seeds ten fatty acids, eight saturated (palmitic, daisy, oleic acid, stearic acid, n-nonadecilic, arachidic, lignoceric and n-heneicosoic), one unsaturated (oleic acid) and another one, who it was not identified; the coal of this seed showed the same fatty acids, beyond myristic acid; the *in natura* umbu seeds presented seven saturated fatty acids (myristic, palmitic, stearic acid, n-nonadecilic, arachidic, n-heneicosoic and behenic) and two unsaturated fatty acids (oleic and linoleic); their coal, had the same composition of saturated fatty acids as the seed *in natura*, but only one unsaturated (oleic acid). The high performance liquid chromatography analysis of extracts of the *in natura* an as coal umburana seed and *in natura* umbu seed revealed by first time the presence of L-ascorbic acid and gallic acid in these biological materials. The presence of alkaloids identified in the umburana as coal is not a good indication for its use as desalinator material due to the known toxicity of substances this family, as well as by the presence of coumarin, because their toxicity and partial solubility in water. However, due to the ease to obtain coumarin from the umburana ground seed its industrial use may be feasible in cleaning products and cosmetics or as starting material for synthesis of pharmaceuticals, among others. In the coal produced from the umbu seed were not identified the metabolites found in the seed *in natura*. This result is promising for its use as desalinator material. In the respective coal it was observed only L-ascorbic acid, a substance that in addition to be soluble in water prevents diseases and fight free radicals arising from oxidative processes. Moreover, this material, rich in fatty acids, can be better utilized, especially by the presence of linoleic acid, which is considered beneficial to health.

**Keywords:** Phytochemical analysis, Umbu, Umburana, Semi Arid



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
2.1 Objetivos específicos.....	20
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
3.1 Materiais biológicos usados neste estudo.....	20
3.1.1 Umburana.....	22
3.1.2 Umu.....	24
3.2 Metabolitos Secundários.....	24
3.2.1 Alcalóides.....	24
3.2.2 Cumarinas.....	25
3.2.3 Flavonóides.....	27
3.2.4 Taninos.....	38
3.2.5 Saponinas.....	30
3.3 Ácidos graxos.....	31
3.4 Processos extrativos de constituintes de amostras vegetais.....	33
<b>4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>35</b>
4.1 Preparo dos materiais biológicos a serem estudados, para uso nos experimentos.....	35
4.2 Análises fitoquímicas das principais classes dos metabólitos secundários presentes nos extratos.....	39
4.2.1 Preparo dos extratos para a determinação do perfil fitoquímico preliminar.....	39
4.2.2 Reagentes necessários à realização dos ensaios.....	39
4.2.3 Ensaios com o extrato aquoso.....	41
4.2.4 Ensaios com o extrato alcoólico.....	41
4.3 Preparação dos extratos para a determinação dos perfis cromatográficos das amostras estudadas.....	45
4.4 Análises do sólido cristalizado na amostra de sementes moída de umburana (UAS1) descrita no item 3.1.....	47
4.4.1 Testes de solubilidade da UAS1.....	47
4.4.2 Determinação do ponto de fusão da UAS1.....	47

4.4.3 Espectro de infravermelho da UAS1.....	47
4.4.4 Análise do UAS1 por CG/EM.....	47
4.5 Análises dos ácidos graxos nas amostras das sementes estudadas por CG/EM.....	48
4.6 Análises dos constituintes das amostras das sementes estudadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	49
4.6.1 Preparo dos padrões para análise.....	49
4.6.2 Análise espectrométrica (UV) dos padrões de ácido gálico, ácido L-ascorbico e cumarina.....	49
4.6.3 Desenvolvimento do método.....	49
4.6.4 Preparo das amostras para análise.....	50
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
5.1 Rendimento dos carvões obtidos das sementes moídas da umburana (UAC) e do umbu (UUC).....	50
5.2 Testes Fitoquímicos.....	52
5.3 Rendimentos dos extratos para obtenção dos perfis cromatográficos.....	57
5.4 Identificação do sólido formado (cristais brancos) encontrado na semente moída da umburana quando estocada (UAS1).....	59
5.4.1 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	60
5.4.2 Análise da solubilidade do sólido UAS1.....	60
5.4.3 Teste do ponto de fusão do sólido UAS1.....	61
5.4.4 Espectro de infravermelho (IR) do sólido UAS1.....	62
5.4.5 Espectro de CG/EM do sólido UAS1.....	64
5.6 Composição dos ácidos graxos nas amostras das sementes estudadas (UA, UAC, UU e UUC).....	65
5.7 Análises dos constituintes das amostras das sementes estudadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	73
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>88</b>
<b>7. PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>90</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>91</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>99</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dispositivo caseiro de água salobra (a) Adaptação do regulador de fluxo equipo a vela de cerâmica. (b) Disposição do material biológico no recipiente superior do filtro para contato com a água salobra. (c) Dispositivo montado.....	19
Figura 2 - Sementes de umburana.....	21
Figura 3 - Fruto do Umbuzeiro.....	23
Figura 4 – Exemplo da estrutura química de um alcalóide (Nicotina).....	25
Figura 5 – Estrutural da cumarina (1,2 benzopirona).....	26
Figura 6 - Estrutura básica dos flavonóides.....	27
Figura 7 - Saponina esteroidal.....	30
Figura 8 - Saponina triterpênica.....	31
Figura 9 - Semente do umbu.....	35
Figura 10 - Moinhos usados para triturar as sementes: (a) Industrial (b) Bermar.....	36
Figura 11 - Amostra de sementes de umburana (a) moída (b) carvão.....	37
Figura 12 - Amostra de sementes de umbu (a) moída (b) carvão.....	37
Figura 13 - Produto da volatilização da semente moída da umburana quando estocada.....	38
Figura 14 - Produto da volatilização da semente de umburana estocado (UAS1)....	38
Figura 15 - Fluxograma de extração das amostras para determinação do perfil dos ácidos graxos e do perfil cromatográfico por CLAE.....	46
Figura 16 - Resultados positivos para a amostra UA: (a) saponinas, (b) taninos (c) alcalóide (d) cumarinas, (e) flavonóides,(f) triterpenos e (g) esteróides.....	55
Figura 17 - Resultados positivos para a amostra UAC: (a) saponinas, (b) taninos (c) alcalóide e (d) cumarinas.....	55
Figura 18 - Resultados positivos para a amostra UU: (a) taninos, (b) ácidos orgânicos (c) cumarinas (d) flavonóides e (e) esteróides.....	56
Figura 19 - Cromatograma do sólido UAS1; sistema eluente: hexano/acetato de étila (6:4).....	60
Figura 20 - Testes de solubilidade do UAS1 (a) água, (b) éter dietílico, (c) clorofórmio e (e) etanol.....	61
Figura 21 - Espectro de Infravermelho do sólido estudado UAS1.....	62

Figura 22 - Espectro de infravermelho: (a) sólido UAS1 e (b) cumarina (1,2 benzopirona).....	63
Figura 23 - (a) Cromatograma do sólido UAS1 e (b) Espectro de massa.....	64
Figura 24 - Cromatograma dos íons totais dos padrões dos ésteres metílicos.....	65
Figura 25 - Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da semente <i>in natura</i> de umburana (UA).....	66
Figura 26 - Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos do carvão da semente de umburana (UAC).....	67
Figura 27 - Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes dos ácidos graxos da semente <i>in natura</i> de umbu (UU).....	70
Figura 28 - Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos do carvão da semente de umbu (UUC).....	71
Figura 29 - Espectro UV do ácido gálico.....	73
Figura 30 - Espectro UV do ácido L-ascórbico.....	74
Figura 31 - Espectro UV da cumarina.....	74
Figura 32 - Sobreposição dos espectros UV dos padrões de ácido gálico, ácido L-ascórbico e cumarina.....	75
Figura 33 - Cromatograma integrado das substancias padrões de ácido L-ascórbico, ácido gálico e cumarina.....	76
Figura 34 - Cromatograma do padrão do Ácido L-ascórbico.....	77
Figura 35 - Cromatograma do padrão do Ácido gálico.....	77
Figura 36 - Cromatogramas dos extratos da semente <i>in natura</i> da umburana (a) em DCM, (b) em acetato de etíla e (c) em etanol.....	79
Figura 37 - Cromatogramas dos extratos do carvão da semente da umburana (a) em DCM, (B) em acetato de etíla e (c) em etanol.....	80
Figura 38 - Cromatogramas dos extratos da semente <i>in natura</i> do umbu (a) em DCM, (b) em acetato de etíla e (c) em etanol.....	81
Figura 39 - Cromatogramas dos extratos do carvão da semente do umbu (a) em DCM, (b) em acetato de etíla e (c) em etanol.....	82
Figura 40 - Cromatograma do extrato DCM da semente do umbu <i>in natura</i> com adição do padrão de cumarina.....	83
Figura 41 - Cromatogramas dos extratos etanólicos (a) semente <i>in natura</i> da umburana (b) carvão da semente da umburana e (c) semente <i>in natura</i> do umbu.....	84

Figura 42 - Cromatograma do padrão do Ácido L-ascórbico.....85

Figura 43 - Cromatogramas dos extratos em acetato de etila: (a) semente moída *in natura* da umburana, (b) carvão da semente moída da umburana, (c) semente moída *in natura* do umbu e (d) carvão da semente moída do umbu.....86

Figura 44 - Cromatogramas dos extratos em acetato de etila com adição de padrão: (a) semente moída *in natura* da umburana, (b) carvão da semente moída da umburana, (c) semente moída *in natura* do umbu e (d) carvão da semente moída do umbu.....87

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de ácidos graxos saturados e insaturados.....	33
Tabela 2 - Resultados de ensaios com extratos etanólicos de amostras vegetais em diferentes meios para grupos de flavonóides.....	44
Tabela 3 - Rendimento da obtenção do carvão da semente moída da umburana (UAC).....	51
Tabela 4 - Rendimento da obtenção do carvão da semente moída do umbu (UUC).....	51
Tabela 5 - Resultados dos ensaios fitoquímicos para a semente moída da umburana <i>in natura</i> (UA) e seu carvão (UAC).....	52
Tabela 6 - Resultados dos ensaios fitoquímicos para a semente moída do umbu <i>in natura</i> (UU) e seu carvão (UUC).....	53
Tabela 7 - Rendimento das extrações da amostra da semente <i>in natura</i> de umburana (UA), usando 15 g da mesma.....	57
Tabela 8 - Rendimento das extrações da amostra do carvão da semente de umburana (UAC), usando 15 g da mesma.....	58
Tabela 9 - Rendimento das extrações da amostra da semente <i>in natura</i> de umbu (UU), usando 15 g da mesma.....	58
Tabela 10 - Rendimento das extrações da amostra do carvão da semente de umbu (UUC), usando 15 g da mesma.....	59
Tabela 11 - Padrões dos ésteres metílicos com os seus respectivos tempos de retenção.....	65
Tabela 12 - Composição e ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da semente <i>in natura</i> de umburana (UA).....	66
Tabela 13 - Composição e ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da amostra do carvão da umburana (UAC).....	68
Tabela 14 - Composição dos ácidos graxos presentes nas sementes <i>in natura</i> da umburana (UA) e do seu carvão (UAC) em percentagem da área dos picos.....	69
Tabela 15 - Composição e ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da semente <i>in natura</i> do umbu (UU).....	70
Tabela 16 - Composição e ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos no carvão da semente do umbu (UUC).....	71

Tabela 17 - Composição percentual dos ácidos graxos presentes nas sementes *in natura* do umbu (UU) e do seu carvão (UUC) em percentagem da área dos picos..72

## 1. INTRODUÇÃO

A qualidade da água superficial e subterrânea da região semi árida do Estado da Bahia vem sendo avaliada por órgãos dos governos Federal e Estadual, tendo sido gerada uma razoável base de dados com os resultados das análises de parâmetros tradicionais. Pesquisadores da Universidade Federal da Bahia vem levantando desde 2001 dados de qualidade de água em municípios do Semi Árido do Estado da Bahia, permitindo identificar os principais problemas com relação ao uso da água e avaliar os impactos do uso e da qualidade da água sobre a saúde da população de algumas comunidades daquela região (MMA, 2001). Através de dados obtidos entre 2001 e 2003 com campanhas de amostragem de água em vinte e três pontos ao longo da Bacia do Rio Salitre, no semi-árido baiano, abrangendo nove municípios, pode-se verificar que em média 42 % dos pontos amostrados apresentaram água salobra, embora com salinidade considerada baixa (entre 0,5 e 5‰), mesmo assim inadequada à dessedentação humana (CNPq, 2004). Esta é uma das prováveis principais causas de má qualidade da saúde de populações na referida região, onde, parte das águas disponíveis para beber, tem frequentemente salinidade duas ou três vezes mais alta do que o recomendado, por se constituir em única opção para saciar a sede de muitas comunidades.

Para tornar potáveis águas salobras ou salinas, é necessário fazer a dessalinização, processo que normalmente exige alto investimento e recursos tecnológicos complexos para a produção em larga escala (SABESP, 2006). Neste caso, o preço da água para o consumidor final torna-se muito mais elevado, devido à menor oferta e gastos envolvidos. Por outro lado, os efluentes dos processos de dessalinização, quando não bem gerenciados, o que normalmente acontece em regiões pobres como as nordestinas, podem causar grandes problemas ao ambiente, como por exemplo, a salinização do solo e conseqüente infertilidade do mesmo, sem considerar que a falta de manutenção constante necessária ao bom funcionamento dos equipamentos usados para dessalinização da água, conferem a eles um tempo de vida relativamente curto, perdendo-se o investimento feito e voltando-se aos problemas passados referentes ao consumo pela população de água inadequada.

Em uma tendência observada há alguns anos, os Governos Federais e Estaduais têm procurado instalar equipamentos de dessalinização de águas salobras subterrâneas, objetivando a geração de água doce para o abastecimento urbano no



Nordeste. Informações recentes dão conta de que hoje já são mais de 17 mil dessalinizadores instalados em todo o Nordeste. Ainda não é o suficiente, mais já houve um acréscimo considerável de 750% em relação a 2004 (NASCIMENTO, 2009). Além do uso no abastecimento rural e urbano, tendo em vista a diminuição do preço dos dessalinizadores, pode-se prever sua utilização em empreendimentos agrícolas, sobretudo para aqueles implementados de forma intensiva e com culturas de alto valor.

Embora as águas subterrâneas se apresentem como alternativas no suprimento de água potável no nordeste brasileiro, algumas restrições são feitas quanto à sua qualidade, pois, em sua maioria, são salobras ou salgadas, principalmente por fatores como a intemperização dos minerais existentes nas rochas e características do solo. Diante dessa realidade, foi dada grande atenção para os programas de dessalinização, o que permitiu a exploração de águas subterrâneas por meio da instalação de dessalinizadores no Semi Árido brasileiro, com a finalidade de converter água salobra em água potável (SOARES et al.,2006). Os processos de dessalinização de águas no mundo que já demonstram funcionalidade em larga escala são a destilação e o congelamento que retiram a água do sal, e a Eletrodíálise, que retira o sal da água. Além desses, também merecem destaque a osmose inversa e a troca iônica. Cada processo opera melhor dentro de uma determinada faixa de salinidade (BUROS, 2005). O preço do dessalinizador a depender do processador varia de R\$ 10 mil a R\$ 40 mil reais para uma configuração básica padrão, de porte médio, para processar acima de 2.000 l/h (NASCIMENTO, 2009).

A escolha e a aplicação de um desses métodos dependem de vários fatores: qualidade da água desejada em termos de concentração de sais, forma de energia disponível de mais baixo custo na região, volume de água a ser produzida, existência ou não de mão-de-obra especializada no local, frequência de uso da instalação e capital inicial de que se pode dispor. Assim, não existe um método que seja melhor que os demais. Cada um apresenta vantagens e desvantagens (CRAVO et al., 1999).

O método mais usado para a dessalinização no Nordeste tem sido predominantemente, o processo de osmose inversa (PORTO et al.2001). Amorim et al. (2004), atribuem o domínio da osmose inversa à simplicidade e robustez do equipamento, aos baixos custos de instalação e operação, incluindo o consumo de

energia é de mão-de-obra na operação, à capacidade de tratar volumes baixos a moderados de água bruta, à continuidade do processo e à excelente qualidade da água tratada. Entretanto, a osmose inversa implica na geração de rejeito, uma água residuária do processo e que tem concentração iônica majorada, ou seja, ao se dessalinizar a água salobra, transformando-a em água doce, gera-se rejeitos, com alta concentração de sais (SOARES et al., 2006; MATOS, 2006). Assim, para tornar potáveis as águas salobras, são usados processos de dessalinização, referidos anteriormente, que dependem de altos investimentos e recursos tecnológicos complexos para a produção em larga escala. Por outro lado, os equipamentos utilizados para a dessalinização têm vida útil reduzida e acabam abandonados sem a manutenção devida, o que faz com que os problemas voltem a aparecer. Com base nessa realidade é fundamental que a sociedade, os governos, enfim, os diversos agentes sociais, políticos e econômicos se mobilizem no sentido de viabilizar soluções para os problemas de escassez de água de qualidade para consumo para os diversos usos nessa região (DRUMOND et al., 2000).

Uma saída simples e eficiente para que as comunidades do Semi Árido possam ter água de boa qualidade para beber, poderá ser a dessalinização de água salobra pelo contato com materiais de origem vegetal, através do uso de dispositivos caseiros contendo, por exemplo, sementes, que adsorvam parte do sal contido na água, reduzindo a salinidade da mesma. Isso poderá ser facilitado tratando-se pequenas quantidades de água, suficientes para a dessedentação humana. Para outros efeitos há uma variedade de materiais no Semi Árido brasileiro como a literatura indica, por exemplo, as sementes de Moringa (*Moringa Olifeira*), na remoção de prata e manganês quando deixada em contato com a água (MENDES et al., 2007).

Recentemente foi desenvolvido um estudo no Laboratório de Química Analítica Ambiental no departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, sobre a possibilidade de desenvolvimento de dispositivo caseiro para dessalinização de água salobra para dessedentação humana usando material preparado com sementes do umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e umburana (*Amburana cearensis* A. C. Smith) (MENEZES, 2009). O dispositivo consiste no contato direto do material com a água na parte superior do filtro caseiro adaptando-se abaixo da vela de cerâmica do filtro um regulador de fluxo do tipo equipo para impedir o fluxo da água a ser filtrada durante um tempo,

possibilitando agitação do material com a água e aumentando o contato direto e mais prolongado entre eles. O referido dispositivo é mostrado na figura 1 a, b e c.

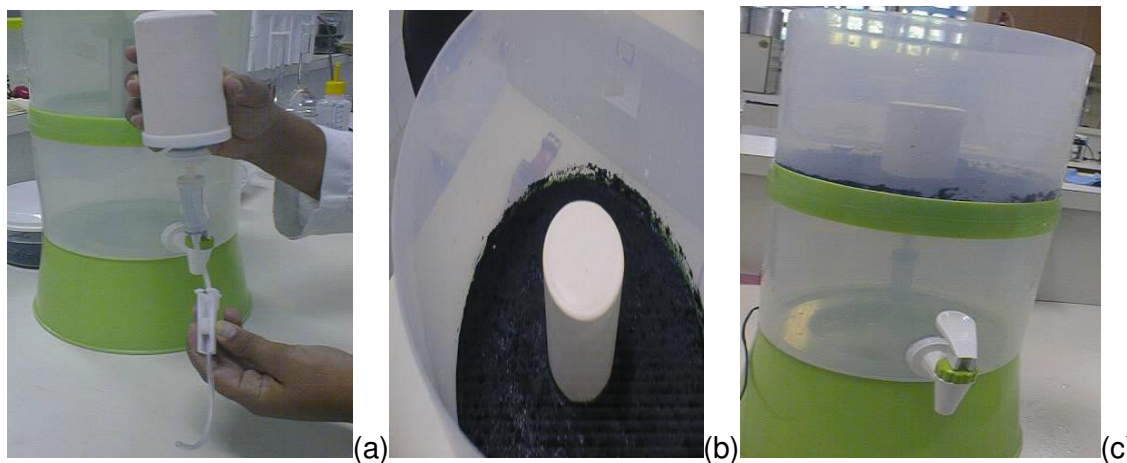


Figura 1 - Dispositivo caseiro de água salobra (a) Adaptação do regulador de fluxo equipo a vela de cerâmica. (b) Disposição do material biológico no recipiente superior do filtro para contato com a água salobra. (c) Dispositivo montado.

Fonte: Menezes, 2009.

No estudo do desenvolvimento do anteriormente citado dispositivo foram testados diferentes materiais biológicos nativos de região semi-árida quanto à capacidade de sorção de sais contidos em água salobra. Destes materiais foram consideradas mais eficientes as sementes de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e umburana (*Amburana cearensis* A. C. Smith) (MENEZES et al. 2007) A semente da Algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.) também se mostrou com capacidade de sorção de sal da água, mas seu uso foi descartado, visto que a sua toxicidade para caprinos já é bem relatada na literatura (TABOSA et al., 2000; WASHBURN et al., 2002; BACA et al., 1967; FIGUEIREDO et al., 1996). Nos testes para se determinar a eficiência de adsorção de sais pelos materiais, observou-se que durante o tempo de contato deles com a água, em alguns casos como para as sementes de umbu e umburana, a água era acrescida de íons, como por exemplo, cálcio e magnésio. Dessa forma, planejou-se a continuidade daquele trabalho, através do desenvolvimento desta Dissertação, com o objetivo de estudar a possibilidade dos materiais potencialmente utilizáveis naquele dispositivo dessalinizador passarem para a água durante o processo, espécies químicas

inerentes à constituição dos mesmos. Entre dez materiais biológicos anteriormente testados quanto à capacidade de adsorção de sais foram escolhidas para este estudo as sementes do umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e umburana (*Amburana cearensis* A. C. Smith) por terem sido eleitos os mais adequados para uso no dispositivo dessalinizador.

## **2. OBJETIVOS**

Elaborar o perfil fitoquímico de materiais biológicos testados em dispositivo caseiro dessalinizador de água salobra: sementes do umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e umburana (*Amburana cearensis* A. C. Smith).

### **2.1 Objetivos específicos**

- Fazer o levantamento dos principais metabólitos secundários (alcalóides, flavonóides, taninos, cumarinas entre outros) dos materiais testados;
- Obter o perfil dos ácidos graxos através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM);
- Elaborar o perfil cromatográfico através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) por comparação com padrões.

## **3. REVISÃO DA LITERATURA**

### **3.1 Materiais biológicos usados neste estudo**

#### **3.1.1 Umburana**

*Amburana cearensis* A. C. Smith é conhecida por diversas designações, como imburana de cheiro, cerejeira e cumaru (MAIA, 2004). Embora considerada nativa do

sertão nordestino, a ocorrência de *A. cearensis* pode ser observada em praticamente toda América do Sul (do Peru à Argentina) (CARVALHO, 1994), apresentando-se como urna árvore frondosa, a qual pode atingir até 15 m de altura, com flores brancas, vagem achatada e casca do caule vermelho-pardacenta cujo agradável odor é conferido pela cumarina (PIO-CORRÊA, 1984). Suas sementes (figura 2) são pretas, aladas e exalam forte cheiro de cumarina (semelhante à baunilha) e são utilizadas como aromatizantes e repelentes de insetos para roupas e estantes, podendo também ser utilizadas na fabricação de um pó fino, designado rapé-de-imburana, empregado para induzir espirros no tratamento de congestão nasal por acúmulo de secreção (MAIA, 2004).



Figura 2 - Sementes de umburana.

Sob o ponto de vista econômico, *A. cearensis* apresenta inestimável importância comercial, dadas suas várias aplicações, sendo largamente empregada na carpintaria e perfumaria. Comercializada com o nome de cerejeira do nordeste, sua madeira é utilizada na fabricação de móveis, portas, janelas e caixotaria, devido à reconhecida durabilidade. São mais populares as cascas do caule, tradicionalmente utilizadas na preparação de “lambedôs” caseiros para tratamento de doenças respiratórias, como gripe, resfriado, bronquite e asma (LEAL, 1995), ou industrialmente, como xarope de cumaru. Ensaio farmacológico pré-clínicos demonstraram atividades antiinflamatória, bronco dilatadora e analgésica para o

extrato hidroalcoólico, efeitos estes atribuídos à cumarina e à fração flavonoídica (LEAL et al, 1997; LEAL et al. 2003). Em virtude do uso difundido de *Amburana cearensis* para fins medicinais, torna-se imprescindível a realização de estudos, visando a descoberta dos possíveis responsáveis pelas propriedades terapêuticas da espécie, principalmente da sua semente, sobre a qual se encontra muito pouco na literatura em termos de composição química. Canuto e Silveira (2006) relataram metodologia de isolamento e identificação de 12 constituintes químicos presentes no extrato etanólico das cascas do caule de *A. cearensis*. Segundo Rossi (2008) das cascas do caule já foram isoladas várias substâncias, incluindo cumarina, isocampferídio, fisetina, alfalona e amburosídeo. As sementes fornecem cerca de 23% de um óleo fixo constituído principalmente dos glicerídios dos ácidos: palmítico, linoléico, oléico e esteárico. Nas sementes são encontrados também cumarina e 6-hidroxycumarina (LEAL, 1995).

### **3.1.2 Umbu**

*Spondias tuberosa* Arruda, conhecida popularmente como umbuzeiro, imbuzeiro ou ambuzeiro entre outros, é nativa do semi árido brasileiro, ocorrendo desde o Ceará até o norte de Minas Gerais. É uma espécie pertencente à família Anacardiaceae, típica das caatingas do nordeste brasileiro. A planta adulta fornece sombra ao sertanejo e ao gado. Apresenta flores melíferas e frutos tipo drupa levemente pilosa e arredondada (LORENZI 1992).

É uma das espécies de grande importância socioeconômica dentro da família Anacardiaceae, pois além de fornecer frutos (figura 3) saborosos e nutritivos xilopódios ricos em água (MENDES 1990), representa uma importante fonte de renda através do extrativismo (ARAÚJO; NETO 2002).



Figura 3 - Fruto do Umbuzeiro.

Segundo Lima (2006) o potencial dessa espécie para exploração sistemática de frutos e raízes é fundamental para a dieta do homem e animal, visto que, estes órgãos vegetais são ricos em sais minerais e vitamina C (ácido L-ascórbico), que é uma substância que, além de evitar doenças como o escorbuto, exerce uma ação antioxidante, extremamente importante na interceptação dos radicais livres, oriundos de processos oxidativos (KITTS, 1997). Alguns autores ainda atribuem ao umbuzeiro certas propriedades medicinais, como a utilização da casca e xilopódios para o controle de diarréias, verminoses e escorbuto (MENDES 1990, NEVES et al. 2004). Da análise preliminar do extrato etanólico da casca revelou a presença de taninos, flavonóides e esteróides, e ainda, a ausência de alcalóides (PENA et al, 1999). Pouco se conhece sobre a composição das sementes do umbu a qual contém óleo, proteínas e alguns minerais, precisando ser melhor investigada objetivando proporcionar uma renda alternativa para os pequenos agricultores e contribuir para o desenvolvimento agroindustrial da região Nordeste. Borges et al. (2007), caracterizaram física e quimicamente sementes de umbu obtidas de frutos em diferentes estágios de maturação e de diferentes variedades e encontraram

quantidades significativas de lipídios naquelas sementes juntamente com ácidos graxos em seu óleo e alto conteúdo mineral. Os autores sugerem sua utilização como um óleo comestível ou para o enriquecimento de alimentos ou mesmo como um óleo de fritura, se a ausência de substâncias tóxicas e fatores alergênicos forem posteriormente comprovados.

Com relação ao óleo da polpa e semente do umbu Almeida et al. (2007) identificaram a presença de 11 e 4 tipos de ácidos graxos, respectivamente. Os compostos majoritários foram o ácido oléico (15,87 - 43,80%), ácido palmítico (8,09 - 46,70 %), ácido esteárico (2,60 – 21,84 %) e ácido linoléico (2,71 – 14,96 %). Os autores constataram que entre as sementes analisadas, o ácido palmítico é o mais abundante ácido graxo saturado (15,63 – 27,25%), seguido pelo ácido esteárico (3,44 – 13,5%). O ácido oléico foi o majoritário entre os insaturados (29,61 – 55,42%), seguido pelo ácido linoléico (3,44 – 13,5%). Esses resultados são comparáveis aos encontrados por Borges et al. (2007).

### **3.2 Metabolitos Secundários**

São substâncias que geralmente não estão envolvidas em funções vitais das plantas, geralmente não fazem parte do metabolismo básico e possuem características químicas muito variadas e às vezes bem complexa. Ao contrário das substâncias do metabolismo primário, que fazem parte da atividade celular de praticamente todos os seres vivos, desde os organismos unicelulares até o homem, as substâncias do metabolismo secundário são encontradas apenas em grupos restritos - famílias ou gêneros – de plantas (PERES, 2004). Os produtos do metabolismo secundário constituem o que os químicos chamam de “produtos naturais”. Podem ser produzidos por plantas, microrganismos, insetos e outros animais e muitos deles são extraídos e usados como remédios, corantes, perfumes, inseticidas.

#### **3.2.1 Alcalóides**

Os alcalóides são substâncias contendo nitrogênio com número de oxidação negativo e caracterizado por distribuição limitada na natureza (figura 4).



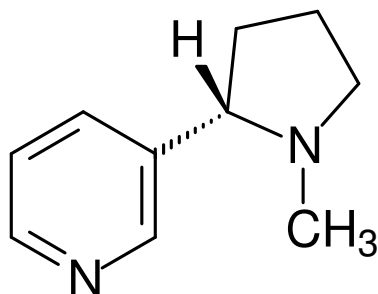


Figura 4 – Exemplo da estrutura química de um alcalóide (Nicotina).

Na sua grande maioria os alcalóides possuem caráter alcalino, já que a presença do átomo de N representa um par de elétrons não compartilhados. Contudo, existem alcalóides de caráter ácido, como por exemplo, a colchicina. Essa classe de compostos do metabolismo secundário é famosa pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos (PERES, 2004).

Segundo Martins et al. (1995) os alcalóides podem ter coloração amarela, roxa ou incolor. Quando na forma de sais, encontram-se nas paredes celulares e podem ser encontrados e nas folhas, sementes, raízes e caules.

A função dos alcalóides nas plantas ainda é controversa. O que se tem observado é que plantas ricas em alcalóides são evitadas por animais ou insetos em sua dieta, isto devido a sua toxicidade e/ou o seu gosto amargo. Porém, segundo Henriques et al (2004), a produção dos alcalóides não deve ser entendida como sendo específica para a proteção das plantas.

Existem várias classes de alcalóides, e todas apresentam alguma ação fisiológica, geralmente no sistema nervoso central, o que tem sido utilizado para benefício do homem na produção de drogas medicinais, como, por exemplo, a morfina (VICKERY; VICKERY, 1981).

### **3.2.2 Cumarinas**

As cumarinas constituem uma classe de metabólitos secundários, amplamente distribuídos no reino vegetal, podendo também ser encontrados em fungos e bactérias. As cumarinas são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico. A palavra cumarina tem origem do caribenho cumaru,

nome popular de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.. A esses compostos são atribuídos uma grande atividade biológica, como antimicrobiana, a antiviral, a antiinflamatória, antiespasmódica, antitumoral e antioxidante (PEREIRA, 2006).

Atualmente, mais de 1.300 cumarinas já foram identificadas de fontes naturais, especialmente de plantas verdes. As propriedades farmacológicas, bioquímicas e aplicações terapêuticas da cumarina simples dependem de seus padrões de substituição (HOULT; PAYÁ, 1996).

Estruturalmente são lactonas do ácido o-hidróxi-cinâmico, sendo o representante mais simples a cumarina (1,2 benzopirona) (Figura 5) que é um cristal branco à temperatura ambiente, de aroma semelhante ao da baunilha, com ponto de fusão entre 68 e 70 °C, massa molecular de 146,15 g.mol<sup>-1</sup>, ponto de ebulição entre 297 °C – 299 °C, densidade aparente de 0,7 g mL<sup>-1</sup>. A cumarina possui boa solubilidade em etanol, clorofórmio, éter dietílico, óleos, sendo pouco solúvel em água (COHEN et al. 1979). Suas propriedades farmacológicas e aplicações terapêuticas dependem de seus padrões de substituição, com exceção da cumarina simples. Todas as cumarinas são substituídas por um grupo hidroxila na posição 7. A 7-hidróxi-cumarina, também conhecida como umbeliferona é a precursora das cumarinas 6,7-di-hidroxiladas e 6,7,8-tri- Lactonas do ácido o-hidróxicinâmico.

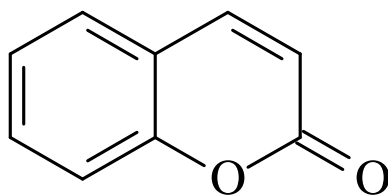


Figura 5 – Estrutural da cumarina (1,2 benzopirona).

Muitas cumarinas simples possuem odor característico, destacando-se a cumarina, que foi amplamente utilizada como aromatizantes em alimentos industrializados. No entanto, com base nos dados sobre toxicidade hepática verificada em ratos, a agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) a classificou como substância tóxica, deixando de ser legal a sua adição nos alimentos. Por outro lado, a cumarina, pelas vantagens decorrentes do seu odor acentuado, estabilidade e baixo custo, continua a ser amplamente utilizada nas indústrias de produtos de limpeza e cosméticos (SIMÕES et al., 2002).

As cumarinas encontram-se amplamente distribuídas em todo o reino vegetal, principalmente em Angiospermas. Algumas famílias contêm grande variedade de cumarinas principalmente: leguminosas, asteráceas, e sobretudo umbelíferas e rutáceas (BRUNETON, 1991). Vale ressaltar que também podem ser encontradas em fungos e bactérias.

### 3.2.3 Flavonóides

Os flavonóides, compostos fenólicos, são em sua maioria pigmentos responsáveis pela coloração de flores e alguns frutos, e possuem ampla distribuição na natureza. Sua presença nos vegetais parece estar relacionada com funções de defesa (proteção contra raios ultravioleta, ações antifúngica e antibacteriana) e de atração de polinizadores (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Consistem na forma mais simples de um esqueleto de difenil propano com dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirano (C), como visto na Figura 6.

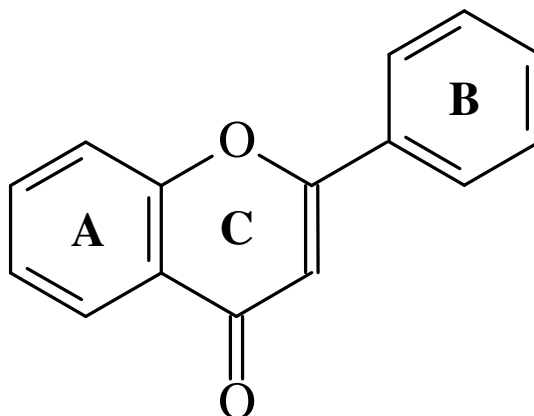


Figura 6 - Estrutura básica dos flavonóides.

Economicamente os flavonóides despertam interesse em função de suas diferentes propriedades, como o fato de alguns apresentarem cor e poderem ser usados como pigmentos, curtimento de couros e corantes de alimentos. A importância farmacológica reside de algumas propriedades atribuídas a essa classe de compostos como: antitumoral, antiinflamatória, antiviral, antioxidante, dentre outras (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

As várias classes de flavonóides diferem no nível de oxidação e no modelo de substituição da cadeia heterocíclica C. Algumas classes de flavonóides de interesse são flavonas, flavonóis, flavanonas, flavan-3-ol, isoflavonas, antocianidinas e flavanolol (DI CARLO et al., 1999; PIETTA, 2000; PETERSON; DWYER, 1998). Flavonóides geralmente ocorrem em plantas como derivados glicosilados, contribuindo para o brilho do azul, do vermelho e do laranja nas folhas, flores e frutos. Também estão associados com diferentes propriedades biológicas. Flavanonas são encontradas predominantemente em frutas cítricas e flavonas em ervas aromáticas e grãos de cereais, enquanto isoflavonas ocorrem em legumes e sementes oleaginosas (como a soja). Antocianidinas e suas formas glicosiladas (antocianinas) são pigmentos naturais encontrados em uvas. As flavan-3-ol (como as catequinas, epicatequina e seus galato-ésteres) podem ser verificadas em frutas e folhas de chá. Já os flavonóis ocorrem em todas as frutas e vegetais, e o flavanolol como a taxifolina, encontrada em frutas cítricas (DI CARLO et al., 1999; PIETTA, 2000; PETERSON; DWYER, 1998; PARK et al., 2001; CARRÃO-PANIZZI; BORDIGNON, 2000).

#### **3.2.4 Taninos**

Taninos também são compostos fenólicos com elevado peso molecular e estão associados aos mecanismos de defesa das plantas contra insetos (PAIS, 1998). Solúveis em água formam complexos insolúveis com alcalóides, gelatina e outras proteínas. São encontrados em grandes quantidades nos vacúolos das células das plantas, além de depósitos na epiderme das folhas (LI; MAPLESDEN, 1998). Tais compostos podem ser divididos de acordo com sua estrutura química e propriedades em dois grupos: taninos condensados e hidrolisados.

Taninos condensados consistem de unidades flavonóides, possuindo diferentes graus de condensação e estão invariavelmente associados com seus precursores denominados de flavan-3-ols (catequina) e flavan 3-4 diols (leucoantocianidrina). Os taninos vegetais ou naturais são por definição substâncias que apresentam a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos políeis (PIZZI, 1993).

Os taninos condensados estão amplamente presentes em gimnospermas e angiospermas, principalmente em plantas lenhosas e em outras classes de vegetais

muito utilizados para a alimentação humana e animal (QUEIROZ et al., 2002). Eles perfazem, aproximadamente, a metade da matéria seca da casca de muitas árvores além de se constituírem na segunda fonte de polifenóis do reino vegetal, perdendo apenas para a lignina (QUEIROZ et al., 2002). Uma das mais importantes propriedades químicas dessa classe de taninos é a habilidade de formar complexos com macromoléculas tais como proteínas e carboidratos, sendo inclusive, o aspecto mais determinante dos efeitos nutricionais e toxicológicos em pequenos ruminantes (OTERO; HIDALGO, 2004).

Os taninos hidrolisáveis são compostos que após hidrólise produzem carboidratos e ácidos fenólicos. São unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisáveis em condições ácidas ou básicas (NASCIMENTO; MORAIS, 1996). De acordo com Hemingway (1989), o significado dos taninos para as plantas se refere aos produtos naturais e fenólicos baseados no ácido gálico (taninos hidrolisáveis) ou sobre os poliflavonóides (taninos condensados). Ainda, segundo esse autor, as plantas apresentam capacidade de defesa contra seus inimigos naturais, e esta capacidade de defesa estaria ligada à presença dos taninos. Os taninos hidrolisáveis seriam responsáveis pela defesa das plantas contra herbívoros e os taninos condensáveis iriam assegurar a defesa contra microorganismos patogênicos. Para Metche (1980), os taninos hidrolisáveis podem ser considerados como poliésteres da glucose, podendo ser classificados em duas categorias: (a) os galotaninos, que por hidrólise ácida liberam ácido gálico e seus derivados; e (b) os elagitaninos, que por hidrólise liberam o ácido elágico, ácido valônico, sendo o ácido elágico o mais importante.

Segundo Beart et al. (1985), a natureza defensiva destas substâncias é explicada, pois ocorre um aumento na sua concentração como resultado de qualquer infecção ou lesão. Para Strack (1997), os compostos fenólicos podem proteger as plantas contra predadores herbívoros que reagem sensivelmente ao conteúdo fenólico nas plantas. A capacidade de precipitar proteínas, particularmente salivares da cavidade oral, caracteriza o sabor adstringente dos taninos, possibilitando seu fácil reconhecimento em frutos verdes. Tal propriedade é relevante para a proteção do vegetal frente a ataques de patógenos e herbívoros (MADHAN et al., 2005).

### 3.2.5 Saponinas

As saponinas, também chamadas saponosídeos são heterosídeos caracterizados principalmente por sua atividade tensoativa: dissolvem-se em água formando soluções espumantes, semelhantes ao sabão, de onde provém o seu nome. Esta propriedade decorre de sua estrutura química, na qual açúcares solúveis estão ligados a esteróides lipofílicos ou triterpênicos (HARBONE; BAXTER, 1995). Esse tipo de estrutura, que possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra parte hidrofílica (açúcares), determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes (SCHENKEL et al., 2007).

As saponinas podem ser classificadas de acordo com o núcleo fundamental da aglicona ou, ainda, pelo seu caráter ácido, básico ou neutro. Assim, quanto à aglicona, denominam-se saponinas esteroidais (figura 7) e triterpênicas (figura 8). O caráter ácido pode ser devido à presença de um grupamento carboxila na aglicona ou na cadeia de açúcares ou em ambos. O caráter básico decorre da presença de nitrogênio, em geral sob forma de uma amina secundária ou terciária, como nos glicosídeos nitrogenados esteroidais (SCHENKEL et al., 2007).

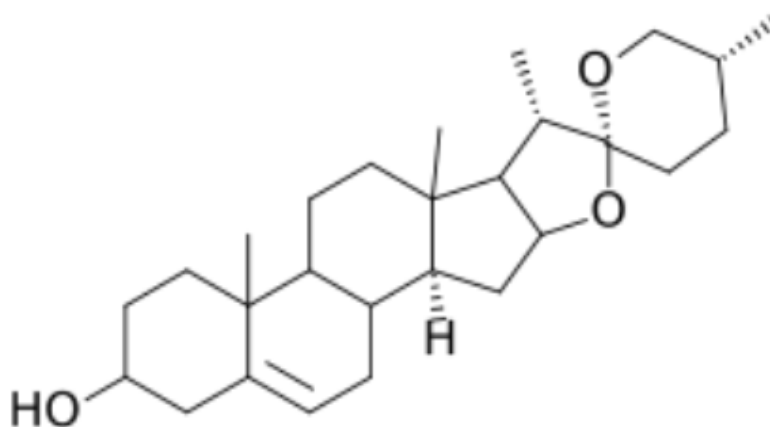


Figura 7 - Saponina esteroidal.

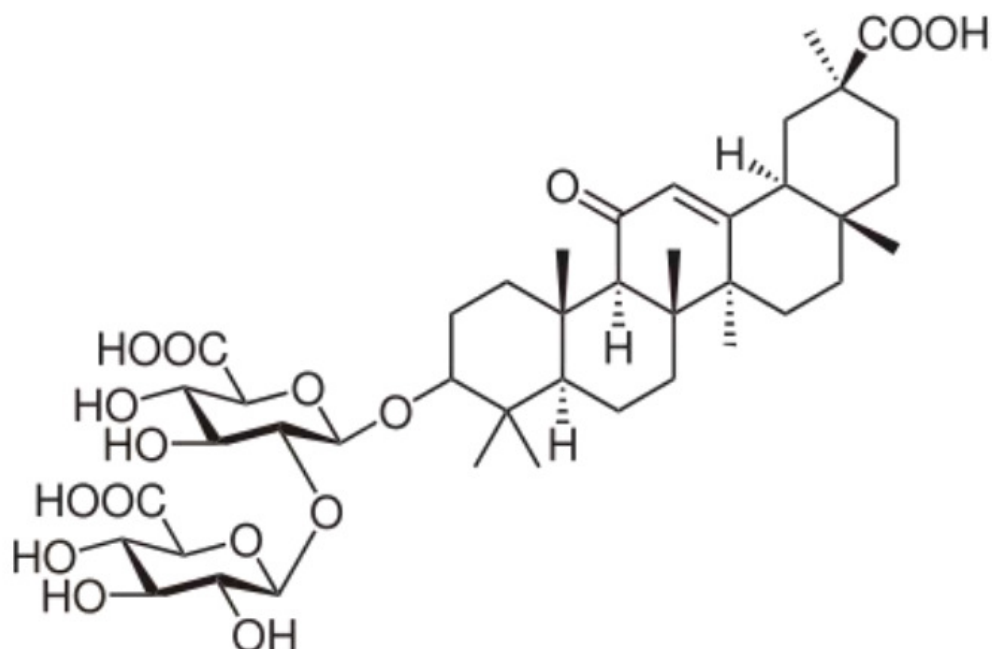


Figura 8 - Saponina triterpênica.

As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionado com o sistema de defesa. São encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos (WINA et al., 2005). As saponinas tem ação antimicrobiana, prevenindo o crescimento de fungos, podendo ser consideradas uma parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como “fitoprotetoras” (PIZARRO, 1999). Possuem ação antifúngica e o mecanismo principal sugerido para esta atividade é a interação com os esteróis da membrana (ALVARES, 2006).

### 3.3. Ácidos graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeia longa e que ocorrem na natureza livres ou esterificados, constituindo os óleos e gorduras (MORETTO; FETT; GONZAGA, et al., 2002). Quando saturados possuem apenas ligações simples entre os carbonos e possuem pouca reatividade química. Já os ácidos graxos insaturados, contêm uma ou mais ligações duplas no seu esqueleto carbônico; são mais reativos e mais suscetíveis a termoxidação (GIESE, 1996). O ser humano, assim como os

demais mamíferos, é capaz de sintetizar certos ácidos graxos saturados e insaturados, porém essa capacidade é limitada quando se trata de ácidos graxos poliinsaturados, sem os quais nosso organismo não funciona adequadamente.

Os ácidos graxos saturados são relacionados com o aumento do risco de doenças cardiovasculares, enquanto a ingestão de monoinsaturados e poliinsaturados n-3 têm mostrado o efeito inverso. Por outro lado, dietas ricas em ácido poliinsaturado n-6 podem resultar na superprodução de eicosanóides, responsáveis por várias doenças. Estudos em pacientes com doenças cardiovasculares, artrites, asma e câncer indicam claramente a necessidade de equilíbrio na proporção da ingestão dos ácidos n-6/n-3 para a prevenção e tratamento de doenças crônicas. Assim, há um consenso científico de que é necessário reduzir a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados n-6 das dietas e aumentar a concentração de ácido n-3 (FERNANDEZ et al., 2007).

Nas designações da simbologia para os ácidos graxos é utilizada a letra n, seguida de um número que indica o número do carbono que dista da última dupla ligação até o grupo metil (CH<sub>3</sub>) terminal da cadeia carbônica de um determinado ácido graxo.

Na tabela 1 são apresentados exemplos de alguns de ácidos graxos mais conhecidos com seus nomes comuns e a nomenclatura oficial (IUPAC-IUB).



Tabela 1 – Exemplos de ácidos graxos saturados e insaturados.

Nome comum	Nomenclatura IUPAC	Símbolos	Formula molecular
<i>Ácidos Saturados</i>			
Cáprico	Decanóico	C10:0	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
Láurico	dodecanóico	C12:0	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
Mirístico	Tetradecanóico	C14:0	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>
Palmítico	Hexadecanóico	C16:0	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Margárico	Heptadecanóico	C17:0	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Esteárico	Octadecanóico	C18:0	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>
Araquídico	Eicosanóico	C20:0	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>
Behênico	Docosanóico	C22:0	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>
Lignocérico	Tetracosanóico	C24:0	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>
<i>Ácidos Insaturados</i>			
Oléico	Cis-9-octadecenóico	C18:1 (n-9)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Linoléico	Cis,cis-9,12-octadecadienóico	C18:2 (n-6)	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Linolênico	Cis,cis,cis-9,12,15-octadecatrienóico	C18:3 (n-3)	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>

Na nutrição humana, dietas com altas concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa promovem aumento do colesterol, quando comparados com altas concentrações de monoinsaturados e poliinsaturados. Contudo, existem diferenças quanto aos efeitos hipercolesterolêmicos dos ácidos graxos saturados, pois o láurico (C12:0), o mirístico (C14:0) e o palmítico (C16:0) elevam os níveis de colesterol, enquanto o esteárico (C18:0) não apresenta o mesmo efeito e é, portanto, considerado neutro (BANSKALIEVA et al., 2000).

### 3.4. Processos extrativos de constituintes de amostras vegetais

A literatura classifica os processos extrativos mais utilizados em dois grupos: a maceração e a percolação, que em seus fundamentos são capazes de correlacionar outras técnicas, como a digestão, a infusão, a decocção (ação de ferver plantas num líquido, a fim de lhes extrair os princípios ativos) e a turbo-extração (processo no

qual se separa substâncias a partir de um forte movimento mecânico de forma circular, semelhante a um liquidificador) (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003).

A preparação de amostras vegetais é muito complexa passando por várias etapas. A primeira etapa, e certamente a mais importante, é a extração que tem a finalidade de separar substâncias de interesse de uma matriz complexa (COSTA, 1994; BANDEIRA, 2004).

Antes de executar uma extração, deve-se levar em consideração uma série de fatores que interferem nesta operação tais como granulometria do material, polaridade do solvente, acidez do meio, agitação, temperatura e tempo de extração (SOARES et al., 1998).

A granulometria do material influencia diretamente na eficiência da extração. A estrutura histológica das diversas partes componentes de uma planta é bastante heterogênea. Existem órgãos como as sementes, raízes e os caules, cujos tecidos estão fortemente compactados, ao passo que em folhas e flores os tecidos se apresentam com textura mais delicada. Como o poder de penetração dos solventes depende, entre outros fatores, da consistência dos tecidos que formam o material a extrair, quanto mais rígido for o material menor deve ser sua granulometria (COSTA, 1994; SIMÕES et al., 2003).

A polaridade do solvente também influencia a eficiência de extração. O solvente escolhido deve ser o mais seletivo possível, pois é devido à seletividade que se podem extrair as substâncias desejadas (PRISTA et al., 1996; SIMÕES et al., 2003). O aumento da temperatura provoca um aumento da solubilidade de qualquer substância, motivo pelo qual os métodos de extração a quente são sempre mais rápidos do que aqueles realizados à temperatura ambiente. Entretanto, o calor nem sempre pode ser empregado, já que muitas substâncias são instáveis em altas temperaturas (DÄR, 1981; VOIGT; BORNSCHEIN, 1982; PRISTA et al., 1996; ANSEL et al., 2000; SIMÕES et al., 2003).

Na escolha de um método extrativo, deve-se avaliar a eficiência, a seletividade, a estabilidade das substâncias extraídas e o custo do processo escolhido, considerando principalmente a finalidade do extrato que se quer preparar (COSTA, 1994; SIMÕES et al., 2003).

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 Preparo dos materiais biológicos a serem estudados, para uso nos experimentos

Os materiais a serem estudados foram adquiridos em feira livre de Salvador, todos originados da região semi-árida baiana, e foi mantido o mesmo procedimento utilizado para o dispositivo caseiro de água salobra:

As sementes *in natura* da umburana foram trituradas em moinho da marca Berman, modelo BM03 e em seguida foram peneiradas em uma peneira de malha de 0,8 mm. Os frutos do umbuzeiro foram lavados, secos à temperatura ambiente, e em seguida foi retirada toda a polpa (figura 9), já que o material de interesse do estudo era a sua semente.



Figura 9 – Semente do umbu.

Por serem maiores e mais resistentes que a semente da umburana, as sementes do umbu passaram por duas etapas de moagem, a primeira em um moinho industrial (figura 10 a) e em seguida foram finamente trituradas no moinho Berman (figura 10 b) e finalmente peneiradas em uma peneira de malha de 0,8 mm.

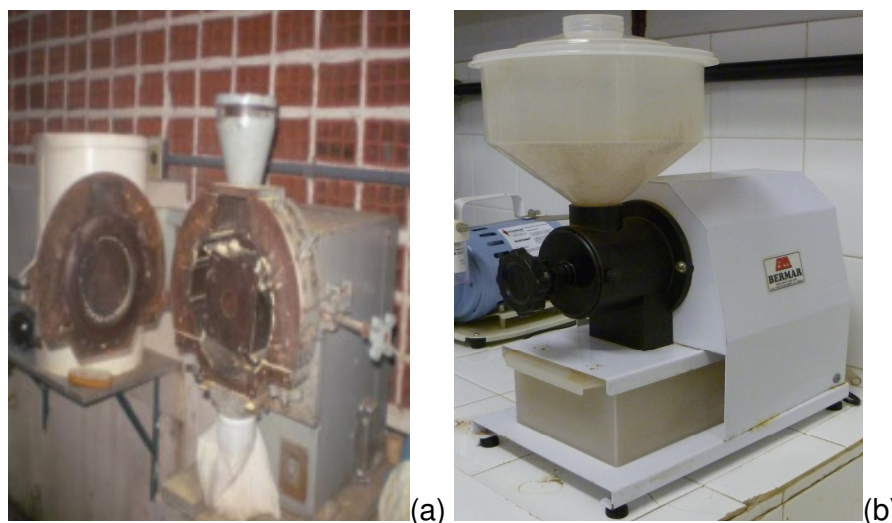


Figura 10 - Moinhos usados para triturar as sementes: (a) Industrial (b) Berman.

Inicialmente foi feito o teste do teor de umidade das sementes moídas através do método da estufa que consistiu em colocar 2 gramas da semente em um vidro de relógio e após a mesma foi levada a estufa calibrada a 105°C por um período de 5h. As amostras foram dessecadas até peso constante (em 3 pesagens consecutivas com intervalo de 15 minutos entre elas, até o peso não apresentar variações consideráveis). A pesagem da amostra foi feita somente após resfriá-la completamente no dessecador, pois a pesagem a quente levaria a um resultado falso (DINIZ, 2008; PARK; ANTONIO, 2006).

Para a obtenção do carvão de cada semente, o material moído foi levado à estufa a 250°C por 1 hora, que foi a melhor condição encontrada para tratamento térmico do material a ser usado no dessalinizador caseiro (MENEZES, 2009). A amostra da semente da umburana moída (UA) pode ser vista na figura 11 (a) e o seu respectivo carvão (UAC) na figura 11 (b). A figura 12 (a) e (b) apresenta sementes de umbu moídas (UU) e o seu respectivo carvão (UUC).

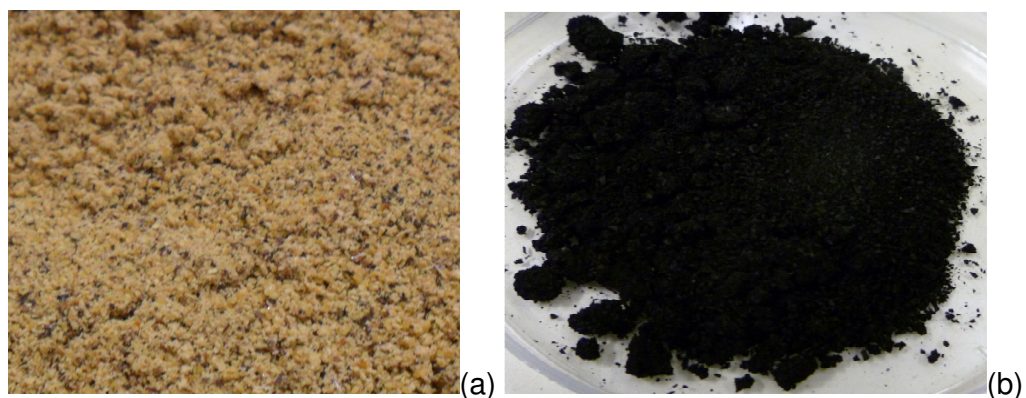


Figura 11 – Amostra de sementes de umburana (a) moída (b) carvão.

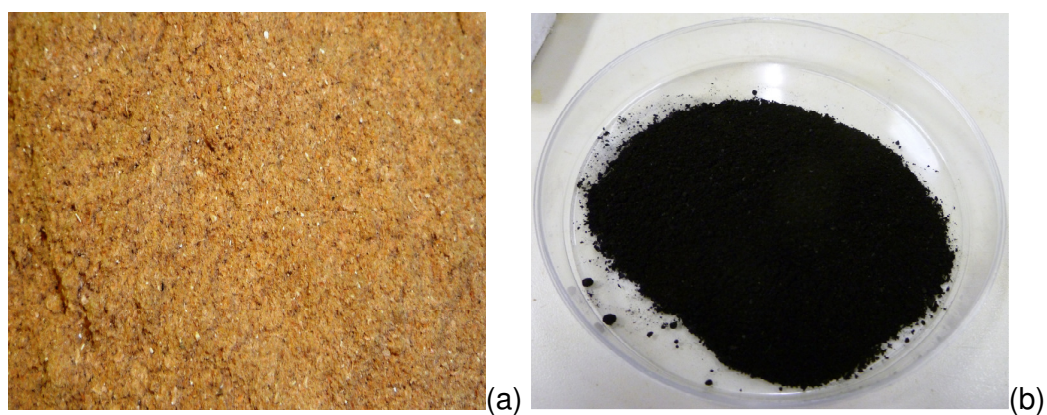


Figura 12 – Amostra de sementes de umbu (a) moída (b) carvão.

Foi observado durante o armazenamento da amostra da semente da umburana moída o surgimento de uma grande quantidade de um sólido na forma de uns cristais finos, brancos misturados na amostra e também na tampa do recipiente do armazenamento como mostrado na figuras 13, o que indica um processo de volatilização do produto do seio da amostra para a tampa, onde também cristalizou.



Figura 13 – Produto da volatilização da semente moída da umburana quando estocada.

O sólido foi cuidadosamente recolhido, armazenado e codificado como UAS1(sólido 1 da semente de umburana), para posterior análise cujo procedimento será descrito adiante. O produto pode ser melhor observado na figura 14.

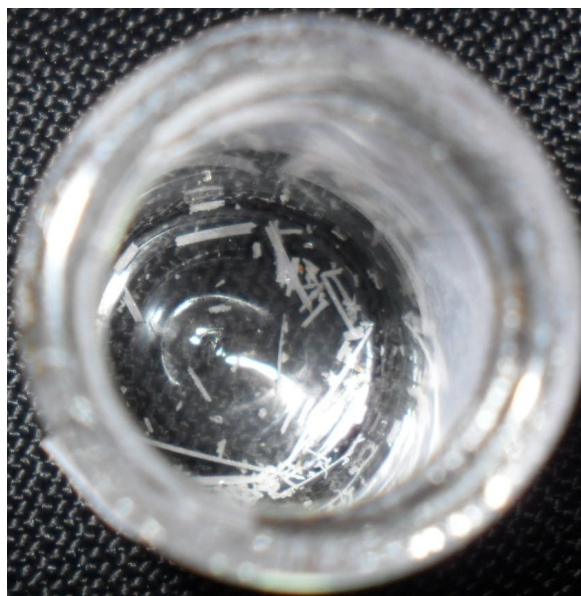


Figura 14 – Produto da volatilização da semente de umburana estocado (UAS1).

## **4.2 Análises fitoquímicas das principais classes dos metabólitos secundários presentes nos extratos**

O objetivo desta etapa é analisar a presença de grupos químicos no material biológico por reações específicas (COSTA, 1994; BARBOSA et al., 2001; MATOS, 2009; SIMÕES et al., 2004).

### **4.2.1 Preparo dos extratos para a determinação do perfil fitoquímico preliminar**

Para a análise do perfil preliminar foram preparados dois tipos de extratos, um aquoso e um alcoólico. O extrato aquoso foi elaborado a 10% através de maceração de 15 g de cada amostra com 150 mL de água deionizada, com agitação esporádica, por um período de 72 horas. O extrato alcoólico foi também produzido a 10% através de maceração de 15 g de cada amostra com 150 mL de etanol pureza analítica (p.a.), com agitação esporádica, por um período de 72 horas. Após a maceração, os extratos foram filtrados a vácuo por filtro de papel, concentrados através de rotaevaporador a pressão reduzida, secos em capela e armazenados sob refrigeração.

### **4.2.2 Reagentes necessários à realização dos ensaios**

- *Reagente de Mayer:*  
Misturaram-se 1,36 g  $\text{HgCl}_2$  / 60 mL de água e 5 g de KI / 10 mL de água.  
Diluiu-se a 100 mL.
- *Reagente de Wagner:*  
Dissolveram-se 1,27 g de iodo e 2 g de iodeto de potássio em 5 mL de água e completou-se o volume para 100 mL com água.
- *Reagente de Dragendorff:* Misturas de partes iguais das soluções A e B.  
Solução A: dissolveu-se 1,7 g de nitrato de bismuto (III) e 20 g de ácido tartárico em 80 mL de água.  
Solução B: dissolveu-se 16 g de iodeto de potássio em 40 mL de água.
- *Reagente de Baljet:* Misturas de partes iguais das soluções C e D.  
Solução C: 1 g de ácido pícrico / 100 mL de etanol.  
Solução D: 10 g de hidróxido de sódio (NaOH) / 100mL de água.

- *Reagente de Kedde:* Misturas de partes iguais das soluções E e F.  
Solução E: Ácido 3,5 - dinitrobenzóico a 3% em metanol.  
Solução F: Hidróxido de potássio (KOH) a 5,7% em água.
- *Reagente de Raymond-Marthoud:*  
Dissolveu-se 1 g de m-dinitrobenzeno em etanol, completando-se o volume de 100 mL.
- *Reagente de Liebermann- Burchard:*  
Misturou-se 10 mL de anidrido acético e duas gotas de ácido sulfúrico concentrado.
- *Reagente de Salkowski:*  
Ácido sulfúrico concentrado.
- *Reativo de Pascová:* Mistura de 9 partes de G para 1 parte de H, somente no momento de usar. A mistura só é estável durante 5 a 10 min.  
Solução G: dissolveu-se em 100 mL de Etanol 0,075 g de Verde de Bromocresol e 0,25g de Azulde Bromofenol.  
Solução H: dissolveu-se em 100 mL de água destilada, 0,25 g Permanganato de Potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) e 0,25 g de Carbonato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). $10\text{H}_2\text{O}$ .
- *Reativo de Lugol:*  
Dissolveu-se 10 g de Iodeto de Potássio (KI) e 5 g de Iodo em 50 mL de água destilada e completou-se o volume para 100 mL.
- *Reagente citrobórico:*  
Dissolveu-se 5 g de ácido bórico e 5 g de ácido cítrico em etanol e completou-se o volume da solução em 100 mL.
- *Solução de cloreto férrico:*  
Preparou-se uma solução de 1% de cloreto férrico em água destilada. E outra solução a 5% em metanol.
- *Reagente de Bornträger:*  
Preparou-se uma solução de NaOH a 5% em água.



### **4.2.3 Ensaio com o extrato aquoso**

Os extratos aquosos de cada amostra foram solubilizados com água deionizada para a realização dos seguintes ensaios:

➤ *Fenóis e Taninos:*

Filtrou-se 5 mL do extrato em um tubo de ensaio e adicionaram-se 5 gotas de cloreto férrico a 1%.

Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativa de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água adicionada da solução de cloreto férrico).

Coloração inicial entre o azul e o vermelho, é indicativa da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo.

Coloração azul indica possível presença de taninos hidrolisáveis, e coloração verde de taninos condensados.

➤ *Saponinas:*

Em um tubo de ensaio colocou-se 2 mL da solução aquosa adicionou-se 5 mL de água destilada. Agitou-se vigorosamente por 2 a 3 minutos e deixou em repouso. A permanência da camada de espuma estável por mais de meia hora, indica que o resultado é positivo.

### **4.2.4 Ensaio com o extrato alcoólico**

➤ *Ácidos orgânicos:*

Dissolveu-se alguns miligramas do extrato seco em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e transferiu-se 2 mL para um tubo de ensaio e adicionou-se algumas gotas do Reativo de Pascová. A descoloração do reativo (azul) indica reação positiva.

➤ *Polissacarídios:*

Dissolveu-se alguns miligramas do extrato seco em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e adicionaram-se duas gotas de Lugol. O aparecimento de coloração azul indica resultado positivo.

Preparou-se uma solução etanólica com cada um dos extratos e realizaram-se os seguintes ensaios:

➤ *Alcalóides:*

Em um tubo de ensaio colocou-se 2 mL da solução etanólica, adicionou-se 2 mL de HCl (10%). A mistura foi aquecida por 10 minutos. Esfriou-se, filtrou-se, dividiu-se o filtrado em três tubos de ensaios, sendo colocadas algumas gotas dos reativos de reconhecimento: Dragendorff, Mayer e Wagner. Uma leve turbidez ou precipitado (respectivamente roxo a laranja, branco a creme e marrom) evidencia a possível presença de alcalóides. O resultado é considerado verdadeiro quando pelo menos dois dos testes forem positivos.

➤ *Glicosídeos Cardiotônicos:*

Em um tubo de ensaio colocou-se 2 mL de solução do extrato, adicionou-se 3 mL de solução de acetato de chumbo a 10% e 2 mL de água destilada. Esquentou-se a mistura em banho-Maria durante 10 minutos. Filtrou-se. Agitou-se o filtrado com 10 mL de clorofórmio, separou-se a fase clorofórmica em 6 tubos de ensaio, levando-se em seguida à secura. Adicionou-se ao primeiro tubo, 1 mL de Reativo de Baljet.

Coloração roxa, laranja-roxeada ou violeta acusam presença de glicosídeos cardiotônicos.

Ao segundo tubo, adicionou-se 1 mL de Reativo de Kedde. Coloração rosa ou azul-violeta ao visível indica cardenólidos; os bufadienólidos não reagem. A cor se atenua em poucos minutos.

Ao terceiro tubo, foi adicionado 1 mL de Reativo de Raymond-Marthoud. Coloração roxa, laranja-roxeada ou violeta indicam a presença de anéis lactônicos dos cardenólidos.

No quarto tubo, realizou-se a reação de Keller-Kiliani (ácido acético glacial, numa gota de cloreto férrico a 5% em metanol e ácido sulfúrico concentrado. Coloração intensa é indicativa de resultado positivo.

No quinto tubo, realizou-se a reação de Liebermann-Burchard (1 mg da amostra/algumas gotas de ácido acético + 3 mL anidrido acético/ ácido sulfúrico (50:1, v/v)). Resultado positivo: coloração verde, azul esverdeado, roxo a azul.

No sexto tubo, realizou-se a reação de Salkowski para a determinação de núcleo esteroidal. A coloração indo do amarelo para o roxo indica que o resultado é positivo.

➤ *Cumarinas*

Em um tubo de ensaio colocou-se 2 mL da solução etanólica, tampou-se com papel de filtro impregnado com solução 10% de NaOH e levou-se a banho-Maria a 100 °C por alguns minutos. Removeu-se o papel de filtro e examinou-se sob luz UV. A reação positiva é a fluorescência de coloração azul ou verde-amarelada.

➤ *Flavonóides:*

Geral (Reação de Shinoda): Colocou-se em um tubo, 2 mL da solução etanólica, alguns fragmentos de Mg e agregou-se, pelas paredes do tubo, algumas gotas de HCl diluído. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

Por classes:

1 - Transferiu-se para três tubos de ensaio, 3 mL da solução etanólica (para cada tubo). Acidulou-se um a pH 3 e alcalinizou-se os dois restantes a pH 8,5 e pH 11.

2 - Em dois tubos adicionou-se 3 mL da solução etanólica, acidulou-se o primeiro com solução de HCl a pH 1 - 3 e alcalinizou-se o outro a pH 11 com solução de NaOH. Aqueceu com auxílio de uma lâmpada de álcool durante 2 à 3 minutos cuidadosamente. Observaram-se modificações na coloração, comparando com os tubos utilizados no teste anterior.

O aparecimento de cores diversas indica a presença de vários constituintes de acordo com a tabela 2:

Tabela 2 - Resultados de ensaios com extratos etanólicos de amostras vegetais em diferentes meios para grupos de flavonóides.

pH	1 a 3	3	8,5	11
<b>Resposta positiva: coloração</b>				
<i>Sem aquecimento da amostra</i>				
Antocianinas e Antocianidinas	----	Vermelha	Lilás	Azul púrpura
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	----	----	----	Amarela
Chalconas e Auronas	----	Vermelha	----	Vermelho a Púrpura
Flavanonóis	----	----	----	Vermelho a Laranja
<i>Com aquecimento da amostra</i>				
Leucoantocianidinas	----	----	----	----
Catequinas (taninos Catéquicos)	Pardo a amarela	----	----	----
Flavanonas	----	----	----	Vermelho a alaranjado

➤ *Triterpenos e/ou esteróides:*

Em um tubo de ensaio colocou-se 2 mL da solução etanólica, adicionou-se 5 mL de clorofórmio, filtrou-se, dividiu-se o filtrado em duas porções. Em cada um dos tubos foram realizadas as reações de Liebermann-Burchard e Salkowski. Os triterpenos desenvolvem coloração estável e os esteróides desenvolvem coloração mutável com o tempo.

➤ *Derivados antracênicos livres – quinonas*

Colocou-se em um tubo de ensaio 2 mL da solução metanólica e adicionou-se 5 mL de clorofórmio e agitou-se. Deixou-se em repouso por 15 minutos. Recolheu-se a fase clorofórmica e colocou-se 2 mL de solução aquosa de NaOH a 5%. Coloração roxa em fase aquosa indica a presença de antraquinonas (Reação de Borntraeger).

### **4.3 Preparação dos extratos para a determinação dos perfis cromatográficos das amostras estudadas**

Os extratos foram produzidos a 10% através de maceração da amostra com solvente de polaridade crescente (FRINHANI, 2005). Foi utilizado 15 g de amostra com 150 mL de solvente, com agitação esporádica, por um período de 72 horas. Após a maceração, foram filtradas a vácuo em filtro de papel, concentrados através de rotaevaporador à pressão reduzida, secos em capela e armazenados sob refrigeração para posterior análise. A fase sólida foi seca em estufa a 40 °C por um período de 48 horas, seguindo para um novo ciclo de extração, como pode ser observado no fluxograma apresentado na figura 15. Foram utilizados os seguintes solventes na sequência da extração:

- 1 - Hexano;
- 2 - Diclorometano (DCM);
- 3 - Acetato de étila;
- 4 - Etanol.

Os extratos foram identificados levando em consideração os códigos das amostras e a ordem de eluição dos solventes:

- UA1 – Extrato hexânico da umburana;
- UA2 – Extrato diclorometano da umburana;
- UA3 – Extrato acetato de étila da umburana;
- UA4 – Extrato etanólico da umburana;
- UAC1 – Extrato hexânico do carvão da umburana;
- UAC2 – Extrato diclorometano do carvão da umburana;
- UAC3 – Extrato acetato de étila do carvão da umburana;
- UAC4 – Extrato etanólico do carvão da umburana;
- UU1 – Extrato hexânico do umbu;
- UU2 – Extrato diclorometano do umbu;
- UU3 – Extrato acetato de étila do umbu;
- UU4 – Extrato etanólico do umbu;
- UUC1 – Extrato hexânico do carvão do umbu;
- UUC2 – Extrato diclorometano do carvão do umbu;
- UUC3 – Extrato acetato de étila do carvão do umbu;
- UUC4 – Extrato etanólico do carvão do umbu.

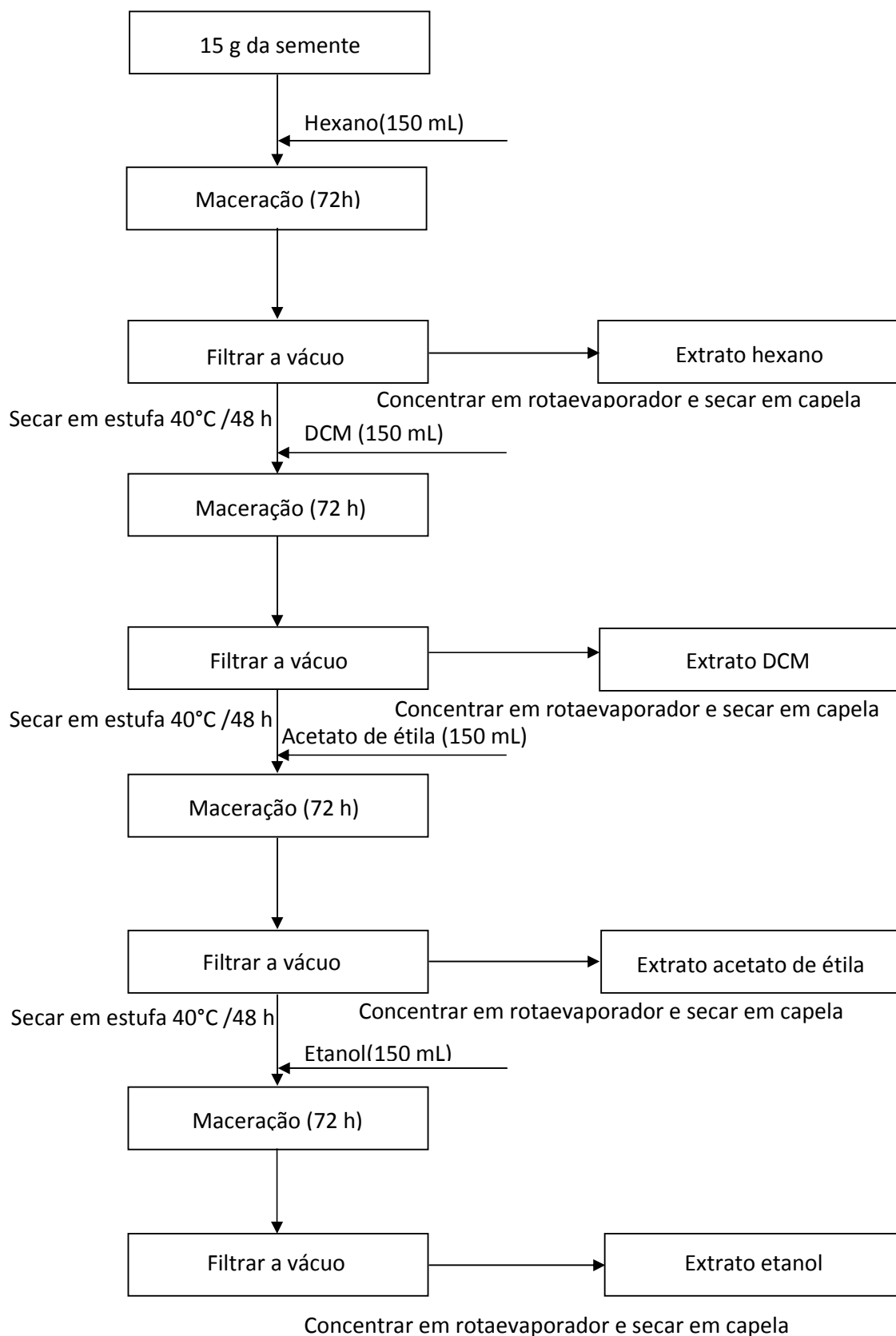


Figura 15 – Esquema de extração das amostras para determinação do perfil dos ácidos graxos e do perfil cromatográfico por GLAE.

Os rendimentos dos extratos serão apresentados mais adiante nos resultados.

#### **4.4 Análises do sólido cristalizado na amostra de sementes moída de umburana (UAS1) descrita no item 3.1**

##### ***4.4.1 Testes de solubilidade da UAS1***

Inicialmente foi realizado teste de solubilidade da seguinte forma: colocou-se alguns cristais em 4 tubos de ensaio. Em cada um dos tubos foi adicionado respectivamente água, éter dietílico, clorofórmio e etanol e observado a solubilidade do sólido em cada solvente.

##### ***4.4.2 Determinação do ponto de fusão da UAS1***

Foi determinado o ponto de fusão (PF) dos cristais da UAS1, no aparelho Microquímica MQAPF 301. Foram feitas 3 determinações.

##### ***4.4.3 Espectro de infravermelho da UAS1***

Foi também obtido o espectro na região do infravermelho (IV) no espectrômetro FT-IR Bomem MB100, com as frequências de absorção expressas em  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando-se pastilhas de brometo de potássio (KBr). Os dados foram processados através do software Origin 8.

##### ***4.4.4 Análise do UAS1 por CG/EM***

Foi também feita a determinação do espectro de massa através da injeção de 1  $\mu\text{L}$  de uma solução metanólica  $1\text{mg mL}^{-1}$  do sólido em Cromatógrafo Gasoso com detecção por Espectrometria de Massa CG/EM. A análise foi realizada por comparação com as bibliotecas de espectros NIST 05, 21, 27, 107 e 147.

Foi utilizado um equipamento da Shimadzu, modelo GC-2010 Plus, com uma coluna Rtx-5MS, Restek (30 m x 0,25 mm d.i. e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura de filme). O injetor foi mantido a 250  $^{\circ}\text{C}$ , com modo de injeção *splitless*. A temperatura do forno da coluna foi mantida a 50  $^{\circ}\text{C}$  por 1 min, seguida de rampas de aquecimento de 5  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  até

130 °C e de 10 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C, sendo esta temperatura mantida por 2 min. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste empregando uma vazão de 1,2 mL min<sup>-1</sup>. O detector contendo uma fonte de ionização por elétrons (EI-70 eV) e um analisador de massas quadrupolo, operado no modo varredura linear (*scan*) 40-500 *m/z* para identificação dos compostos. A interface foi mantida a 280 °C e a fonte de íons a 200 °C.

Todas as análises foram feitas em triplicatas.

#### **4.5 Análises dos ácidos graxos nas amostras das sementes estudadas por CG/EM**

Os ácidos graxos que compõem o óleo das sementes estudadas foram metilados, seguindo metodologia IUPAC (Method 2.301), com algumas modificações, através do seguinte procedimento: em um frasco de centrífuga com tampa (Eppendorf), pesou-se cerca de 100 mg do óleo obtido da fração hexânica das extrações, adicionou-se 2 mL de hexano e 0,2 mL de solução metanólica 2 mol L<sup>-1</sup> de KOH. Agitou-se o frasco por 60 s em agitador tipo vortex e adicionou-se 2 mL de solução saturada de cloreto de sódio, até a separação da fase orgânica. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados através da injeção de 1 µL da fase orgânica em cromatógrafo a gás e identificados por co-injeção de padrões, isto é, através da comparação dos tempos de retenção dos componentes das amostras e de padrões puros de ésteres metílicos (C18 a C20 marca Supelco). A quantificação foi feita por normalização de área e as determinações realizadas em triplicata, desde a etapa de extração dos lipídios.

A análise dos ácidos graxos do óleo, não identificados pela comparação com os padrões, foi realizada por comparação com as bibliotecas de espectros NIST 05, 21, 27, 107 e 147 do Cromatografo Gasoso com detecção por Espectrometria de Massa (CG/EM).

Foram utilizados o mesmo equipamento e condições do item 4.4.4.



## **4.6 Análises dos constituintes das amostras das sementes estudadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

### ***4.6.1 Preparo dos padrões para análise***

Em um frasco de centrífuga com tampa (Eppendorf), pesou-se 12,5 mg do composto adicionou-se 5 mL de metanol padrão cromatográfico CLAE-UVvis e agitou-se o frasco por 60 s em agitador tipo vortex. O conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL e aferido o volume. Então cada solução padrão foi filtrada através de membrana Millipore de 0,45 µm de diâmetro, antes da análise por CLAE.

### ***4.6.2 Análise espectrométrica (UV) dos padrões de ácido gálico, ácido L-ascorbico e cumarina***

A verificação do perfil espectral de absorção de cada composto, bem como a otimização do comprimento de onda para identificação em CLAE-UV, foi realizada através de ensaios de varredura em um espectrofotômetro UV Varian Cary, sendo que os dados foram processados através do software Origin 8.

Para realização deste ensaio, soluções estoque dos padrões de cumarina, ácido gálico e ácido L-ascorbico foram diluídas separadamente em metanol de modo a se obter as concentrações de 30 µg mL<sup>-1</sup>. Estas soluções foram submetidas à varredura na região de 200 a 450 nm de comprimento de onda (λ) utilizando como branco metanol padrão cromatográfico CLAE-UV. As bandas de absorção foram avaliadas individualmente, sendo em seguida os espectros de varredura de cada composto sobrepostos. Foi considerado o melhor comprimento de onda para identificação dos compostos por CLAE-UV aquele onde foi possível monitorar os compostos com intensidade e seletividade adequadas.

### ***4.6.3 Desenvolvimento do método***

Para seleção da fase móvel, diferentes combinações de água, metanol, e acetonitrila foram avaliadas levando sempre em consideração o melhor perfil cromatográfico. Além disso, diferentes fluxos também foram considerados na tentativa de otimizar o tempo de corrida e a resolução entre os picos cromatográficos.

O cromatógrafo usado foi um HP 1090, com capacidade para gradiente de eluição, acoplado a detectores de UV e varredura de diodo, com amostrador automático. Para o desenvolvimento do método usou-se uma coluna de fase reversa Zorbax Eclipse XDB C18 150 x 4.6 mm, 5 µm de partícula (Agilent Technologies).

#### **4.6.4 Preparo das amostras para análise**

Em um frasco de centrifuga com tampa (Eppendorf), pesou-se 5 mg de cada extrato seco (DCM, acetato de etila e etanol) adicionou-se 1 mL de metanol padrão cromatográfico e agitou-se o frasco por 60 s em agitador tipo vortex, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 10 mL e aferido o volume. Cada amostra foi filtrada através de membrana Millipore de 0,45 µm de diâmetro, antes da análise por CLAE.

Foi utilizado o metanol padrão cromatográfico como branco, que foi o solvente utilizado para a solubilização dos extratos.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Rendimento dos carvões obtidos das sementes moídas da umburana (UAC) e do umbu (UUC)**

Inicialmente foi feito o teste do teor de umidade das sementes moídas através do método da estufa. Na semente da umburana o valor encontrado foi de  $20,10 \pm 0,17\%$  e a semente do umbu o valor foi de  $9,75 \pm 0,23\%$ . Os valores encontrados foram para uma média de 3 determinações para cada semente. Observa-se que a semente da umburana apresenta um percentual de umidade superior a da semente do umbu.

O rendimento médio percentual observado na obtenção do carvão da semente moída da umburana foi de  $66,72 \pm 1,52\%$ . Os valores para cada determinação podem ser visto na tabela 3.

Tabela 3 - Rendimento da obtenção do carvão da semente moída de umburana (UAC).

<b>Massa para cada determinação (g)</b>		<i>40,00</i>
<b>Determinação</b>	<b>Massa do carvão(g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
1	27,4352	68,59
2	26,6839	66,71
3	25,9467	64,87
<b>Media</b>		<i>66,72</i>
<b>Desvio padrão (s)</b>		<i>1,52</i>

Já rendimento médio percentual obtido para o carvão da semente moída do umbu foi de  $41,94 \pm 2,22\%$ . Na tabela 4 podem-se ver os valores de cada determinação.

Tabela 4 - Rendimento da obtenção do carvão da semente moída do umbu (UUC).

<b>Massa para cada determinação (g)</b>		<i>40,00</i>
<b>Determinação</b>	<b>Massa do carvão(g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
1	17,9648	44,91
2	16,5286	41,32
3	15,8301	39,58
<b>Media</b>		<i>41,94</i>
<b>Desvio padrão (s)</b>		<i>2,22</i>

Da análise dos resultados podemos observar que a obtenção do carvão da umburana apresentou um maior rendimento em relação ao da semente do umbu, talvez explicado pela natureza da umburana que é da família das leguminosas e sua semente quando moída apresenta um aspecto oleoso e mais denso que a semente moída do umbu, podendo ser assim mais resistente ao efeito da temperatura.

Observa-se também uma pequena, mas progressiva redução nos valores obtidos dos rendimentos a cada determinação de cada um dos carvões. Possivelmente explicada pelo acúmulo de umidade ocorrida durante o armazenamento no intervalo em cada determinação.

## 5.2 Testes Fitoquímicos

Os resultados dos ensaios fitoquímicos realizados para a semente moída da umburana (UA) e seu carvão (UAC) e para a semente moída do umbu (UU) e seu carvão (UUC) estão dispostos nas tabelas 5 e 6 respectivamente.

Tabela 5 - Resultados dos ensaios fitoquímicos para a semente moída da umburana *in natura* (UA) e seu carvão (UAC).

Metabólito	Teste / Reação	Resultados	
		UA	UAC
Saponinas	Formação e permanência de espuma	-	-
Taninos	Sais de ferro	+	+
Ácidos orgânicos	Pascová	-	-
Alcalóides	Dragendorff	+	+
	Mayer	+	+
	Wagner	+	+
Polissacarídios	Lugol	-	-
Glicosídeos Cardiotônicos	Baljet	-	-
	Kedde	-	-
	Raymond-Marthoud	-	-
	Keller-Kiliani	-	-
	Liebermann-Burchard	-	-
	Salkowsk	-	-
Cumarinas	Fluorescência azul ou amarela	+	+
Flavonóides	Shinoda	+	-
	Antocianinas e Antocianidinas	-	-
	Flavonas, Flavonóis e Xantonas	+	-
	Chalconas e Auronas	-	-
	Flavanonóis	-	-
	Leucoantocianidinas	-	-
	Catequinas (taninos Catéquicos)	+	-
	Flavanonas	-	-
Triterpenos	Liebermann-Burchard	+	-
	Salkowski	-	-
Esteróides	Liebermann-Burchard	-	-
	Salkowski	+	-
Derivados antracênicos livres	Bornträeger	-	-

Tabela 6 - Resultados dos ensaios fitoquímicos para a semente moída do umbu *in natura* (UU) e seu carvão (UUC).

Metabólito	Teste / Reação	Resultados	
		UU	UUC
Saponinas	Formação e permanência de espuma	-	-
Taninos	Sais de ferro	+	-
Ácidos orgânicos	Pascová	+	-
Alcalóides	Dragendorff	-	-
	Mayer	-	-
	Wagner	-	-
Polissacarídios	Lugol	-	-
Glicosídeos Cardiotônicos	Baljet	-	-
	Kedde	-	-
	Raymond-Marthoud	-	-
	Keller-Kiliani	-	-
	Liebermann-Burchard	-	-
	Salkowsk	-	-
Cumarinas	Fluorescência azul ou amarela	+	-
Flavonóides	Shinoda	+	-
	Antocianinas e Antocianidinas	-	-
	Flavonas, Flavonóis e Xantonas	+	-
	Chalconas e Auronas	-	-
	Flavanonóis	-	-
	Leucoantocianidinas	+	-
	Catequinas (taninos Catéquicos)	-	-
	Flavanonas	-	-
Triterpenos	Liebermann-Burchard	-	-
	Salkowski	-	-
Esteróides	Liebermann-Burchard	-	-
	Salkowski	+	-
Derivados antracênicos livres	Bornträger	-	-

As análises fitoquímicas realizadas neste estudo demonstram a presença de vários grupos de compostos secundários nos extratos das amostras.

Na pesquisa das saponinas, a espuma formada em cada uma das quatro soluções das amostras, após serem agitadas, se desfez rapidamente, logo, todos os testes foram considerados negativos.

Os testes para taninos foram considerados positivos para as amostras de UA, UAC e UU, pois foi observada a formação de uma coloração verde e ainda pela formação de precipitado nos respectivos extratos indicando que são taninos condensados.

Na pesquisa dos ácidos orgânicos, foi observada a descoloração do reativo de Pascová que possui coloração azul, apenas no extrato da amostra UU, sendo este o único resultado positivo.

Para a análise de alcalóides os resultados foram considerados positivos para as amostras UA e UAC de acordo com a metodologia utilizada pela formação de precipitado floculoso ou turvação da solução apresentadas na presença dos três reativos usados: Dragendorff, Mayer e Wagner.

Na pesquisa para cumarinas, foi observado o desenvolvimento de fluorescência azul nos papéis de filtro expostos à luz UV nas amostras de UA, UAC e UU indicando resultados positivos para as mesmas.

A pesquisa para flavonóides, na amostra UA foi positiva, pois houve desenvolvimento de coloração rósea na amostra (reação de Shinoda), também apresentando coloração amarela quando levado a pH 11, indicando a presença de Flavonas, Flavonóis e Xantonas além dos resultados positivos para Catequinas (taninos Catéquicos) indicados pela coloração amarelo pardo após o aquecimento da solução acidificada a pH 3. As soluções da amostra UU apresentaram o aumento da intensidade da coloração para a reação de Shinoda, positivo para flavonóides, coloração amarela quando levada a pH 11 indicando a presença de Flavonas, Flavonóis e Xantonas e também coloração vermelha na solução de pH 3 quando a mesma foi aquecida, sinalizando a presença de Leucoantocianidinas.

A análise de terpenos indicou resultados positivos somente na amostra de UA pelo surgimento e estabilidade de coloração levemente amarelada na solução pela reação de Liebermann-Burchard.

A pesquisa para esteróides apresentou resultados positivos na reação de Salkowski para as amostras de UA e UU pelo surgimento de coloração mutável com o tempo.

As figuras 16, 17 e 18 apresentam resultados positivos para os testes das amostras UA, UAC e UU respectivamente.

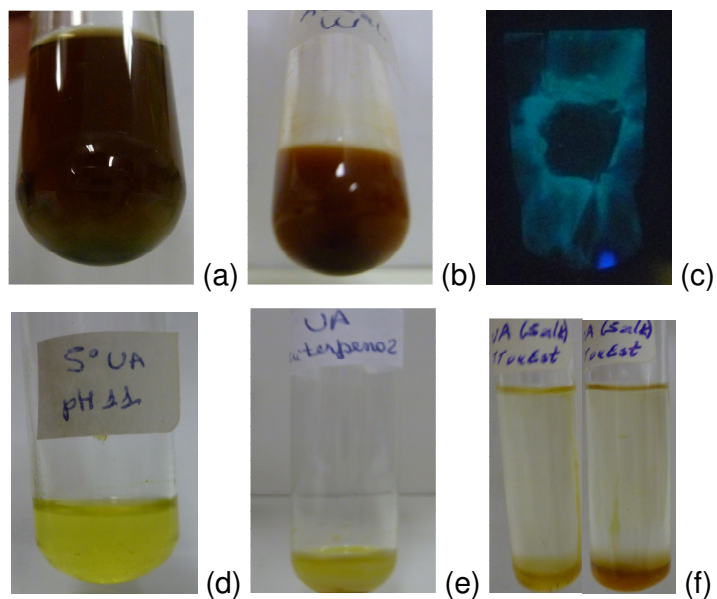


Figura 16 – Resultados positivos para a amostra UA: (a) taninos, (b) alcalóide, (c) cumarinas, (d) flavonóides, (e) triterpenos e (f) esteróides.

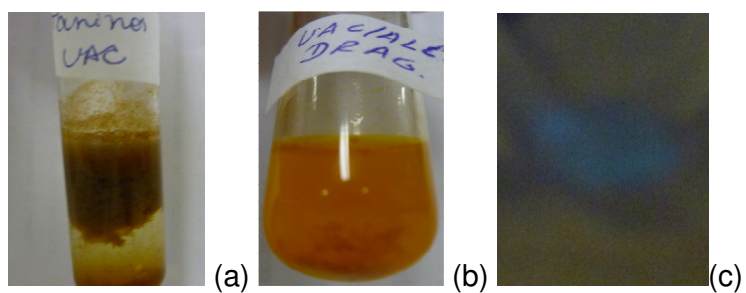


Figura 17 – Resultados positivos para a amostra UAC: (a) taninos (b) alcalóide e (c) cumarinas.

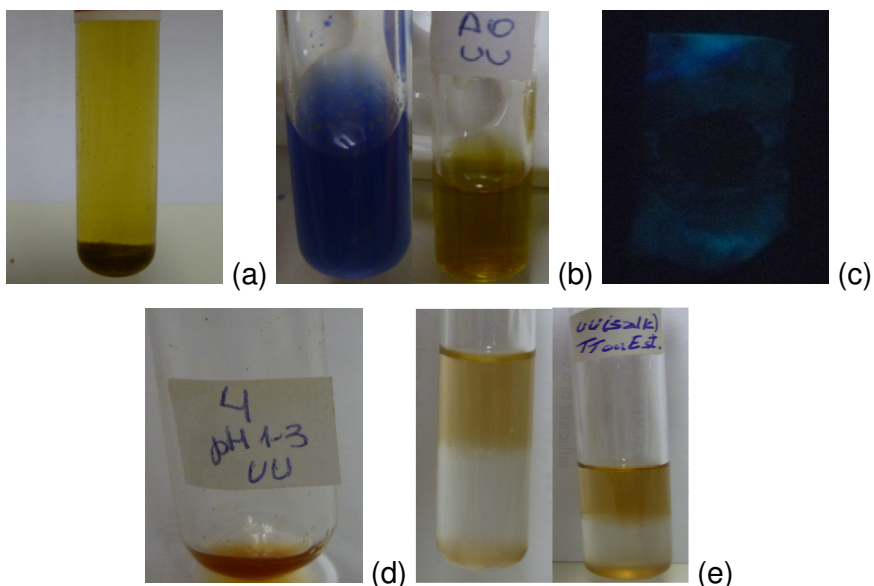


Figura 18 – Resultados positivos para a amostra UU: (a) taninos, (b) ácidos orgânicos (c) cumarinas (d) flavonóides e (e) esteróides.

A presença dos alcalóides e taninos nas sementes da umburana pode justificar a utilização destas como repelentes de insetos para roupas e estantes, devido a sua toxicidade e/ou o seu gosto amargo e a utilização destas substâncias pelas plantas com mecanismos de defesa (MARTINS et al., 1995; PAIS, 1998). Já a utilização desta semente como aromatizante e na fabricação de um pó fino, designado rapé-de-imburana, empregado para induzir espirros no tratamento de congestão nasal por acúmulo de secreção (MAIA, 2004) devido à presença de cumarinas. Porém devem-se ter cuidados com a utilização das cumarinas, pois com base nos dados sobre toxicidade hepática verificada em ratos, a agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) a classificou como substância tóxica, deixando de ser legal a sua adição nos alimentos (SIMÕES et al., 2002).

A presença de flavonóides nas sementes é relevante devido a estes compostos possuírem diferentes propriedades, como o fato de alguns apresentarem cor e poderem ser usados como pigmentos, curtição de couros e corantes de alimentos, além da importância farmacológica por serem atribuídas a essa classe de compostos atividades antitumoral, antiinflamatória, antiviral, antioxidante, dentre outras (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Da avaliação final dos testes fitoquímicos observou-se que a semente da umburana (UA) continha os seguintes metabólitos: taninos, alcalóides, cumarinas, flavonóides,



triterpenos e esteróides. No seu respectivo carvão (UAC) ainda foi encontrado taninos, alcalóides e cumarinas.

Na análise da semente do umbu (UU) verificou-se a presença de taninos, ácidos orgânicos, cumarinas, flavonóides e esteróides. Já no seu carvão (UUC) não foi encontrado nenhum dos metabólitos testados, sendo este resultado considerado promissor para a sua utilização no dispositivo dessalinizador. Estes testes parecem ser os primeiros produzidos para esta semente, pois ainda não foi encontrado nenhum relato na literatura.

### 5.3 Rendimentos dos extratos para obtenção dos perfis cromatográficos

Após a obtenção dos extratos das amostras em diferentes solventes, segundo procedimento descrito no item 4.3, estes foram rotulados e em seguida foram calculadas as massas obtidas em cada fração extraída após a evaporação do solvente e os rendimentos médios das extrações de cada amostra. Foram feitas 3 determinações para a obtenção das médias.

Nas tabelas 7 e 8 são apresentados os resultados dos rendimentos médios das extrações das amostras UA e UAC respectivamente, além dos códigos utilizados para cada fração.

Tabela 7 – Rendimento das extrações da amostra da semente *in natura* de umburana (UA), usando 15 g da mesma.

<b>Solvente / Extrato</b>	<b>Massa média (g)</b>	<b>Desvio padrão (s)</b>	<b>Percentual médio da massa extraída</b>
Hexano / UA1	3,3834	0,0072	68,07
Diclorometano / UA2	0,5575	0,0075	11,22
Acetato de Etila / UA3	0,1254	0,0093	2,52
Etanol / UA4	0,9039	0,0047	18,19
<b>Massa total extraída dos solventes (g)</b>	<i>4,9702</i>	<i>0,0062</i>	<i>100,00</i>
<b>Total da Extração (%)</b>	<i>33,13</i>	<i>0,04</i>	-----

Tabela 8 – Rendimento das extrações da amostra do carvão da semente de umburana (UAC), usando 15 g da mesma.

<b>Solvente / Extrato</b>	<b>Massa média (g)</b>	<b>Desvio padrão (s)</b>	<b>Percentual médio da massa extraída</b>
Hexano / UAC1	3,5185	0,0040	81,74
Diclorometano / UAC2	0,3604	0,0076	8,37
Acetato de Etila / UAC3	0,0431	0,0039	1,00
Etanol / UAC4	0,3826	0,0022	8,89
<b>Massa total extraída dos solventes (g)</b>	<i>4,3047</i>	<i>0,0092</i>	<i>100,00</i>
<b>Total da Extração (%)</b>	<i>28,70</i>	<i>0,06</i>	-----

O rendimento total médio percentual observado na extração com os 4 solventes para a semente *in natura* de umburana (UA) foi de  $33,13 \pm 0,04\%$  e para o seu respectivo carvão (UAC) de  $28,70 \pm 0,06\%$ .

Para a semente *in natura* de umbu (UU) foi obtido um rendimento médio percentual das extrações de  $3,09 \pm 0,04\%$ , já o seu carvão (UUC) apresentou um valor de  $1,28 \pm 0,05\%$ . Os valores médios dos rendimentos das extrações e os códigos utilizados para cada fração extraída de UU e UUC podem ser vistas nas tabelas 9 e 10 respectivamente.

Tabela 9 – Rendimento das extrações da amostra da semente *in natura* de umbu (UU), usando 15 g da mesma.

<b>Solvente / Extrato</b>	<b>Massa média (g)</b>	<b>Desvio padrão (s)</b>	<b>Percentual médio da massa extraída</b>
Hexano / UU1	0,2443	0,0062	52,76
Diclorometano / UU2	0,0592	0,0078	12,78
Acetato de Etila / UU3	0,0264	0,0030	5,70
Etanol / UU4	0,1332	0,0049	28,76
<b>Massa total extraída dos solventes (g)</b>	<i>0,4630</i>	<i>0,0054</i>	<i>100,00</i>
<b>Total da Extração (%)</b>	<i>3,09</i>	<i>0,04</i>	-----

Tabela 10 – Rendimento das extrações da amostra do carvão da semente de umbu (UUC), usando 15 g da mesma.

<b>Solvente / Extrato</b>	<b>Massa média (g)</b>	<b>Desvio padrão (s)</b>	<b>Percentual médio da massa extraída</b>
Hexano / UUC1	0,0742	0,0033	38,60
Diclorometano / UUC2	0,0410	0,0014	21,33
Acetato de Etila / UUC3	0,0332	0,0022	17,29
Etanol / UUC4	0,0438	0,0040	22,78
<b>Massa total extraída dos solventes (g)</b>	0,1922	0,0076	100,00
<b>Total da Extração (%)</b>	1,28	0,05	-----

Da análise dos resultados observa-se que, para todas as amostras, o extrato hexânico apresenta a maior quantidade de massa extraída quando comparado com os demais extratos e que o rendimento das extrações nas amostras dos carvões é menor que os de sua semente de origem, à exceção para o extrato hexânico das amostras do carvão da semente moída da umburana, em que houve um aumento no valor da massa extraída. Esse aumento pode ser explicado porque a semente da umburana é uma oleaginosa, ricas em ácidos graxos e também pela eliminação da água e com a utilização do aquecimento para a obtenção do carvão, parece favorecer a extração destes compostos, que são geralmente encontrados na fração hexânica.

#### **5.4 Identificação do sólido formado (cristais brancos) encontrado na semente moída da umburana quando estocada (UAS1)**

Na análise preliminar do sólido volatilizado na semente moída de umburana, observou-se que o mesmo possuía a forma de cristais, de cor branca e que exalava um cheiro de baunilha, característico das cumarinas. Na tentativa de identificá-lo foi feito inicialmente um perfil cromatográfico em camada delgada para determinar se era apenas uma substância ou uma mistura, e em seguida testes de solubilidade e ponto de fusão:

#### **5.4.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)**

Na figura 19 é apresentado o perfil cromatográfico em camada delgada (CCD) do sólido UAS1:



Figura 19 - Cromatograma do sólido UAS1; sistema eluente: hexano/acetato de étila (6:4); Revelação: câmara de iodo sólido.

Analisando-se o perfil cromatográfico percebe-se o aparecimento de apenas uma mancha levando a acreditar que o sólido é de apenas uma substância.

#### **5.4.2 Análise da solubilidade do sólido UAS1**

Nos testes de solubilidade pode-se observar que o UAS1 é pouco solúvel em água, mas solúvel em éter dietílico, clorofórmio e etanol. Os resultados podem ser observados na figura 20.

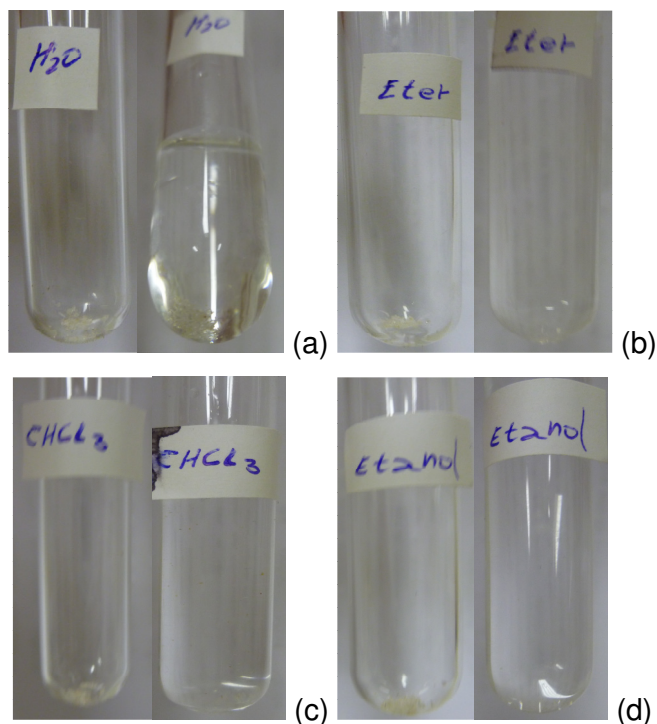


Figura 20 – Testes de solubilidade do UAS1 (a) água, (b) éter dietílico, (c) clorofórmio e (e) etanol.

#### **5.4.3 Teste do ponto de fusão do sólido UAS1**

Foi observado que o ponto de fusão médio do sólido é de  $69,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .

A análise dos testes de solubilidade e ponto de fusão indica que o sólido UAS1 pode ser a cumarina (1,2 benzopirona), já que esta é um cristal branco à temperatura ambiente, apresenta aroma semelhante ao da baunilha, com ponto de fusão entre 68 e 70°C além de possuir boa solubilidade em etanol, clorofórmio e éter etílico, sendo pouco solúvel em água (COHEN et al. 1979). Para tentar confirmar foram feitos os espectros de infravermelho e de cromatografia gasosa com espectrometria de massa.

#### 5.4.4 Espectro no infravermelho (IR) do sólido UAS1

A figura 21 apresenta o espectro no infravermelho (IR) do sólido UAS1.

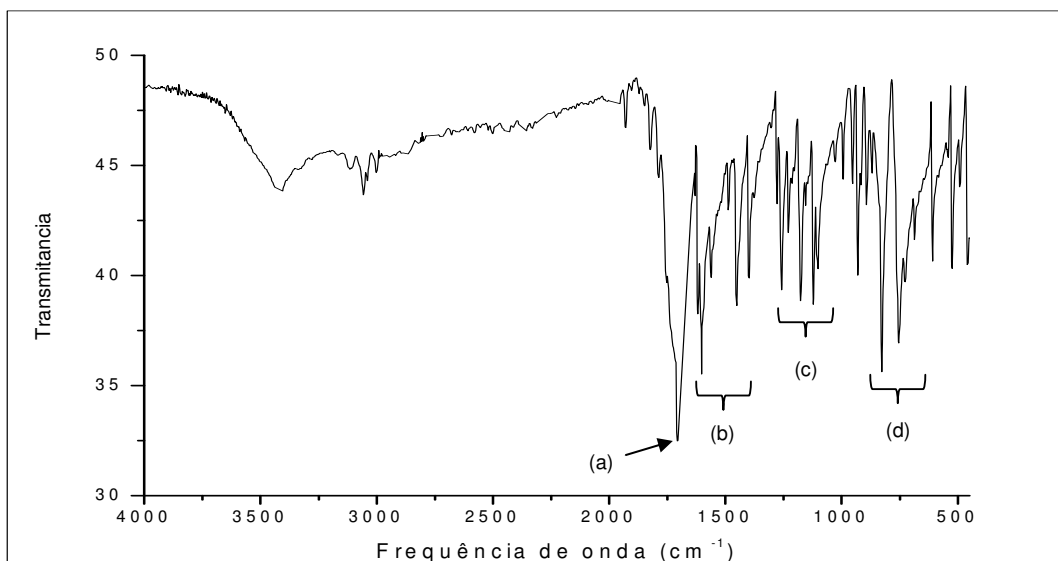
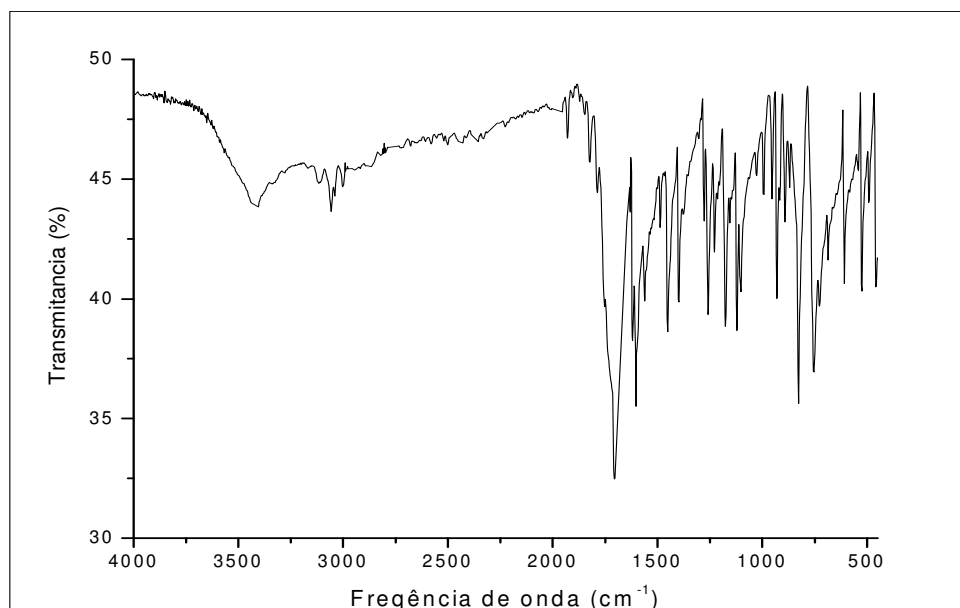


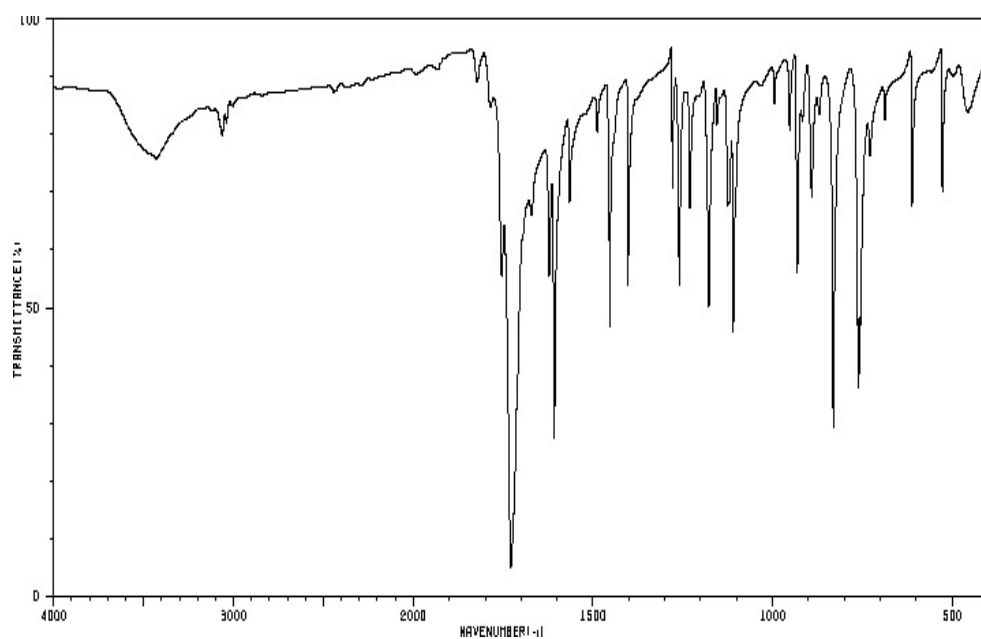
Figura 21 – Espectro no Infravermelho do sólido estudado UAS1.

Da análise do espectro de IR pode-se observar a presença dos seguintes sinais característicos: (a) de carbonila de ester conjugada na frequência de onda de  $1706\text{ cm}^{-1}$ , (b) 2 sinais da ligação  $\text{C} = \text{C}$  de aromático aproximadamente em  $1600$  e  $1450\text{ cm}^{-1}$ , (c) 3 sinais da ligação  $\text{C} - \text{O}$  de ester (aromático) na faixa de  $1300 - 1000\text{ cm}^{-1}$ , e (d) sinais de benzeno di-substituído nas posição 1,2 em  $770$  e  $735\text{ cm}^{-1}$  (Lopes & Fascio, 2004).

Pode-se também observar que o espectro de infravermelho do sólido UAS1 é bastante similar ao espectro da cumarina (1,2 benzopirona) como é mostrado na figura 22.



(a)



(b)

Figura 22 – Espectro de infravermelho: (a) sólido UAS1 e (b) cumarina (1,2 benzopirona).

Fonte: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST).

### 5.4.5 Análise por CG/EM do sólido UAS1

O cromatograma e o espectro de massa do sólido UAS1 podem ser visto nas figuras 23 (a) e (b) respectivamente.

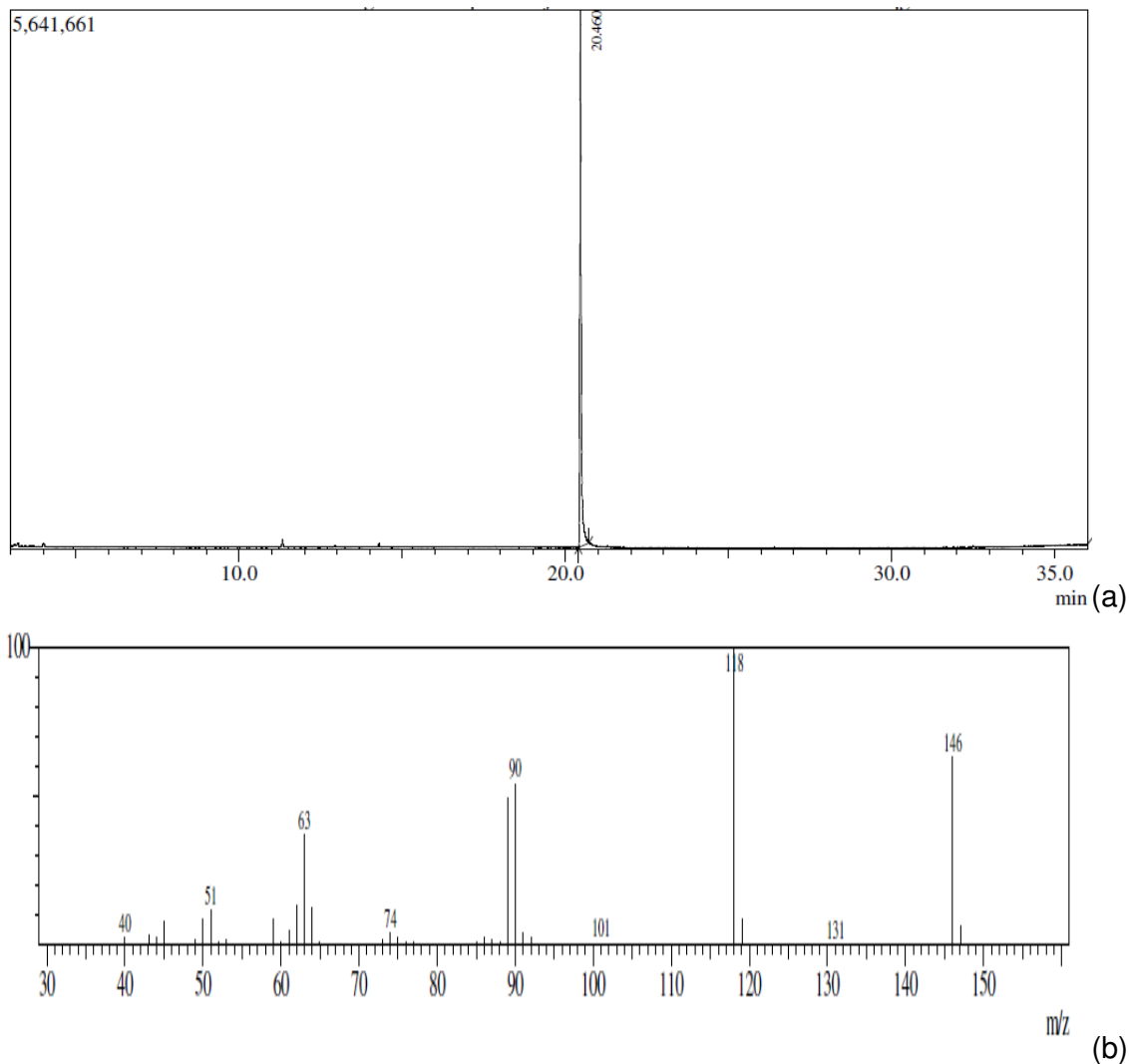


Figura 23 – (a) Cromatograma do sólido UAS1 e (b) Espectro de massas.

Pode-se observar um sinal intenso com tempo de retenção de 20,46 minutos. A similaridade do espectro de massa do sólido quando comparado com as bibliotecas de espectro do padrão da cumarina foi de 97%, confirmado que o sólido UAS1 é mesmo a cumarina.

O sólido já identificado como cumarina foi então reservado para ser usado como padrão em posterior análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).



### 5.6 Composição dos ácidos graxos nas amostras das sementes estudadas (UA, UAC, UU e UUC)

Inicialmente foi feita a reação de esterificação do extrato hexânico de cada uma das amostras. Os ácidos graxos foram identificados mediante a comparação dos tempos de retenção dos seus ésteres metílicos e o dos padrões de ésteres metílicos obtidos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM). Os ácidos não identificados foram comparados às bibliotecas de espectros. A figura 24 apresenta o cromatograma de íons totais dos padrões dos ésteres metílicos dos respectivos ácidos e a tabela 11 apresenta os padrões e os tempos de retenção obtidos na análise dos padrões dos ésteres metílicos.

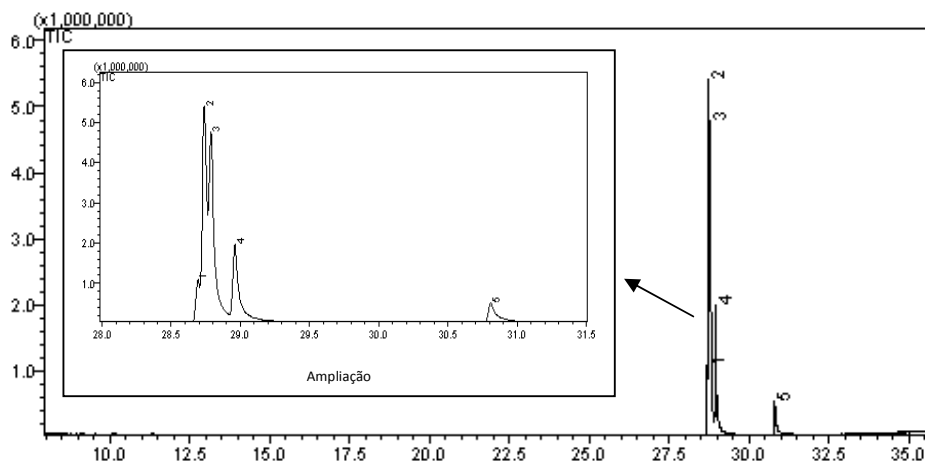


Figura 24 – Cromatograma dos íons totais dos padrões dos ésteres metílicos.

Tabela 11 – Padrões dos ésteres metílicos com os seus respectivos tempos de retenção.

Pico	Éster metílico	Nome (IUPAC)	$t_r$ (min.)	Formula molecular
1	Linoléico	Éster cis,cis-9,12-octadecadienóico	28,69	$C_{19}H_{34}O_2$
2	Oléico	Éster cis-9-octadecenóico	28,74	$C_{19}H_{36}O_2$
3	Elaídico	Éster trans-9-octadecenóico	28,79	$C_{19}H_{36}O_2$
4	Estearico	Éster octadecanóico	28,96	$C_{19}H_{38}O_2$
5	Araquídico	Éster eicosanóico	30,81	$C_{21}H_{42}O_2$

$t_r$  - Tempo de retenção

Observa-se pelo cromatograma, que as condições utilizadas para a análise não foram as mais adequadas, pois foram feitas fora do nosso grupo de pesquisa, e pela demanda de trabalho do laboratório onde foram realizadas as nossas análises, não foi possível fazer os ajustes necessários para melhoria das mesmas.

A figura 25 e a tabela 12 respectivamente apresentam o cromatograma de íons totais e a composição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos presentes na amostra da semente *in natura* da umburana (UA).

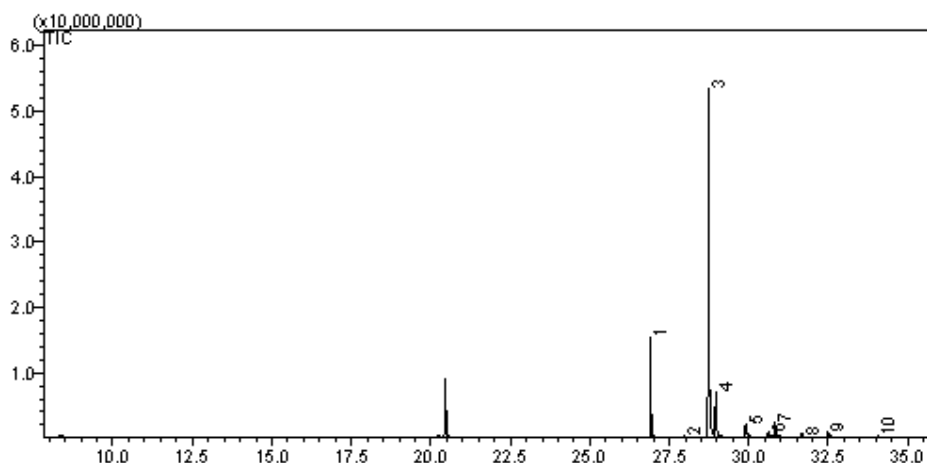


Figura 25 – Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da semente *in natura* de umburana (UA).

Tabela 12 – Composição e ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da semente *in natura* de umburana (UA).

Pico	Éster do ácido graxo	Nome (IUPAC)	t <sub>r</sub> (min.)	Formula molecular
1	Palmitico	Éster hexadecanóico	26,91	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
2	Margárico	Éster heptadecanóico	27,96	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>
3	Oléico	Éster cis-9-octadecenóico	28,74	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>
4	Esteárico	Éster octadecanóico	28,96	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>
5	n-nonadecílico	Éster nonadecanóico	29,90	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>
6	N. I.	-----	30,61	----
7	Araquidico	Éster eicosanóico	30,81	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>
8	n-heneicosóico	Éster heneicosanóico	31,67	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>
9	Behênico	Éster docosanóico	32,50	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>
10	Lignocérico	Éster tetracosanóico	34,05	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>

t<sub>r</sub> - Tempo de retenção; N. I. – não identificado

Da análise dos dados observou-se que a semente da umburana apresentou dez ácidos graxos. Destes, um insaturado, oito saturados, e um que não foi possível fazer a identificação. Observa-se também no espectro um sinal no tempo de retenção em 20,40 min. Este sinal é da cumarina. A mesma possui boa solubilidade em óleos (COHEN et al. 1979). A confirmação foi feita através da biblioteca de espectros.

Na figura 26 é apresentado o cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da amostra do carvão da semente da umburana (UAC) e na tabela 13 pode ser vista a sua composição.

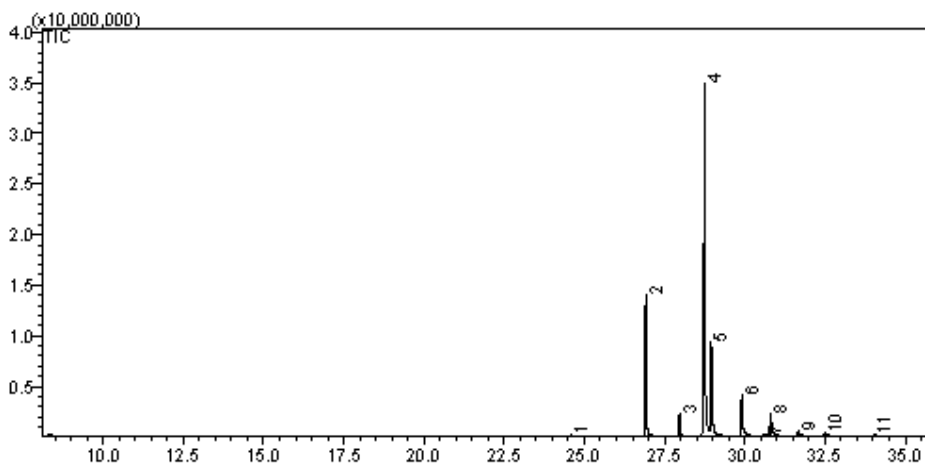


Figura 26 – Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos do carvão da semente de umburana (UAC).

Tabela 13 – Composição e ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos do carvão da semente de umburana (UAC).

Pico	Éster do ácido graxo	Nome (IUPAC)	$t_r$ (min.)	Formula molecular
1	Mirístico	Éster tetradecanóico	24,58	$C_{15}H_{30}O_2$
2	Palmitico	Éster hexadecanóico	26,91	$C_{17}H_{34}O_2$
3	Margárico	Éster heptadecanóico	27,96	$C_{18}H_{36}O_2$
4	Oléico	Éster cis-9-octadecenóico	28,74	$C_{19}H_{36}O_2$
5	Esteárico	Éster octadecanóico	28,96	$C_{19}H_{38}O_2$
6	n-nonadecílico	Éster nonadecanóico	29,90	$C_{20}H_{40}O_2$
7	N. I.	-----	30,61	----
8	Araquidico	Éster eicosanóico	30,81	$C_{21}H_{42}O_2$
9	n-heneicosóico	Éster heneicosanóico	31,67	$C_{22}H_{44}O_2$
10	Behênico	Éster docosanóico	32,50	$C_{23}H_{46}O_2$
11	Lignocérico	Éster tetracosanóico	34,05	$C_{24}H_{48}O_2$

$t_r$  - Tempo de retenção; N. I. – não identificado

A amostra do carvão da semente de umburana (UAC) apresenta em sua composição o ácido mirístico e também os mesmos ácidos encontrados na amostra da sua semente de origem (UA).

A tabela 14 apresenta a composição dos ácidos graxos presentes nas sementes *in natura* da umburana UA e UAC em percentagem da área dos picos do cromatograma de íons totais dos seus ésteres equivalentes.

Tabela 14 – Composição dos ácidos graxos presentes nas sementes *in natura* da umburana (UA) e seu carvão (UAC) em percentagem da área dos picos.

Ácido graxo		Composição (%)	
Saturados	Símbolo	UA	UAC
Mirístico	C14:0	-----	0,19
Palmitico	C16:0	16,09	17,12
Margárico	C17:0	0,62	3,41
Estearico	C18:0	10,23	15,49
n-nonadecílico	C19:0	3,42	7,60
Araquidico	C20:0	4,09	5,08
n-heneicosóico	C21:0	0,68	1,27
Behênico	C22:0	1,27	0,88
Lignocérico	C23:0	0,23	0,15
<i>Total saturados</i>		<i>36,63</i>	<i>51,19</i>
<b>Insaturado</b>			
Oléico	C18:1 (n-9)	61,73	48,29
<b>Não identificado</b>	N. I.	1,65	0,54
<b>Composição total</b>		100	100

Da análise da tabela podemos observar nas duas amostras (UA e UAC), que o ácido palmítico é o mais abundante ácido graxo saturado com 16,09 e 17,12 % respectivamente, seguido do ácido esteárico. Além disso, observa-se também que o ácido oléico é o único ácido insaturado presente, sendo o majoritário em ambas as amostras. Observa-se ainda que o percentual deste mesmo ácido na amostra UA diminuiu de 61,73 % para 48,29 % na amostra UAC, o que já era esperado devido ao efeito da temperatura para a obtenção do carvão, o que favorece a quebra das insaturações e também a quebra da cadeia carbônica. Ainda assim o ácido oléico representa a maior parte dos ácidos graxos na amostra do carvão da semente da umburana.

O cromatograma de íons totais dos ésteres metílicos equivalentes dos ácidos graxos da semente *in natura* do umbu está apresentado na figura 27 e a sua composição pode ser vista na tabela 15.

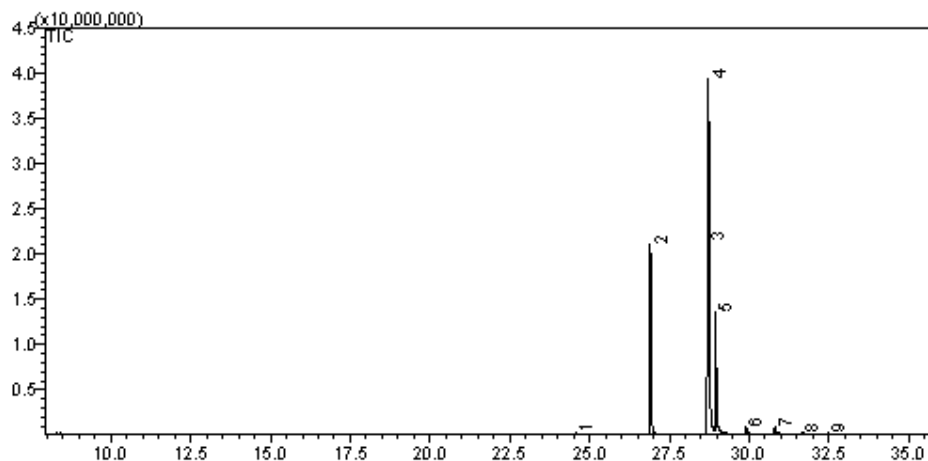


Figura 27 – Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da semente *in natura* do umbu (UU).

Tabela 15 – Composição e ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos da semente *in natura* de umbu (UU).

Pico	Éster do ácido graxo	Nome (IUPAC)	$t_r$ (min.)	Formula molecular
1	Mirístico	Éster tetradecanóico	24,59	$C_{15}H_{30}O_2$
2	Palmitico	Éster hexadecanóico	26,91	$C_{17}H_{34}O_2$
3	Linoléico	Éster cis,cis-9,12-octadecadienóico	28,69	$C_{19}H_{34}O_2$
4	Oléico	Éster cis-9-octadecenóico	28,74	$C_{19}H_{36}O_2$
5	Esteárico	Éster octadecaóico	28,96	$C_{19}H_{38}O_2$
6	n-nonadecílico	Éster nonadecanóico	29,91	$C_{20}H_{40}O_2$
7	Araquídico	Éster eicosanóico	30,81	$C_{21}H_{42}O_2$
8	n-heneicosóico	Éster heneicosanóico	31,67	$C_{22}H_{44}O_2$
9	Behênico	Éster docosanóico	32,50	$C_{23}H_{46}O_2$

$t_r$  - Tempo de retenção

Observa-se que a semente do umbu apresentou oito ácidos graxos sendo que seis saturados e dois insaturados.

A figura 28 apresenta o cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos do carvão da semente do umbu (UUC).

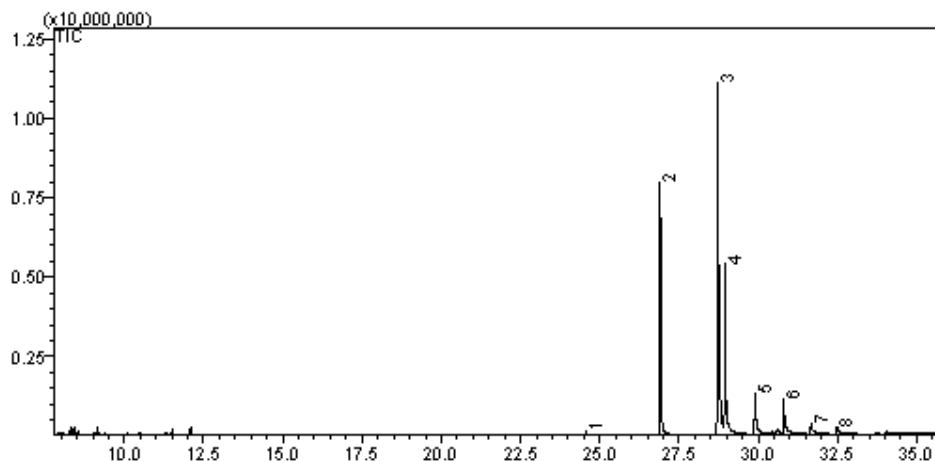


Figura 28 – Cromatograma dos íons totais dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos do carvão da semente de umbu (UUC).

Na tabela 16 pode ser vista a composição e a ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos presentes no carvão da semente do umbu (UUC).

Tabela 16 – Composição e a ordem de eluição dos ésteres metílicos equivalentes aos ácidos graxos no carvão da semente do umbu (UUC).

Pico	Éster do ácido graxo	Nome (IUPAC)	$t_r$ (min.)	Formula molecular
1	Mirístico	Éster tetradecanóico	24,58	$C_{15}H_{30}O_2$
2	Palmitíco	Éster hexadecanóico	26,91	$C_{17}H_{34}O_2$
3	Oleico	Éster cis-9-octadecenóico	28,73	$C_{19}H_{36}O_2$
4	Estearico	Éster octadecanóico	28,96	$C_{19}H_{38}O_2$
5	n-nonadecílico	Éster nonadecanóico	29,91	$C_{20}H_{40}O_2$
6	Araquídico	Éster eicosanóico	30,81	$C_{21}H_{42}O_2$
7	n-heneicosóico	Éster heneicosanóico	31,67	$C_{22}H_{44}O_2$
8	Behênico	Éster docosanóico	32,49	$C_{23}H_{46}O_2$

$t_r$  - Tempo de retenção

Observou-se que o carvão da semente do umbu (UUC) apresentou quase que a mesma composição dos ácidos graxos que o da semente *in natura* (UU), apenas não sendo encontrado o ácido linoléico.

Na tabela 17 é apresentada a composição percentual dos ácidos graxos encontrados nas sementes *in natura* do umbu (UU) e do seu respectivo carvão (UAC), obtida através das áreas dos picos do cromatograma de íons totais dos ésteres equivalentes.

Tabela 17 – Composição percentual dos ácidos graxos presentes nas sementes *in natura* do umbu (UU) e do seu carvão (UUC) em percentagem da área dos picos.

<b>Ácidos graxos</b>		<b>Composição (%)</b>	
<b>Saturados</b>	<b>Símbolo</b>	<b>UU</b>	<b>UUC</b>
Mirístico	C14:0	0,18	0,28
Palmitíco	C16:0	20,23	23,8
Estearico	C18:0	15,52	19,43
n-nonadecílico	C19:0	1,19	5,72
Araquídico	C20:0	1,42	5,31
n-heneicosóico	C21:0	0,33	1,26
Behênico	C22:0	0,14	0,58
<i>Total saturados</i>		<i>39,01</i>	<i>56,38</i>
<b>Insaturados</b>			
Oléico	C18:1 (n-9)	43,25	43,62
Linoléico	C18:2 (n-6)	17,74	-----
<i>Total insaturados</i>		<i>60,99</i>	<i>43,62</i>
<b>Composição total</b>		100	100

Da análise da tabela 17 observa-se que entre os ácidos saturados encontrados nas sementes do umbu, o ácido palmítico é o majoritário, com 20,23%, seguido pelo ácido esteárico, com 15,52%. Entre os insaturados, o oléico é o mais abundante com 43,25% seguido pelo linoléico com 17,74%. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por ALMEIDA et al. (2007) e por BORGES et al. (2007). A presença do ácido linoléico é bastante relevante, pois segundo Mendes et al. (1998) tanto a família n-3 quanto a n-6 dos ácidos graxos insaturados reduzem os níveis de LDL (lipoproteína de baixa densidade), o colesterol ruim. O carvão apresentou resultados semelhantes aos da sua semente *in natura*, sendo que nesta não foi encontrado o ácido linoléico. Os ácidos saturados são majoritários quando se considera a



composição total. No entanto, o ácido insaturado oléico ainda é o mais abundante, permanecendo praticamente estável em sua composição (43,62%).

### ***5.7 Análises dos constituintes das amostras das sementes estudadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)***

Inicialmente foi feita a verificação do perfil espectral de absorção de cada composto padrão no UV, bem como a otimização do comprimento de onda ( $\lambda$ ) para medida por CLAE - UV. As bandas de absorção foram avaliadas individualmente sendo submetidas à varredura em luz ultravioleta na faixa de comprimento de onda entre 200 a 400 nm. As figuras 29, 30 e 31 apresentam respectivamente os espectros em UV dos padrões de ácido gálico, ácido L-ascórbico e cumarina respectivamente. Os dois primeiros da Sigma-Aldrich e a cumarina isolada e identificada neste trabalho.

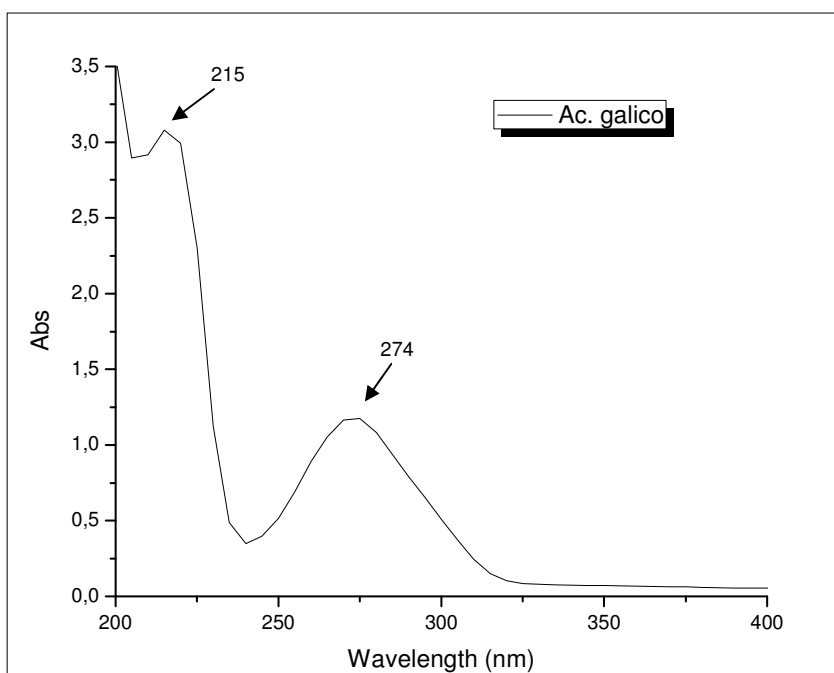


Figura 29 – Espectro no UV do ácido gálico em metanol.

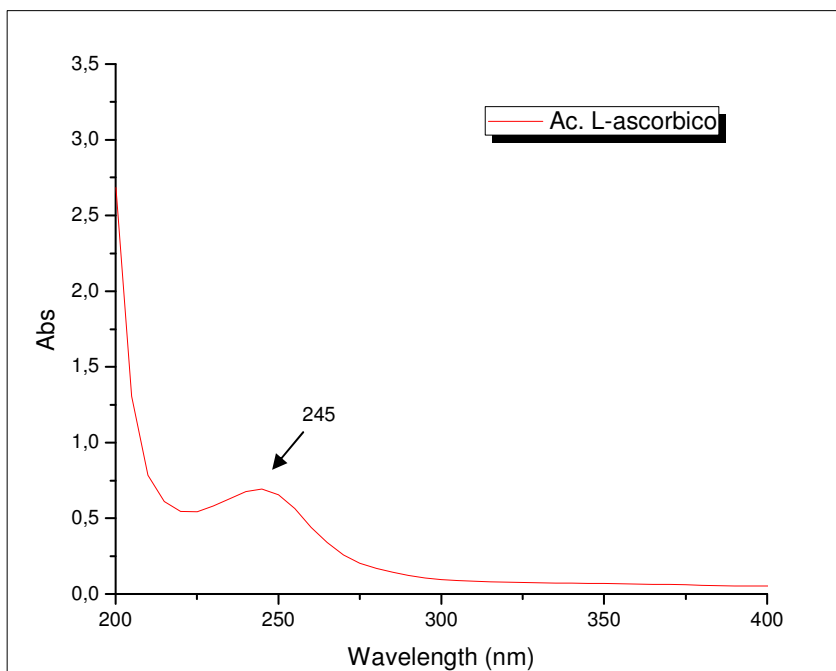


Figura 30 – Espectro no UV do ácido L-ascórbico em metanol.

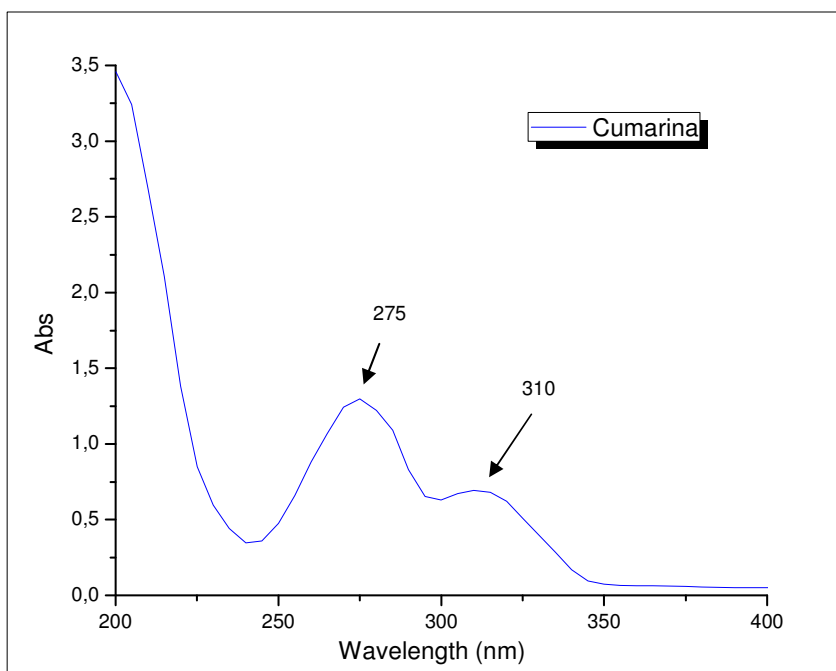


Figura 31 – Espectro no UV da cumarina em metanol.

Em seguida os espectros de varredura de cada composto foram sobrepostos. Foi considerado o melhor comprimento de onda para medida por CLAE - UV aquele onde foi possível monitorar os compostos com intensidade e seletividade adequadas ao mesmo tempo. Na figura 32 é apresentada a sobreposição dos espectros UV dos padrões e a indicação do comprimento de onda que foi considerado o melhor para o monitoramento dos compostos por CLAE - UV.

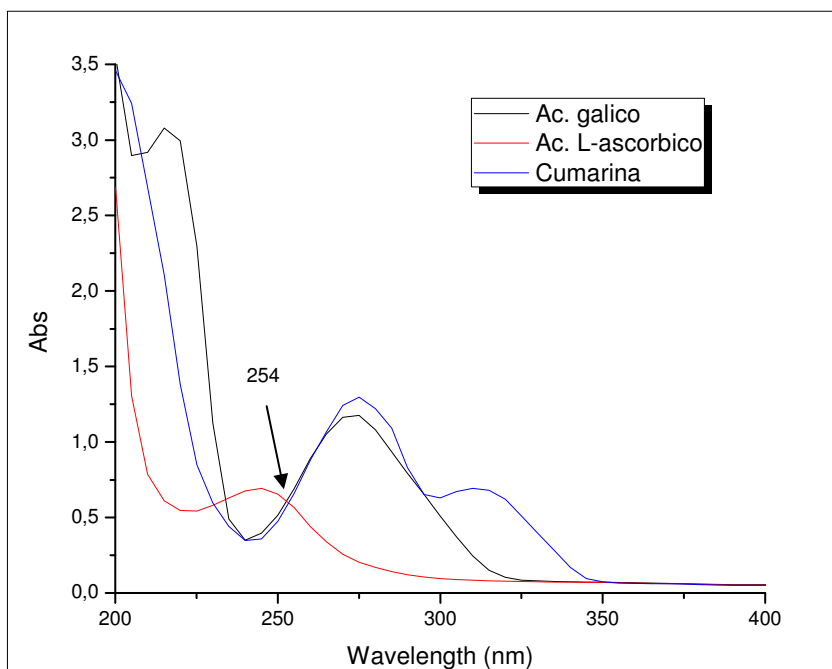


Figura 32 – Sobreposição dos espectros no UV dos padrões de ácido gálico, ácido L-ascórbico e cumarina em metanol.

A Figura 32 mostra que no comprimento de onda de 274 nm o ácido gálico e cumarina têm uma maior absorvância e por consequência uma maior sensibilidade. Já para o ácido L-ascórbico o melhor comprimento de onda é 245 nm. No entanto, a utilização de qualquer um dos dois comprimentos de onda leva a perda de sensibilidade na determinação do outro composto. Então foi preciso encontrar um comprimento de onda que apresentasse boa sensibilidade para todos os compostos. O melhor resultado foi para  $\lambda = 254$  nm que foi o utilizado para o monitoramento dos padrões nas amostras.

Em seguida foram injetados os padrões das substancias estudadas no Cromatografo Líquido de Alta Eficiência (CLAE) nas seguintes condições cromatográficas para eluição isocrática:

Comprimento de onda: 254 nm;

Solvente para eluição: Água / Acetonitrila (80 / 20);

Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>;

Volume de injeção: 20 µL;

Tempo de corrida: 15 minutos.

Esta foi a melhor condição encontrada para o desenvolvimento do método. Na figura 33 observa-se o cromatograma integrado das substancias padrões de ácido L-ascórbico, ácido gálico e cumarina.

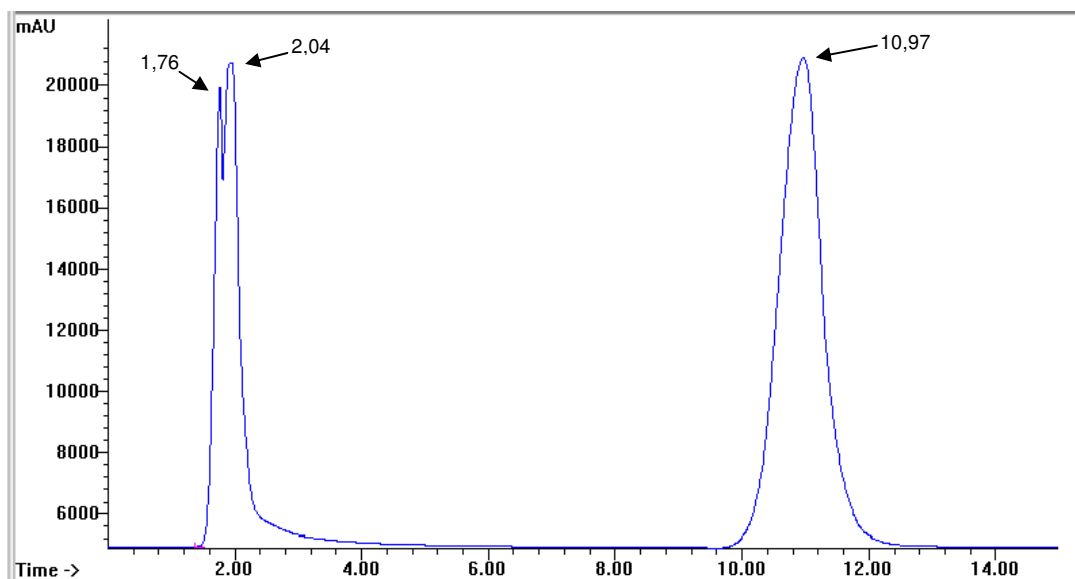


Figura 33 – Cromatograma integrado das substancias padrões de ácido L-ascórbico, ácido gálico e cumarina.

Observa-se que houve uma sobreposição parcial nos sinais dos picos do ácido L-ascórbico ( $t_r = 1,76$  min.) e do ácido gálico ( $t_r = 2,04$  min.). Já em relação à cumarina a resolução foi boa e o tempo de retenção de 10,97 minutos. A tentativa de melhorar a resolução com a variação da velocidade do fluxo, variação da composição dos solventes e à adição de uma pequena quantidade de ácido acético, não apresentaram resultados satisfatórios. Não foi possível fazer uma análise utilizando gradiente de eluição por problemas ocorridos com o cromatografo. Optou-se então

por fazer corridas individuais com os padrões do ácido L-ascórbico e do ácido gálico, com as mesmas condições que na corrida integrada, para que fosse possível observar melhor o perfil destes dois compostos.

Os cromatogramas individuais dos padrões do ácido L-ascorbico e ácido gálico são apresentados nas figuras 34 e 35 respectivamente.

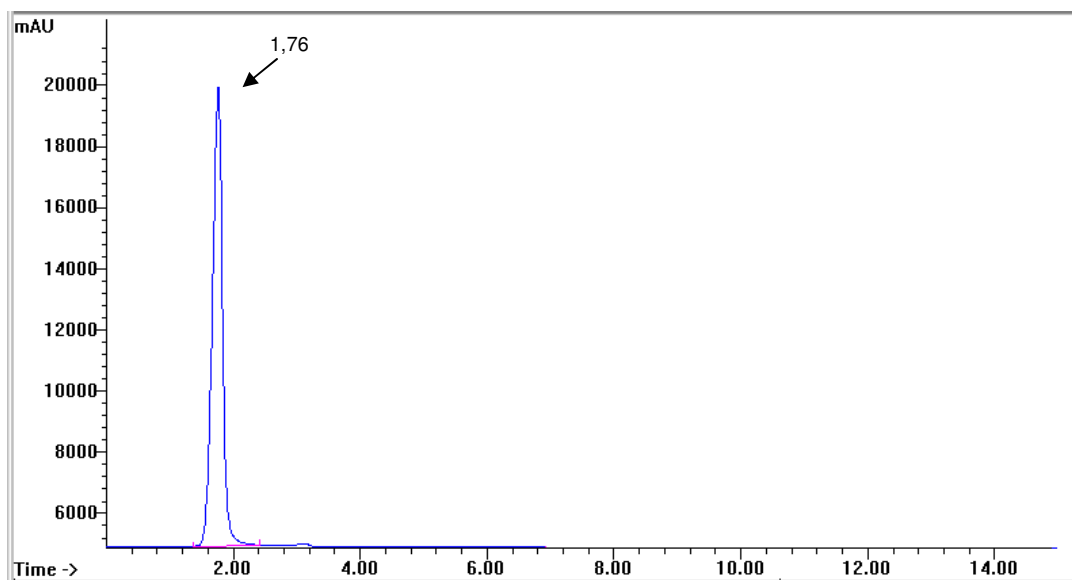


Figura 34 – Cromatograma do padrão do Ácido L-ascórbico.

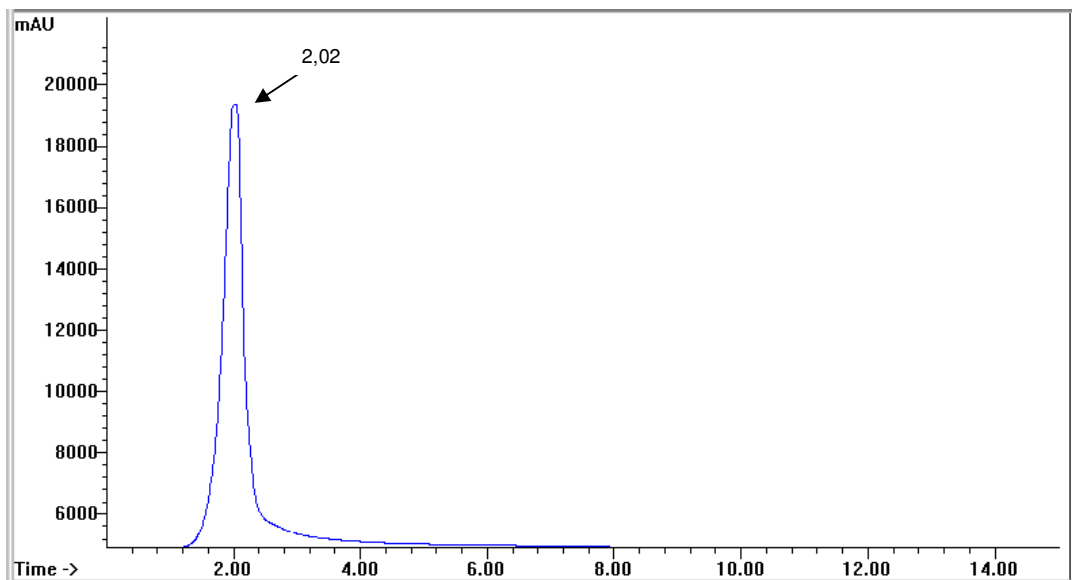


Figura 35 – Cromatograma do padrão do Ácido gálico.

Da análise dos cromatogramas individuais dos padrões de ácido L-ascórbico e do ácido gálico observa-se que não houve variação significativa nos tempos de retenção dos mesmos: o ácido L-ascórbico permaneceu com o mesmo tempo de retenção,  $t_r = 1,76$  min e o ácido gálico variou de 2,04 para 2,02 min.

Utilizando as mesmas condições cromatográficas que aquelas obtidas da análise das substâncias padrões, foram injetados os extratos DCM, acetato de etila e etanólico das sementes *in natura* da umburana e do umbu e de seus respectivos carvões obtendo-se assim os respectivos perfis cromatográficos. Os cromatogramas dos extratos de cada amostra podem ser observados nas figuras 36, 37, 38 e 39.

Após as análises dos cromatogramas, verificou-se através da coincidência dos picos que na semente *in natura* da umburana o ácido L-ascórbico e a cumarina estão presentes nos extratos DCM e acetato de etila e o ácido gálico está presente no extrato etanólico. O seu carvão apresentou o mesmo perfil, com exceção da cumarina que também está presente no extrato etanólico. Na semente *in natura* do umbu observou-se a presença do ácido L-ascórbico nos extratos DCM e acetato de etila. O ácido gálico está presente em todos os extratos e a cumarina apenas no extrato DCM. Já no seu respectivo carvão só foi observado o ácido L-ascórbico em todos os extratos.

A presença da cumarina nas sementes *in natura* da umburana já era esperada, pois o padrão utilizado foi isolado da própria semente. Além disso, ROSSI (2008) já relatou a presença da mesma nas sementes da umburana. Devido à facilidade de obtenção da cumarina a partir da semente moída da umburana, apesar de considerada como uma substância tóxica para utilização em alimentos, sua utilização após extração poderá ser viável em indústrias de produtos de limpeza e cosméticos (Simões et al., 2002) ou como material de partida para síntese de fármacos. O resultado positivo encontrado na semente *in natura* do umbu foi confirmado pela adição de padrão de cumarina no extrato DCM, onde se observou o aumento da área do pico sem o aparecimento de novos sinais, o que pode ser visto no cromatograma da figura 40, comparado ao cromatograma da figura 38 (a).

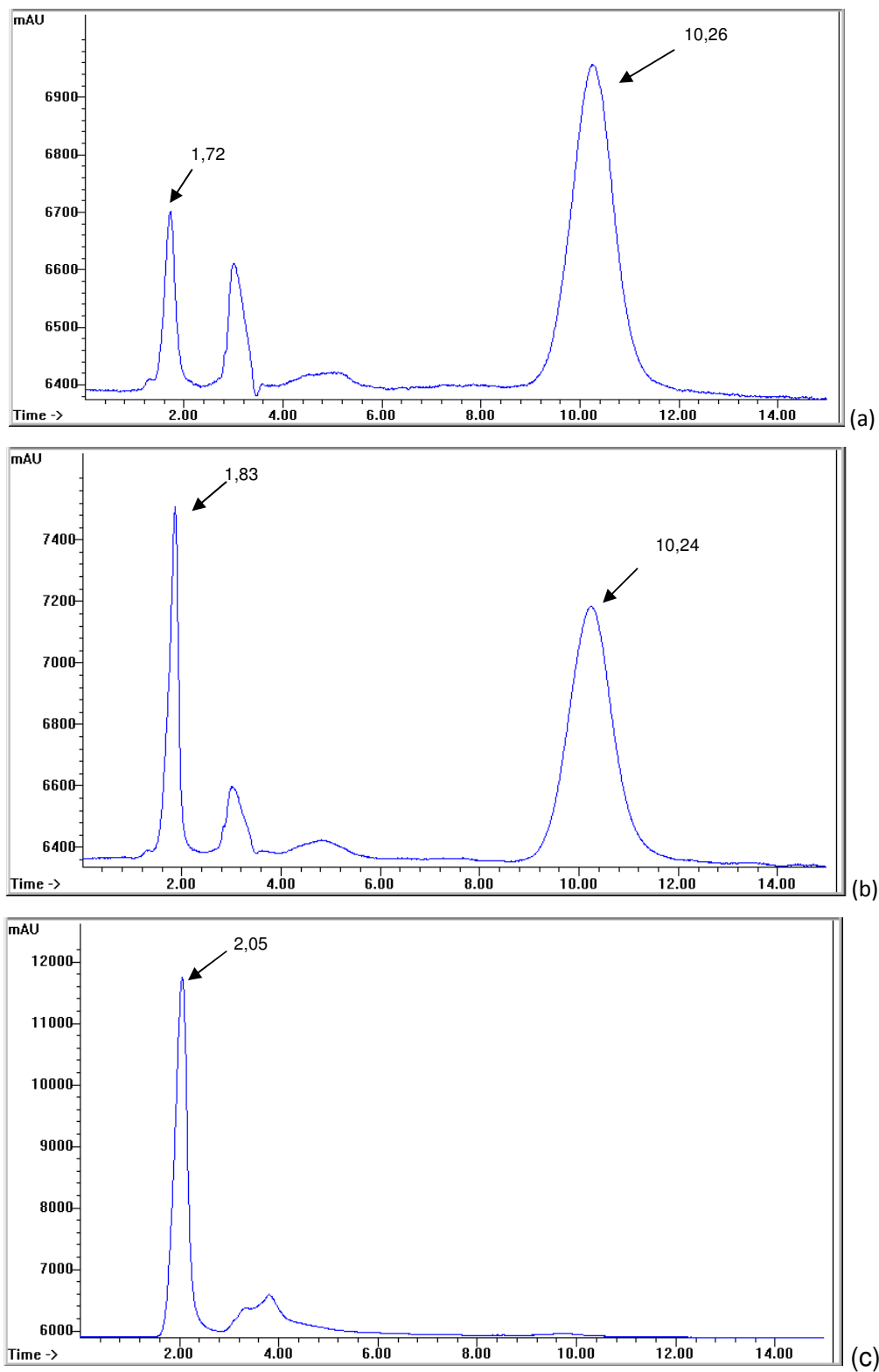


Figura 36 – Cromatogramas dos extratos da semente *in natura* da umburana (a) em DCM, (b) em acetato de etila e (c) em etanol.

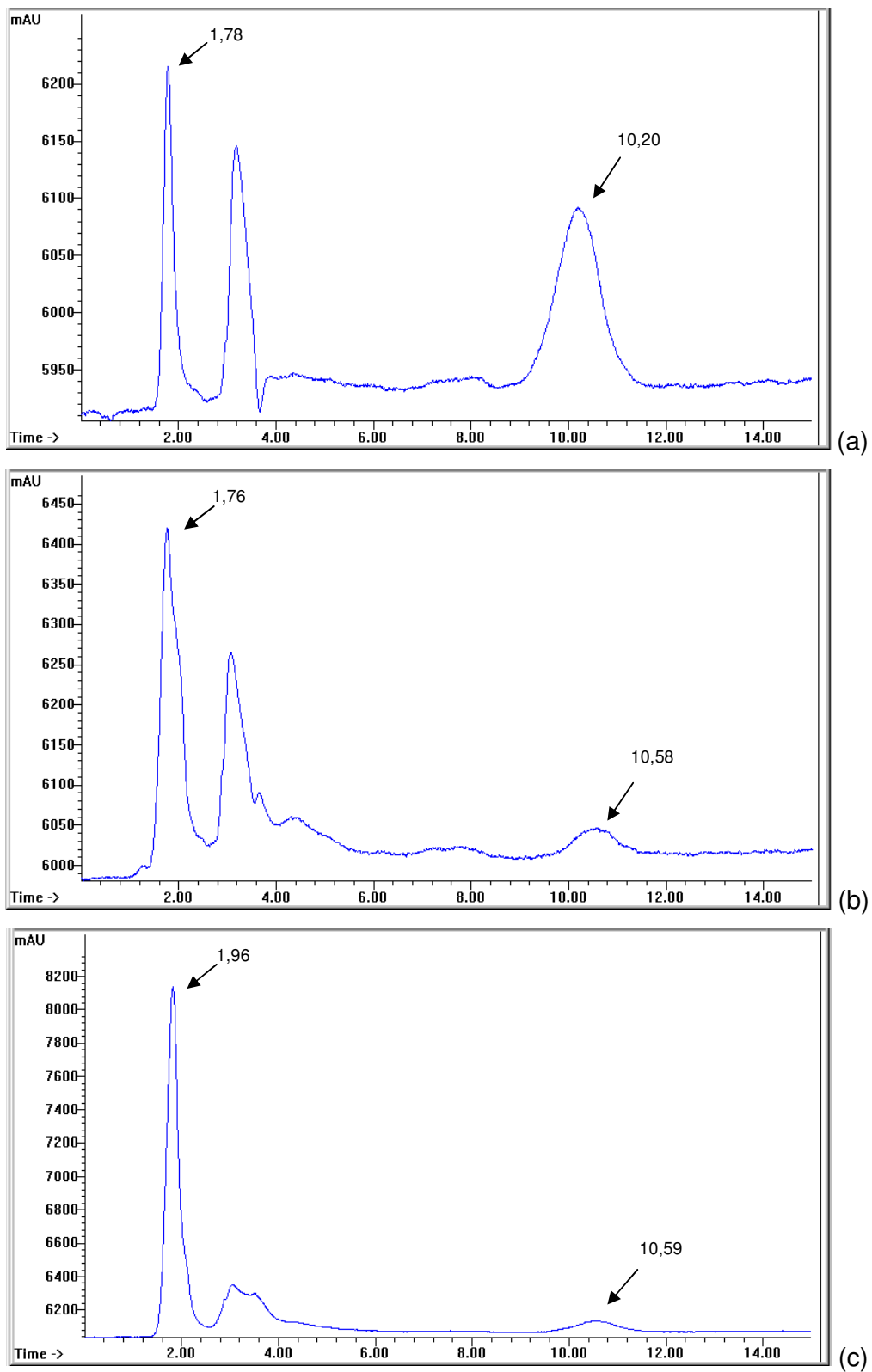


Figura 37 – Cromatogramas dos extratos do carvão da semente da umburana (a) em DCM, (B) em acetato de etila e (c) em etanol.



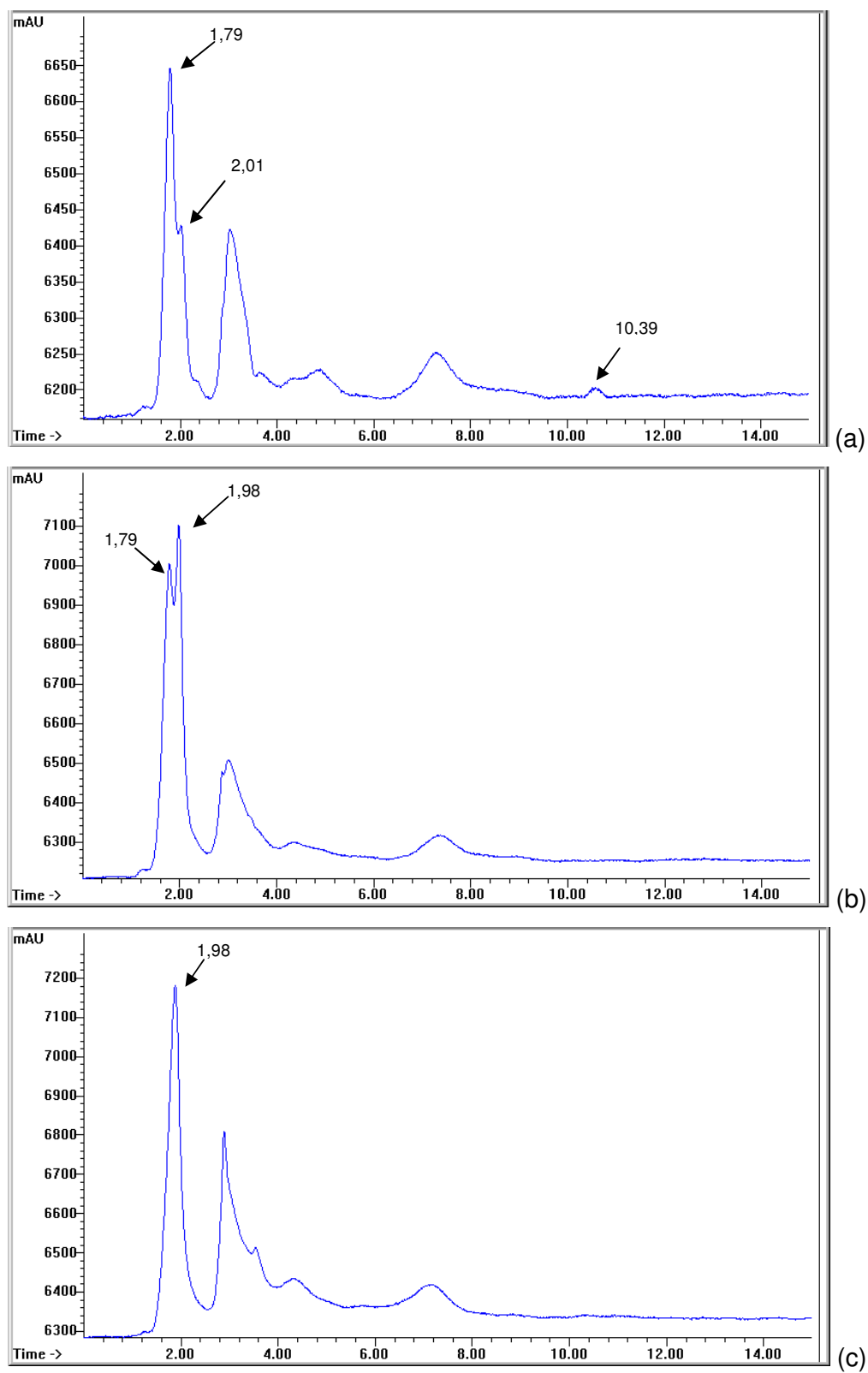


Figura 38 – Cromatogramas dos extratos da semente *in natura* do umbu (a) em DCM, (b) em acetato de etila e (c) em etanol.

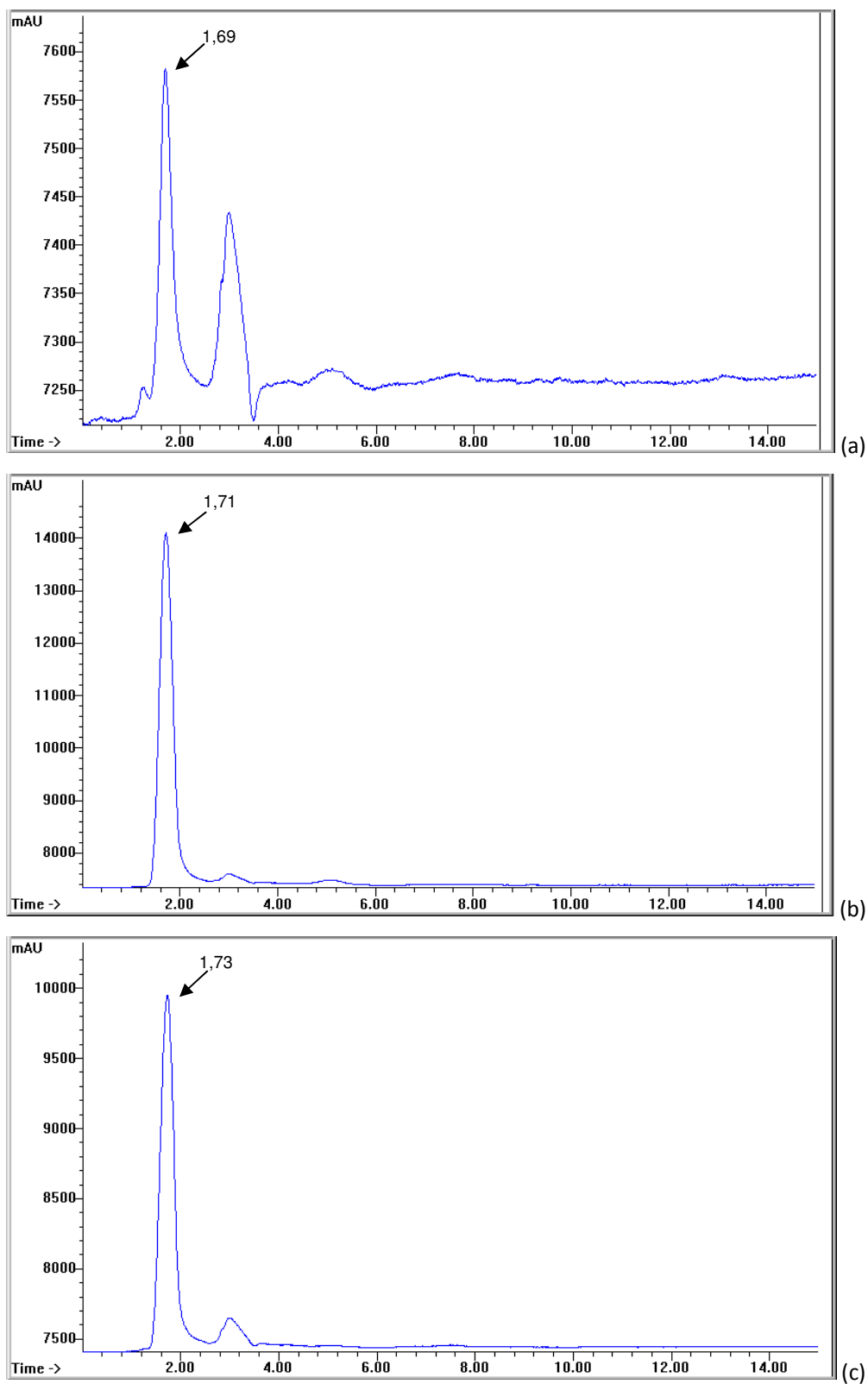


Figura 39 – Cromatogramas dos extratos do carvão da semente do umbu (a) em DCM, (b) em acetato de etila e (c) em etanol.

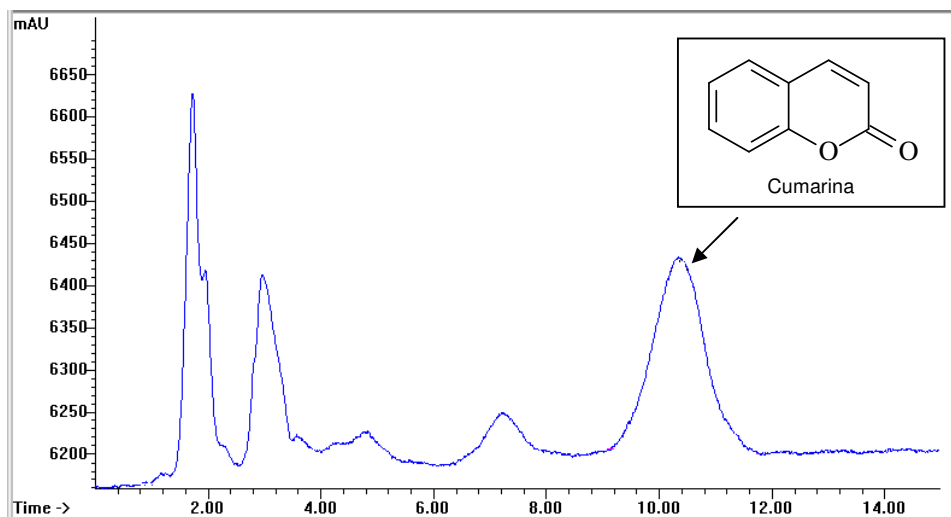


Figura 40 - Cromatograma do extrato DCM da semente do umbu *in natura* com adição do padrão de cumarina.

Comparando-se esses resultados com os encontrados nos testes químicos observa-se concordância para a cumarina em todas as análises, apresentando resultados positivos para a semente *in natura* da umburana, seu respectivo carvão e para a semente *in natura* do umbu, não tendo o seu carvão apresentado resultado positivo. O mesmo comportamento também foi visto para o ácido gálico quando comparado aos resultados encontrados nos testes para taninos, positivos para a semente *in natura* da umburana, seu respectivo carvão e a semente *in natura* do umbu. Já o seu carvão, não apresentou resultados positivos. Esta relação pode ser feita uma vez que o ácido gálico pode ser encontrado na forma livre e também como parte de taninos. Para a comprovação da presença de ácido gálico nesses materiais, foi adicionado padrão aos extratos etanólicos da semente *in natura* da umburana, no do seu respectivo carvão e no extrato da semente *in natura* do umbu, os quais foram os três extratos que apresentaram cromatogramas com picos em tempos de retenção semelhantes ao do padrão. Estes cromatogramas podem ser vistos na figura 41 a, b e c e podem ser comparados com os cromatogramas das figuras 36 c, 37 c e 38 c, respectivamente.

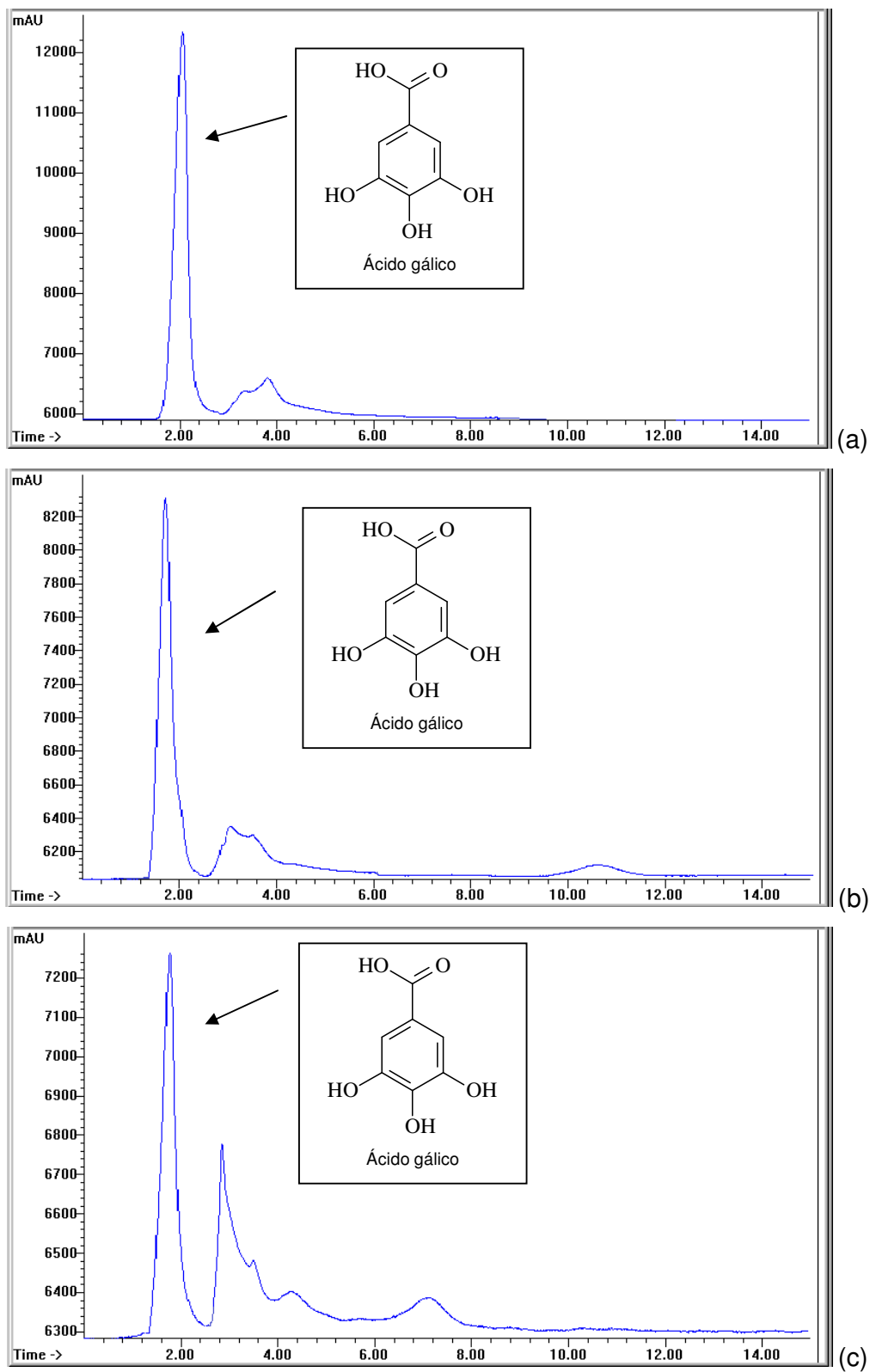


Figura 41 – Cromatogramas dos extratos etanólicos (a) semente *in natura* da umburana (b) carvão da semente da umburana e (c) semente *in natura* do umbu.

A presença do ácido L-ascórbico nas amostras dos carvões das duas sementes não era esperada, pois este ácido possui ponto de fusão na faixa de temperatura entre 190 e 192 °C, abaixo da temperatura usada para a obtenção dos carvões (250 ° C). Na tentativa de confirmar que o referido ácido, foi feito o monitoramento do mesmo em comprimento de onda de 245 nm, escolhido como mais adequado para o ácido L-ascórbico e em seguida foi feita a adição de padrão nos extratos. As análises foram feitas no extrato acetato de étila, já que neste foram observados resultados positivos preliminares em todas as amostras (*in natura* e como carvões). Foi usada a velocidade do fluxo mais baixa, de 0,8 mL min<sup>-1</sup>, na tentativa de uma melhor resolução cromatográfica. As figuras 42, 43 e 44 apresentam cromatogramas do padrão do ácido L-ascórbico, dos extratos das amostras e dos extratos com adição de padrão.

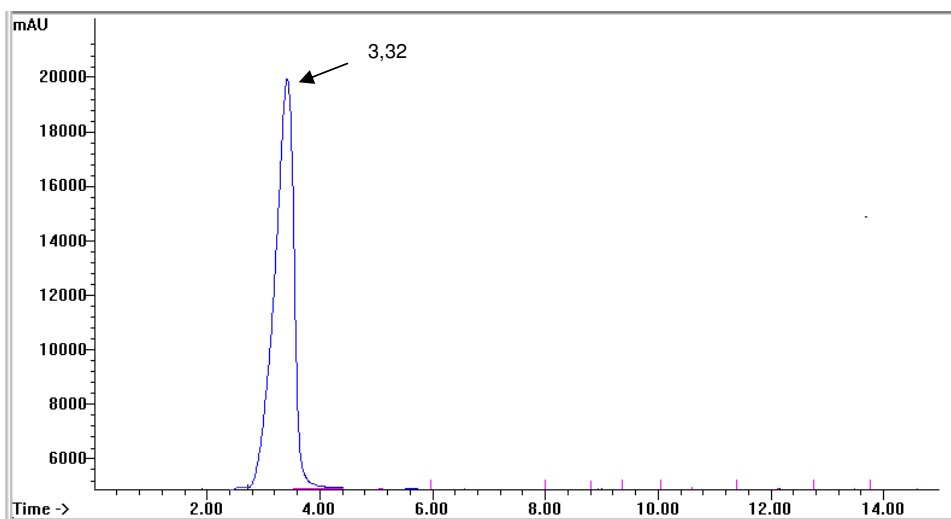


Figura 42 – Cromatograma do padrão do Ácido L-ascórbico.

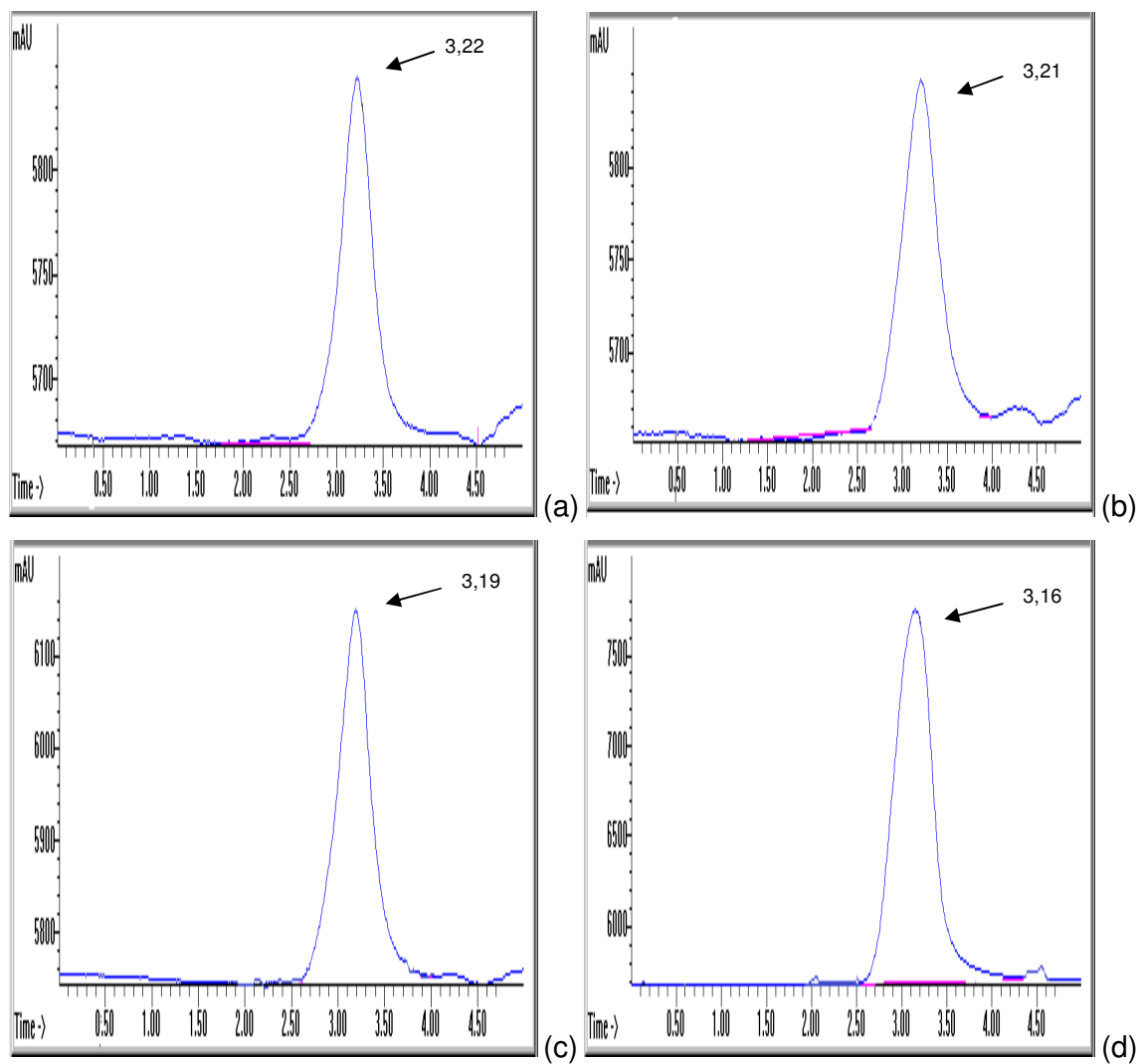


Figura 43 – Cromatogramas dos extratos em acetato de etila: (a) semente moída *in natura* da umburana, (b) carvão da semente moída da umburana, (c) semente moída *in natura* do umbu e (d) carvão da semente moída do umbu.

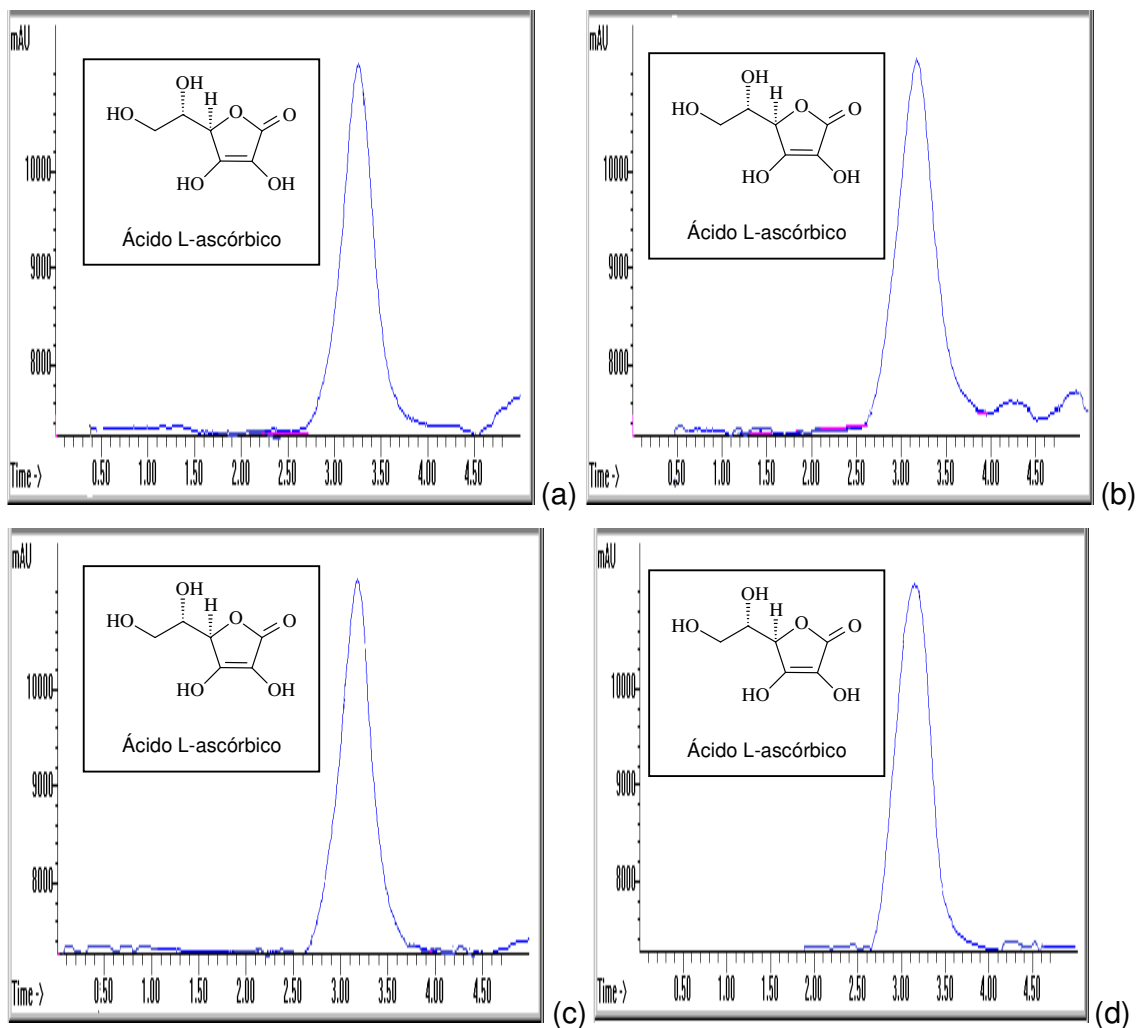


Figura 44 – Cromatogramas dos extratos em acetato de etila com adição de padrão: (a) semente moída *in natura* da umburana, (b) carvão da semente moída da umburana, (c) semente moída *in natura* do umbu e (d) carvão da semente moída do umbu.

Da observação da nova análise para a determinação do ácido L-ascórbico verificou-se a similaridade no tempo de retenção dos extratos quando comparados ao tempo de retenção do padrão. Após a adição de padrão aos extratos observou-se que a área dos picos correspondentes aumentou sem o aparecimento de novos picos no cromatograma comprovando assim a presença do ácido L-ascórbico nas amostras analisadas.

## 6. CONCLUSÃO

O rendimento médio percentual na obtenção do carvão da semente moída da umburana, *Amburana cearensis* A. C. Smith, foi maior que o obtido com a semente moída do umbu, *Spondias tuberosa* Arruda, correspondendo respectivamente a  $66,7 \pm 1,9\%$  e  $41,9 \pm 2,7\%$ .

### **Sobre o estudo da semente da umburana:**

Na semente *in natura* da umburana foram detectados os seguintes metabólitos secundários: taninos, alcalóides, cumarinas, flavonóides, triterpenos e esteróides e o seu carvão ainda apresentou taninos, alcalóides e cumarinas. A presença de alcalóides neste carvão não é um bom indicativo na sua utilização no dispositivo dessalinizador, devido à conhecida toxicidade dessas substâncias. Ainda foram encontrados nesta semente *in natura* 10 ácidos graxos, incluindo oito saturados: palmitíco, margárico, oléico, esteárico, n-nonadecílico, araquídico, n-heneicosóico e lignocérico; um insaturado: o ácido oléico, que é o majoritário (61,73%) e outro que não foi possível identificar. O carvão desta semente apresentou os mesmos ácidos graxos, além do ácido mirístico.

Foi confirmado através de testes de solubilidade, ponto de fusão, infravermelho (IR) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) que o sólido encontrado cristalizado na semente moída da umburana é a cumarina.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) dos extratos também confirmou a presença da cumarina e revelou pela primeira vez à presença de ácido L-ascórbico e ácido gálico tanto na semente *in natura* como no carvão da umburana.

Os resultados deste estudo fitoquímico sinalizam este material biológico como não adequado para uso no dispositivo dessalinizador, devido também à presença de cumarina, em função da sua toxicidade e solubilidade parcial em água. No entanto, devido à facilidade de obtenção da cumarina a partir da semente moída da umburana, apesar de considerada como uma substância tóxica para utilização em alimentos, sua utilização após extração poderá ser viável em indústrias de produtos



de limpeza e cosméticos ou como material de partida para síntese de fármacos, entre outros.

### **Sobre o estudo da semente do umbu:**

A semente *in natura* do umbu apresentou sete ácidos graxos saturados: mirístico, palmitico, esteárico, n-nonadecílico, araquídico, n-heneicosóico e behênico e dois ácidos insaturados: oléico (majoritário, com 43,25%) e linoléico. Já o seu respectivo carvão, apresentou a mesma composição dos ácidos graxos saturados que a sua semente *in natura*, mas apenas um insaturado, o oléico. Estas sementes, ricas em ácidos graxos, poderão ser mais bem aproveitadas, principalmente pela presença do ácido linoléico, que é considerado benéfico à saúde.

Na semente *in natura* do umbu ainda foram detectados taninos, ácidos orgânicos, cumarinas, flavonóides e esteróides. Já no seu carvão não foi encontrado nenhum dos metabólitos testados e este resultado é promissor para a sua utilização no dispositivo dessalinizador.

Usando CLAE, também foram encontrados cumarina, ácido L-ascórbico e ácido gálico nos extratos da semente *in natura* do umbu, sendo este o primeiro relato destas substâncias presentes nesta semente. No seu carvão foi observado apenas ácido L-ascórbico, o que reforça sua indicação como material bastante promissor para ser usado no dispositivo dessalinizador, visto que o ácido L-ascórbico, substância solúvel em água, além de evitar doenças como o escorbuto, é extremamente importante no combate dos radicais livres oriundos de processos oxidativos.

## 7. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Estudo de outros materiais para utilização no dispositivo dessalinizador;
- Aplicar o dispositivo caseiro para dessalinização de água salobra em comunidades carentes de água doce no Semi-Árido baiano;
- Divulgação do dispositivo caseiro de dessalinização na região Semi-Árida baiana e outras regiões afins carentes de água de boa qualidade para beber;
- Investigação do(s) principal (is) componente(s) responsável (is) pela adsorção de sal na semente do umbu;
- Estudo do reuso do material dessalinizador em alimentação de animais da região do Semi Árida baiano.

## REFERENCIAS

- AGRA, M. F.; BARBOSA FILHO, J. M.; **Revista Brasileira de Farmácia**; p. 71 - 75, 1990.
- ALMEIDA, M. M. B.; TAVARES, L. C.; SOUZA, J. S. N.; LOPES, M. F. G.; LEMOS, T. L. G.; **Composição de ácidos graxos em frutas tropicais (polpa e semente) do estado do ceará**. In: XLVII Congresso Brasileiro de Química - Associação Brasileira de Química. Natal, Rio Grande do Norte (ABQ-RN). 2007.
- ALVARES, A. A. A.; **Influência da adição de extrato de *Yucca schidigera* nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de cães adultos consumindo duas rações comerciais**. 47f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2006.
- AMORIM, M. C. C., PORTO, E. R.; SILVA JÚNIOR, I. G. A.; **Evaporação solar como alternativa de rejeitos dos efluentes da dessalinização por osmose Inversa**. Disponível em: <http://www.cepis.org.pe/bvsaidislaresidual-007.pdf> . Acesso em: 17 agosto 2008.
- ARAÚJO, F. P.; NETO, M. T. C.; **Influência de fatores fisiológicos de plantas-matrizes e de épocas do ano no pegamento de diferentes métodos de enxertia do umbuzeiro**. Revista Brasileira de Fruticultura 24(3): 752 - 755. 2002.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR., L. V.; **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6ª ed. São Paulo: Premier, 2000. p. 516-518.
- Associação dos Geógrafos Brasileiros. **Embrapa utiliza rejeito dessalinizadores para criar peixes e caprinos**. Disponível em: <http://geocities.yahoo.com.br/agbcg/dessali.htm>. Acesso em: 10 Jul 2004.
- BANSKALIEVA, V.; SAHLU, T.; GOETSCH, A. L.; **Fatty acid composition of goat muscles and fat depots: a review**. Small Ruminant Research, v.37, p.255 - 268, 2000.
- BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. de C.; PINTO, L. do N.; de OLIVEIRA, F. Q.; de OLIVEIRA, R. M.; **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais** (Edição revisada) Revista Científica da UFPA Vol. 4, Belém- Pará, 2004.

- BACA, S. F.; VALENAS, A.; NOVOA, C.; OCHOA, J.; CUEVA, S.; **Estúdio experimental de la coquera em caprinos**; Rev. Fac. Med. Vet. Nac., v. 18-20, p. 131 - 159, 1967.
- BANDEIRA, K. F.; **Otimização e comparação de metodologias de extração de casearinas em Casearia sylvestris**. 2004. p.11-16. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, UNESP, Araraquara (SP), 2004.
- BEART, J. E.; TILLEY, T. H.; HASLAM, E.; **Plant Polyphenols secondary metabolism and chemical defense: some observations**. Phytochemistry, v. 24, p. 33-38, 1985.
- BORGES, S. V.; MAIA, M. C. A.; GOMES, R. de C. M.; CAVALCANTE N. B.; **Chemical composition of umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam) seeds**. Química Nova, Vol. 30, nº 1, 49-52, 2007.
- BRUNETON, J.; **Elementos de fitoquímica e farmacognosia**. Zaragoza, Espanha: Ed. Acribia, p.107-353, 1991.
- BUROS, O. K.; **Dessalting ABCs International Desaliratori Association Topsteld**,. Massachusetts USA. 1990. Campina Grande, PB, v 9. ri 4, p 596-602, 2005.
- CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R.; **Constituintes químicos da casca do caule de *Amburana cearensis* A.C. Smith**; Quim Nova, Vol. 29. No. 6, 12411743, 2006.
- CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BORDINGNON, J. R.; **Activity of beta-glucosidase and levels of isoflavone glucosides in soybean cultivars affected by the environment**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35. p. 873 - 876, 2000.
- CARVALHO, P. E. R.; **Espécies Florestais Brasileiras. Recomendações Silviculturais, Potencialidades e Uso da Madeira**, EMBRAPA: Brasília, 1994.
- CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Relatório Final do Projeto: **Gerenciamento de Recursos Hídricos do Semi Árido do Estado da Bahia**. Sub Projeto: Enquadramento de Rios Intermitentes Estudo de Caso Rio Salitre. Universidade Federal da Bahia (UFBA)/ Departamento de Engenharia Ambiental da Escola Politécnica / Grupo de Recursos Hídricos (GRH). Salvador, Abril /2004.
- COHEN, A. J.; **Critical review of the toxicology of coumarin with special reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their signicance to man**. Food and Chemical Toxicology, vol. 17, p. 277 - 289, 1979.

- CORREA, M. P.; **“Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas”**, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brazil, vol. 5, pág.320. 1984
- COSTA, A. F.; **Farmacognosia**. 5ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 3. 1994.
- CRAVO, J. G.; CARDOSO, H. E.; **Dessalinização de águas conceitos e aplicações no Brasil**. A Água em Revista, CPRM/Belo Horizonte (MG). v 7, nº 11. p. 4-20, 1999.
- DÄR, A. **Tecnologia Farmacêutica**. Zaragoza: Acribia, 1981. p.141-142, 144-152, 366.
- DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F.; **Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs**. Life Science, Tucson, v. 65, nº 4, p. 337-353, 1999.
- DINIZ, A.; **Roteiro para Execução das Aulas Práticas de Farmacognosia**, Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Disciplina de Farmacognosia, Londrina, março de 2008.
- DRUMOND, M. A.; KIILL, L. H. P.; LIMA, P. S. E.; **Estratégias para o uso Sustentável da Biodiversidade da Caatinga**. In: Workshop Avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do Broma Caatinga. Petrolina, 2000. Disponível em: <<http://www.biodiversilas.org.br>>. Acesso em: 01 nov 2008.
- FERNÁNDEZ , M.; ORDÓÑEZ, J. A.; CAMBERO, I.; SANTOS, C.; PIN, C.; **Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications**. Food Chemistry, 101: 107–112. 2007.
- FIGUEIREDO, L. J. C.; FERREIRA, M. M. ANTAS, I.; TÁVORA, J. P. F.; SIMOES, S. D.; **Estudos clínicos e anátomo patológico da doença cara torta em bovinos no nordeste brasileiro**, Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, v.18, nº 1, p.174-183. 1996.
- FRINHANI, E. de M. D.; **Separação de Misturas I - Química Analítica Qualitativa**, Universidade do Contestado, Concórdia - Santa Catarina, 2005.
- GIESE, J.; **Fats, Oils and Fat Replacers**. Food Technology - Especial Repot, 1996.
- HARBORNE, S. B.; BAXTER, H.; **Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants**. Taylor and Francis, London, 1995.
- HEMINGWAY, R. W.; **Chemistry and significance of condensed tannins**, New York: Plenum press, p. 553, 1989.

HENRIQUES, A. T.; LIMBERGER, R. P.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H.; **Alcalóides: generalidades e aspectos básicos.** In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; Farmacognosia da planta ao medicamento, 5° ed., Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 1102, 2004.

HOULT, J. R. S.; PAYÁ, M.; **Pharmacological and Biochemical Actions of Simple Coumarins: Natural Products with Therapeutic Potential.** General Pharmacology, v. 27, n. 4, p. 713-722, 1996.

IUPAC; **Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives;** Blackwell Scientific Publications, 7<sup>th</sup> ed., 1987, IUPAC Method 2.301, Report of IUPAC Working Group WG 2/87.

IUPAC-UB, Commission on Biochemical Nomenclature **The Nomenclature of Lipids,** Biochem. J. 171, 21-35, Printed in Great Britain, (1978).

KITTS, D. D.; **An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins.** *Trends in Food Science and Technology,* Cambridge, v. 8, n. 6, p. 198-203, 1997.

LEAL, L. K. A. M.; **Estudos farmacológicos do extrato hidroalcoólico e constituintes químicos de *Torresea cearensis* Fr. Allem;** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceara, Brasil. 1995.

LEAL, L. K. A. M.; MATOS, M. E.; MATOS, F. J. A.; RIBEIRO, R. A.; FERREIRA, F. V.; VIANA, G. S. B.; **Antinociceptive and antiedematogenic effects of the hydroalcoholic extract and coumarin from *Torresea cearensis* Fr. All;** *Phytomedicine,* 4, 221, 1997.

LEAL, L. K. A. M.; NECHIO, M.; SILVEIRA, E. R.; CANUTO, K. M.; FONTENELE, J. B.; RIBEIRO, R. A.; VIANA, G. S. B.; **Anti-inflammatory and Smooth Muscle relaxant activities of the hydroalcoholic extract and chemical constituents from *Amburana cearensis* A. C. Smith;** *Phytother Res.* 11, 335, 2003.

LI, J.; MAPLESDEN, F.; **Commercial production of tannins from radiata pine bark for wood adhesives.** *IPENZ Transactions,* v.25, nº1, p.46-52, 1998.

LIMA, M. F. M.; Desidratação de polpa de umbu em leite de jorro: estudos fluidodinâmicos e térmicos. Tese de doutorado. UFPB. 118p. 1992.

LORENZI, H; 1992. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Ed. Plantarum, p. 26.

MAIA, G. N.; **Caatinga: Arvores e Arbustos e Suas Utilidades;** O & 7 Ed. São Paulo, 2004.

- MADHAN, B.; SUBRAMANIAN, V.; RAGHAVA RAO, J.; BALACHANDRAN, U. N.; RAMASAMI, T.; **Stabilization of collagen using plant polyphenol: role of catechin**. Int. J. Biol. Macromol., v.37, n.1-2, p.47-53, 2005.
- MARTINS, E. R. et al.; **Plantas medicinais**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1995.
- MATOS, F. J. de; **Introdução à fitoquímica experimental**. 3ª edição, Fortaleza: Edições UFC, 2009.
- MENDES, A. C. R., ALBINO, E., DAVID, P. R. B. S., NETO, A. C.; **Ácidos graxos transisômeros: uma revisão sobre alguns aspectos tecnológicos da hidrogenação e gorduras vegetais e suas implicações nutricionais**. Hig. Alim. v. 12, nº 57, p.11-17, 1998.
- MENDES, B. V.; **Umbuzeiro (Spondias tuberosa Arr. Cam.): importante fruteira do semi-árido**. Mossoró: ESAM, p. 67 (Coleção Mosoroense, v. DLXIV), 1990.
- MENDES, F. M.; COELHO, N. M. M.; **Estudo do Uso da Moringa Oleifera Para Remoção de Prata e Manganês em Águas**. Horizonte Científico, v. 1, p 1-18, 2007.
- MENEZES, J. S.; **Desenvolvimento de dispositivo caseiro para dessalinização de água salobra para dessedentação humana**; Dissertação de Mestrado em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2009.
- MENEZES, J. S.; COSTA, T. A. de C.; CAMPOS, V. P.; **Avaliação da capacidade de sorção de sais de água salobra por sementes típicas da região semi-árida**. Apresentado no XIV ENQA, João Pessoa, Outubro, 2007.
- METCHE, M.; **Tanins, nature et propriétés**, Groupe Polyphénols. Nancy. v. 10, p. 11-32, 1980.
- MMA - Ministério do Meio Ambiente; Relatório Final do Projeto: **Monitoramento da Qualidade da Água Para o Desenvolvimento Sustentável ao Semi-Árido**. Universidade Federal da Bahia (UFBA) Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola Politécnica / Grupo de Recursos Hídricos (GRH). Salvador, Julho/2001.
- MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L. V. et al.; **Introdução à Ciência de Alimentos**. Florianópolis: UFSC, p. 255, 2002.
- NASCIMENTO, D. A. do; **Potencialidade Hídrica das Águas Subterrâneas da Região Setentrional do Nordeste do Brasil e a Transposição do Rio São Francisco**. ASSIBGE - Sindicato Nacional/Núcleo DIGEO-BA, Salvador, 23/01/2009

- NASCIMENTO, E. A.; MORAIS, S. A. L.; **Polifenóis da madeira de *Eucalyptus grandis***. Parte 1: análise por espectroscopia e cromatografia líquida. *Ciência & Engenharia*, v.5, nº 2, p.13 - 18, 1996.
- NEVES, O. S. C.; CARVALHO, J. G. de; RODRIGUES, C. R.; **Crescimento e Nutrição Mineral de Mudanças de Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) Submetidas a Níveis de Salinidade em Solução Nutritiva**. *Ciências Agrotécnicas* 28(5): 997-1006. 2004.
- OTERO, M. J.; HIDALGO L. G.; **Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales (una revisión)**. *Livestock Research for Rural Development*, v.16, nº 2, p.1 - 9, 2004.
- PAIS, M. P.; **Valor Nutritivo e Investimento em Defesas em folhas de *Didymopanax vinosum* E. March e sua Relação com a herbivoria em três fisionomias de Cerrado**. 106p. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 1998.
- PARK, K. J.; ANTONIO, G. C.; **Análises de Materiais Biológicos**, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, 2º semestre/2006.
- PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; MASCARENHAS, H. A. A.; SCAMPARINI, A. R. P.; **Survey of isoflavone contents in Brazilian soybean**. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, Vigo, n. 3, n. 3, p. 156-160, 2001.
- PENA, R. L. M.; LEITÃO, A. de A.; COSTA, M. do S.; O. COURAS, C. R. O.; BARBOSA FILHO, J. M.; TAKEMURA, O. S.; **Aspectos Fitoquímicos e Farmacológicos de Espécies Nordestinas do gênero *Spondias-anacardiaceae***. Disponível em:  
[http://www.prrg.ufpb.br/prpg/cgpq/enic/arquivos/anais/EnicVII\\_1999/vida/anv13.html](http://www.prrg.ufpb.br/prpg/cgpq/enic/arquivos/anais/EnicVII_1999/vida/anv13.html)  
- Acesso em: 02 abril 2008.
- PERES, Lázaro E. P.; **Metabolismo secundário**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP – São Paulo, 2004.
- PETERSON, J.; DWYER, J.; **Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity**. *Nutrition Research*, West Lafayette, v. 18, nº 12, p. 1995-2018, 1998.
- PIETTA, P. G.; **Flavonoids as antioxidants**. *Journal of Natural Products*, Columbus, v. 63, nº7, p. 1035 - 1042, 2000.



- PIO-CORRÊA, M.; **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**, Ministério da Agricultura. Brasília. 1984.
- PIZZI, A.; **Tannin-Based adhesives**. In: PIZZI, A. (Ed) wood adhesives: Chemistry and technology, New York, Marcel Dekker, p. 177-246. 1993.
- PORTO, E. R.; AMORIM, M. C. C. de; SILVA JÚNIOR, L. G. A.; **Uso do rejeito da dessalinização de água salobra para irrigação da erva-sal (*Atriplex nummularia*)**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande v.5, n. 1 p. 111-114, 2001.
- PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R.; **Tecnologia farmacêutica**. 4ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996. v.1, p.1113-1115, 1127.
- QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; **Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*)**. Revista Árvore, v.26, n.4, p.485-492, 2002.
- ROSSI, T.; **Identificação de espécies florestais**; Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais. julho de 2008. Disponível em:  
<http://www.ipef.br/identificacao/amburana.cearensis.asp> - Acesso em 08 maio 2009.
- Sabesp - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. **Água do mar e água salobra são alternativas para a escassez da água em algumas regiões**, 2006. Disponível em:  
<<http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=sabesp&pub=T&db=&docid=FA6CEC90E39669E5832571C600637D19>>. Acesso em: 10 out. 2008.
- SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P.; **Taninos**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Porto Alegre: UFSC, p. 615 - 656. 2003.
- SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; ATHAYDE, M. L.; **Saponinas** In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis, Editora da UFSC, p. 711-740. 2007.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/UFRGS / UFSC, 2002.

- SOARES, T. M.; SILVA, I. J. O.; DUARTE, S. N.; SILVA, E. F. E.; **Destinação de águas residuária provenientes do processo de dessalinização por osmose reversa**. Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental. v 10. nº 3. p 730 - 737, 2006.
- STRACK, D.; **Phenolic metabolism**. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B.; Plant biochemistry. Ed. Academic Press, London, 1997.
- TABOSA, I. M.; SOUZA, J. C. A.; GRAÇA, D. L.; FILHO, J. M. B.; ALMEIDA, R. N.; RIET-CORREA, F.; **Neuronal vacuolation of the trigeminal nuclei in goats caused by ingestion of Prosopis juliflora pods (rnesquite beans)**. Vetennary and Human Toxicoiogy. v 42, n.3, p.155-158, 2000.
- VIANI, R.; BRAZ-FILHO, R.; **Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos**. Química Nova, vol. 9, p. 400-407, 1996.
- VICKERY, M. L.; VICKERY, B.; **Secondary Plant Metabolism**. Hong Kong: Macmillan, 1981.
- VOIGT, R.; BORNSCHEIN, M.; **Tratado de tecnologia farmacêutica**. Zaragoza, Acribia, p. 496-513, 769. 1982.
- WASHBURN, K. E.; BRESHEARS, M. A.; RITCHFV, J. W.; MORGAN, S. E., STREETER, R. N.; **Honey mesquite toxicosis in a goat J Am Vet Med Assoc.**; v. 22, n.12, p. 1837-1839. 2002.
- WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K.; **The impact of saponins or saponincontaining plant materials on ruminant productions: A review**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Washington, v. 53, p. 8093-8105, 2005.

# **ANEXOS**

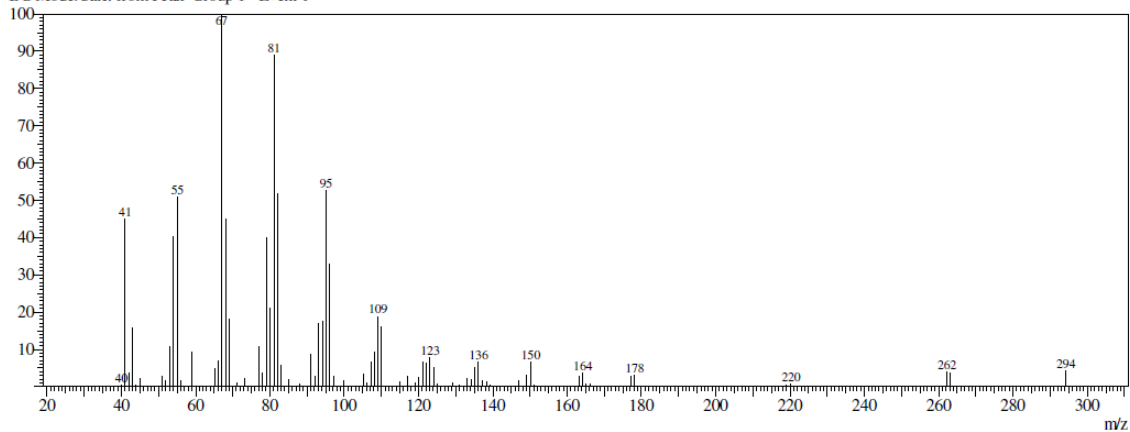
## Anexo A – Espectros de massa dos padrões dos ésteres metílicos

Line#:1 R.Time:28.7(Scan#:7709)

MassPeaks:78

RawMode:Averaged 28.7-28.7(7708-7710) BasePeak:67(43212)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

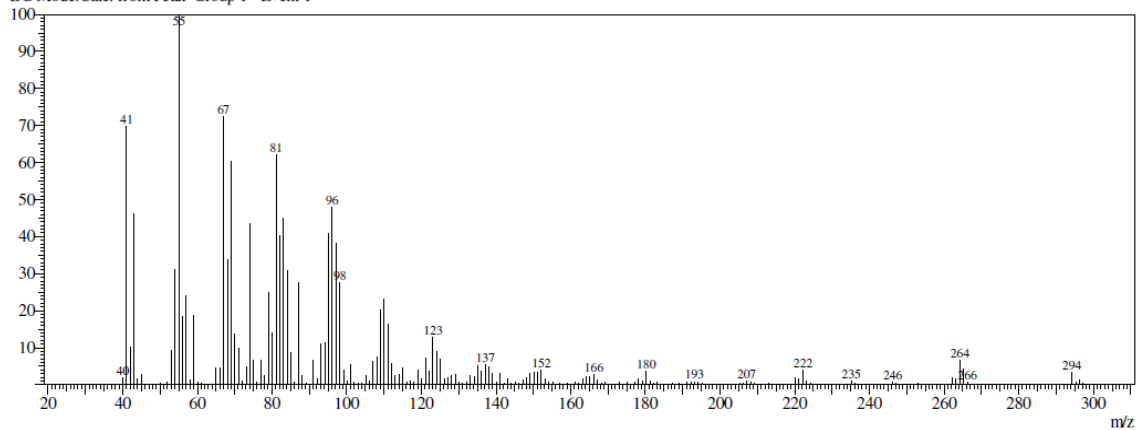


Line#:2 R.Time:28.7(Scan#:7723)

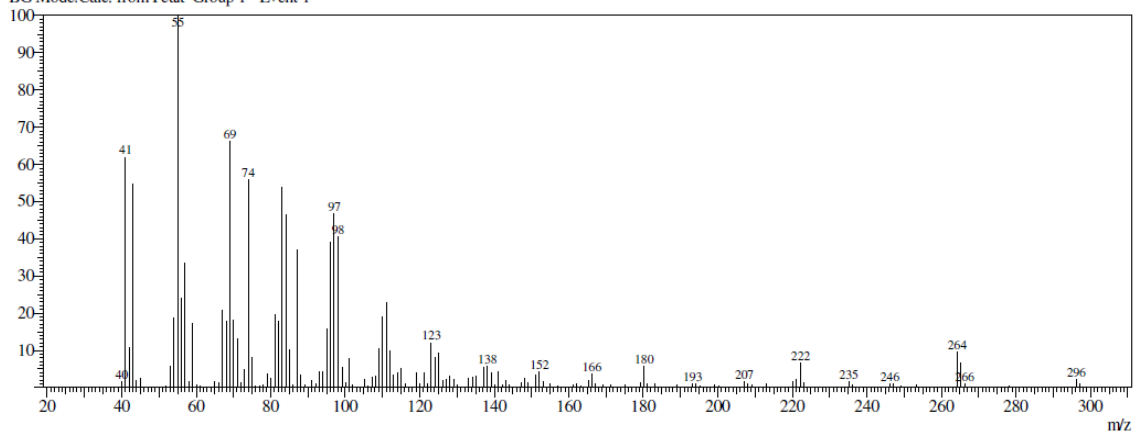
MassPeaks:166

RawMode:Averaged 28.7-28.7(7722-7724) BasePeak:55(254345)

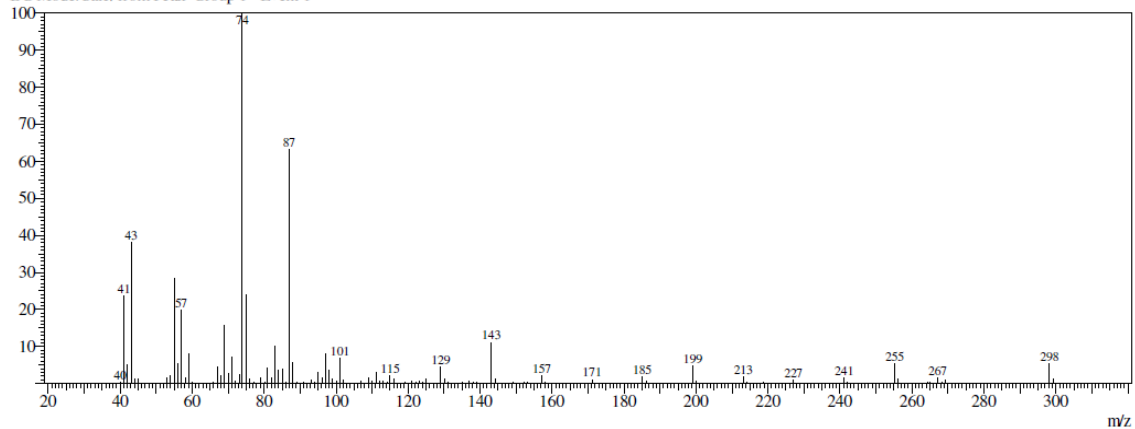
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



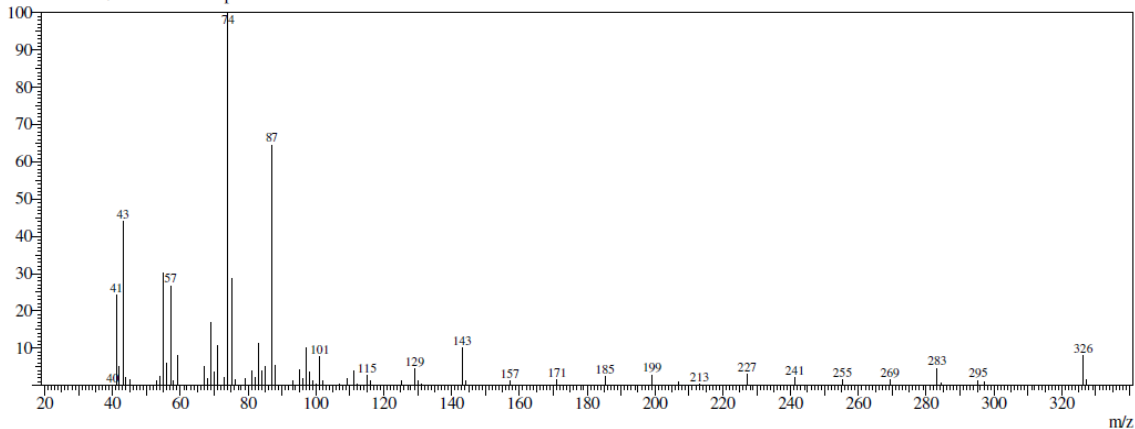
Line#:3 R.Time:28.8(Scan#:7737)  
MassPeaks:146  
RawMode:Averaged 28.8-28.8(7736-7738) BasePeak:55(205032)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#:4 R.Time:29.0(Scan#:7789)  
MassPeaks:104  
RawMode:Averaged 29.0-29.0(7788-7790) BasePeak:74(352752)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#:5 R.Time:30.8(Scan#:8344)  
MassPeaks:67  
RawMode:Averaged 30.8-30.8(8343-8345) BasePeak:74(95495)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



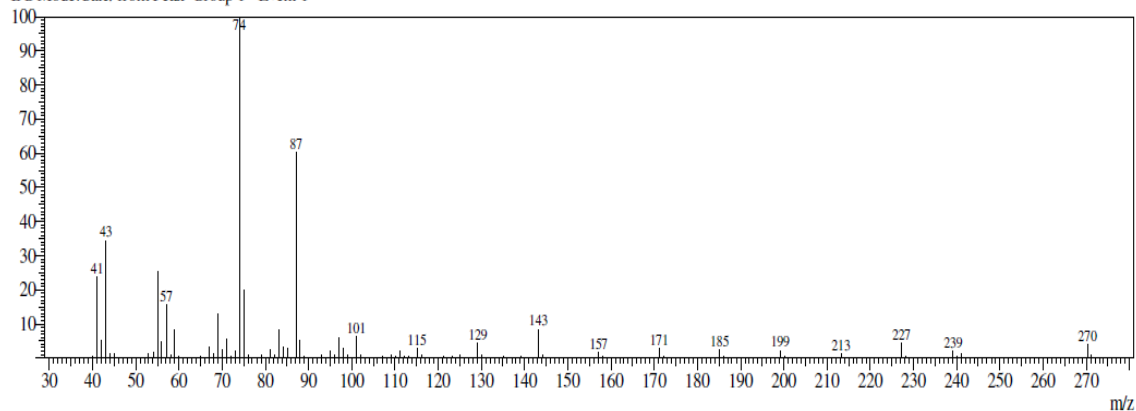
## Anexo B – Espectros de massa dos ésteres metílicos provenientes dos ácidos graxos da semente *in natura* de umburana (UA)

Line#:1 R.Time:26.9(Scan#:7174)

MassPeaks:134

RawMode:Averaged 26.9-26.9(7173-7175) BasePeak:74(3413342)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

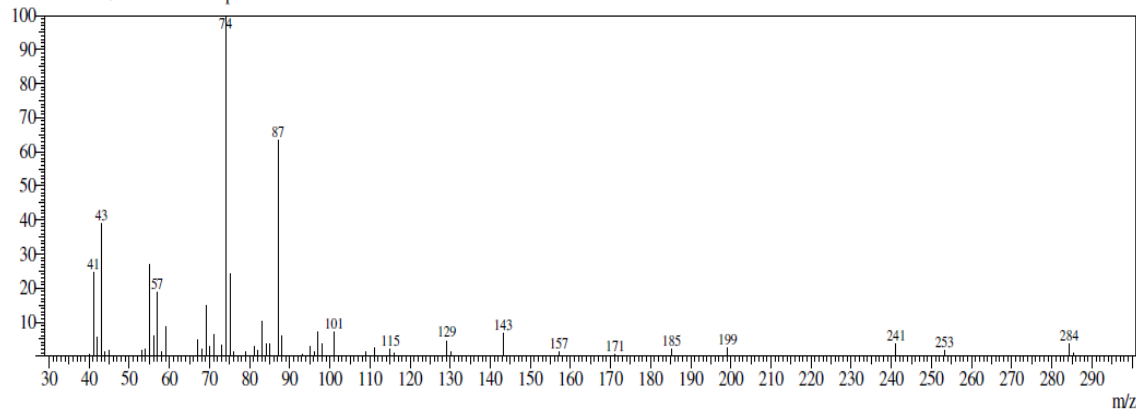


Line#:2 R.Time:28.0(Scan#:7489)

MassPeaks:52

RawMode:Averaged 28.0-28.0(7488-7490) BasePeak:74(95980)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

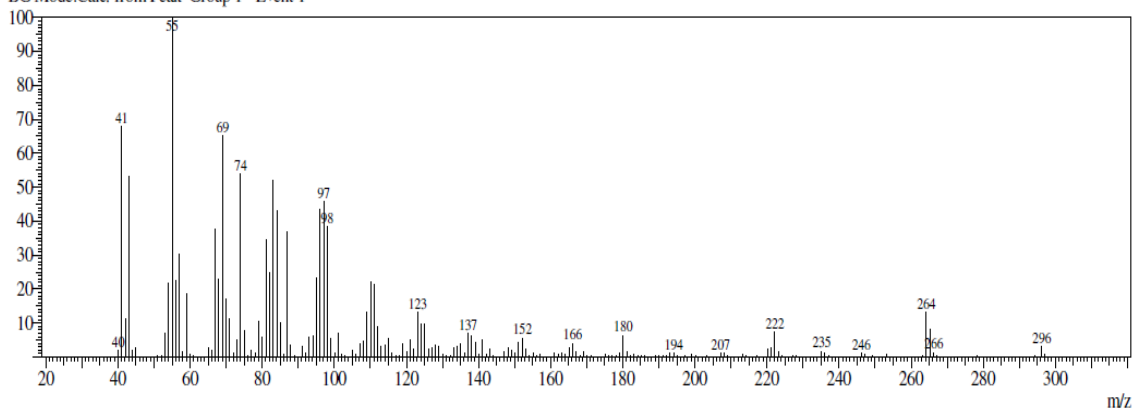


Line# 3 R.Time:28.7(Scan#:7722)

MassPeaks:214

RawMode:Averaged 28.7-28.7(7721-7723) BasePeak:55(4064680)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

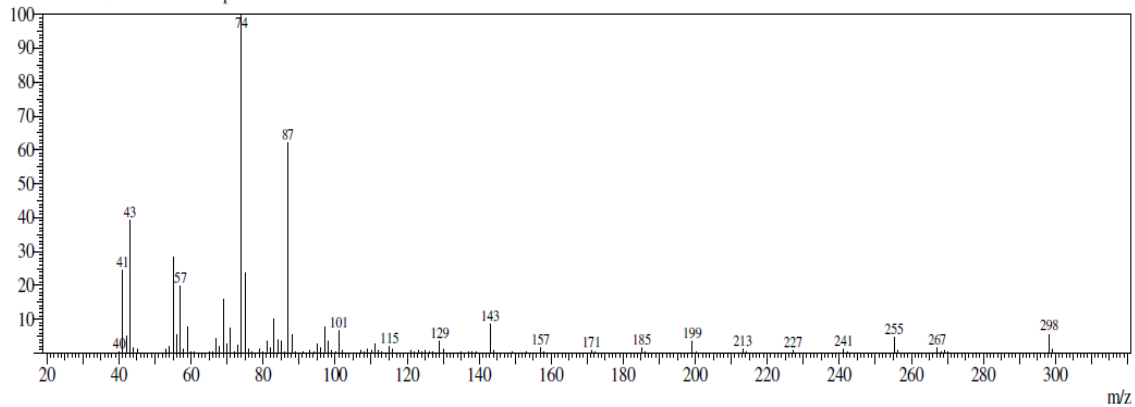


Line# 4 R.Time:29.0(Scan#:7788)

MassPeaks:139

RawMode:Averaged 29.0-29.0(7787-7789) BasePeak:74(1366972)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

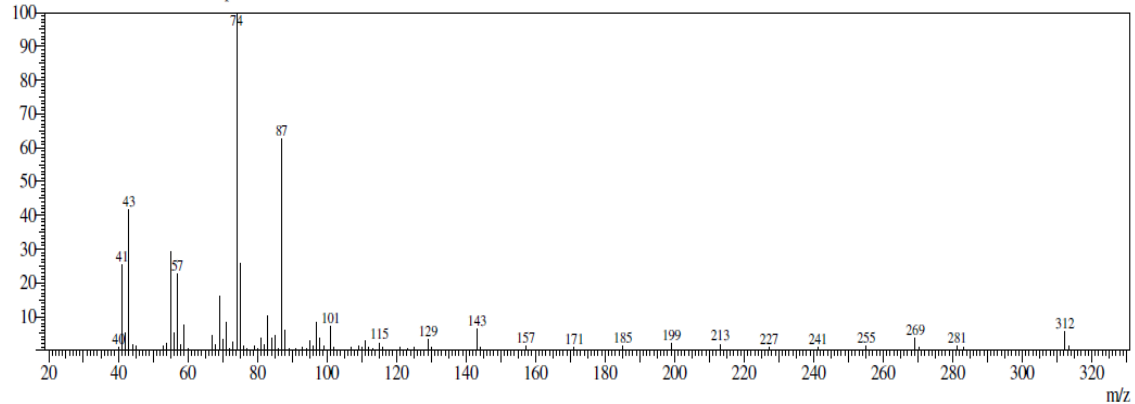


Line# 5 R.Time:29.9(Scan#:8072)

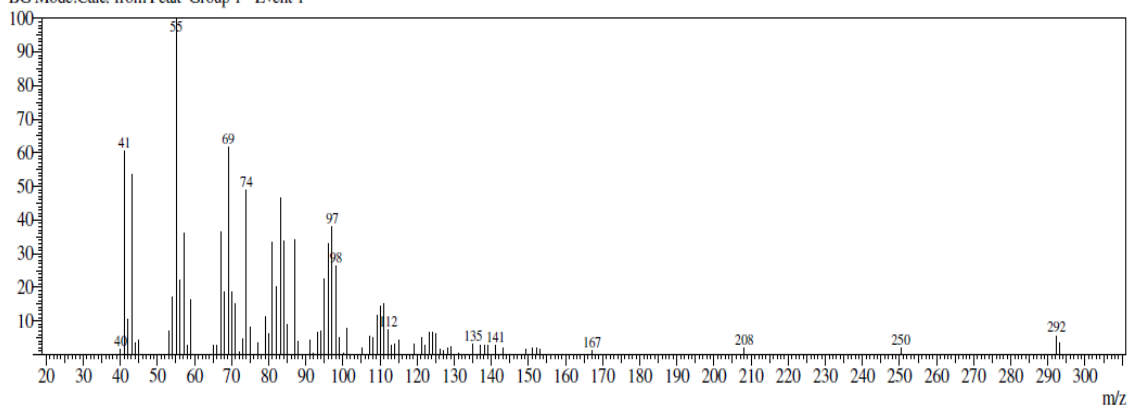
MassPeaks:93

RawMode:Averaged 29.9-29.9(8071-8073) BasePeak:74(429382)

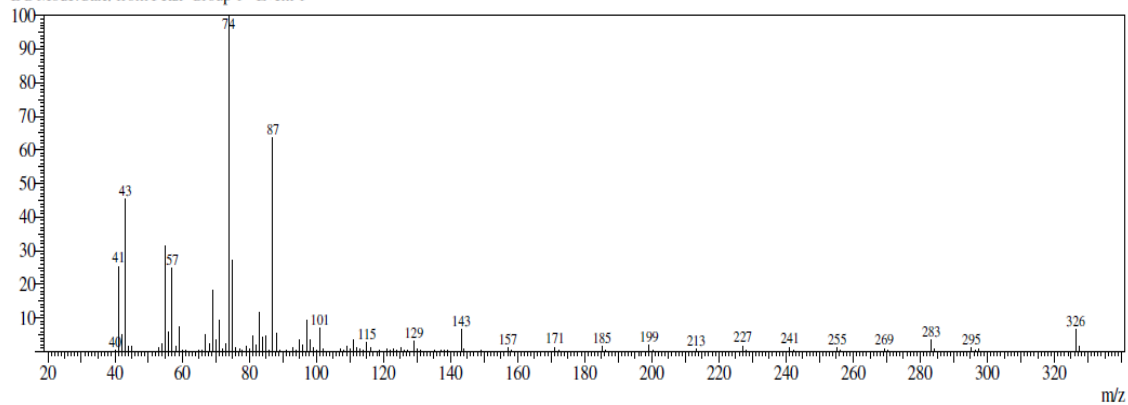
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



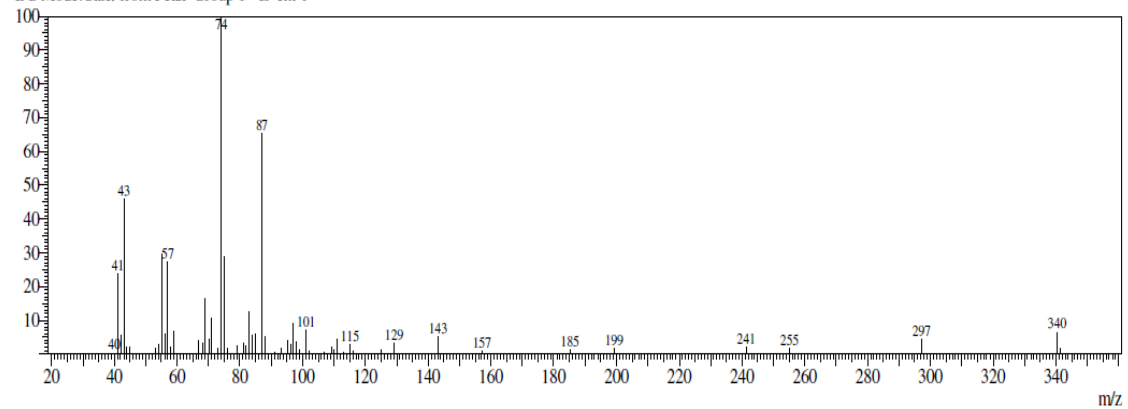
Line#6 R.Time:30.6(Scan#:8284)  
MassPeaks:82  
RawMode:Averaged 30.6-30.6(8283-8285) BasePeak:55(66687)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#7 R.Time:30.8(Scan#:8343)  
MassPeaks:105  
RawMode:Averaged 30.8-30.8(8342-8344) BasePeak:74(450357)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#8 R.Time:31.7(Scan#:8601)  
MassPeaks:57  
RawMode:Averaged 31.7-31.7(8600-8602) BasePeak:74(82073)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



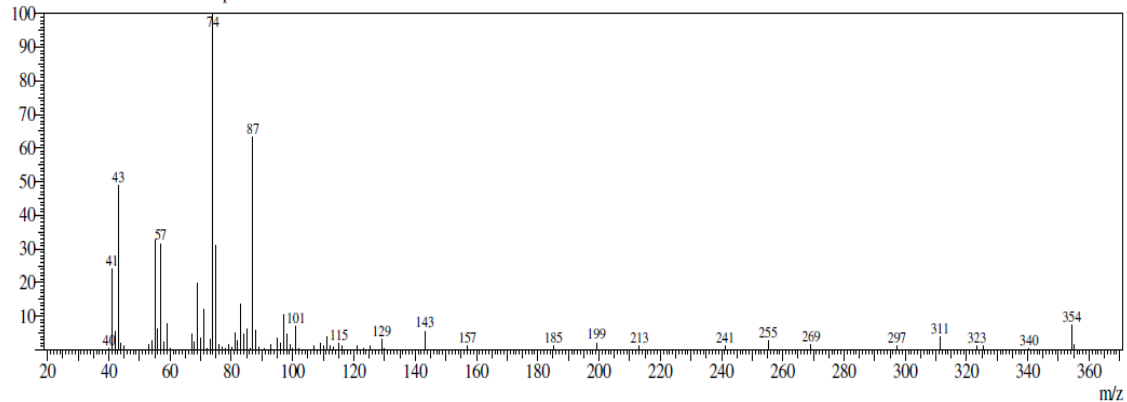


Line#9 R.Time:32.5(Scan#:8849)

MassPeaks:75

RawMode:Averaged 32.5-32.5(8848-8850) BasePeak:74(136448)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

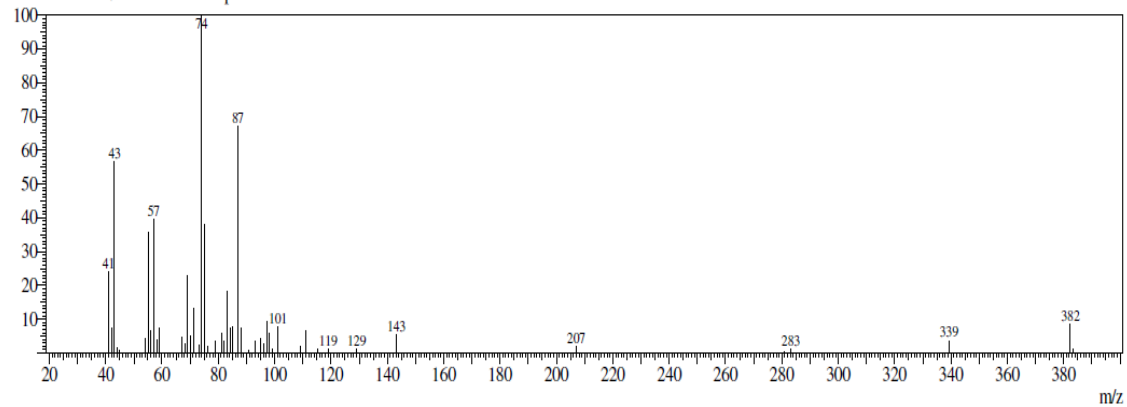


Line#10 R.Time:34.1(Scan#:9317)

MassPeaks:49

RawMode:Averaged 34.1-34.1(9316-9318) BasePeak:74(34886)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



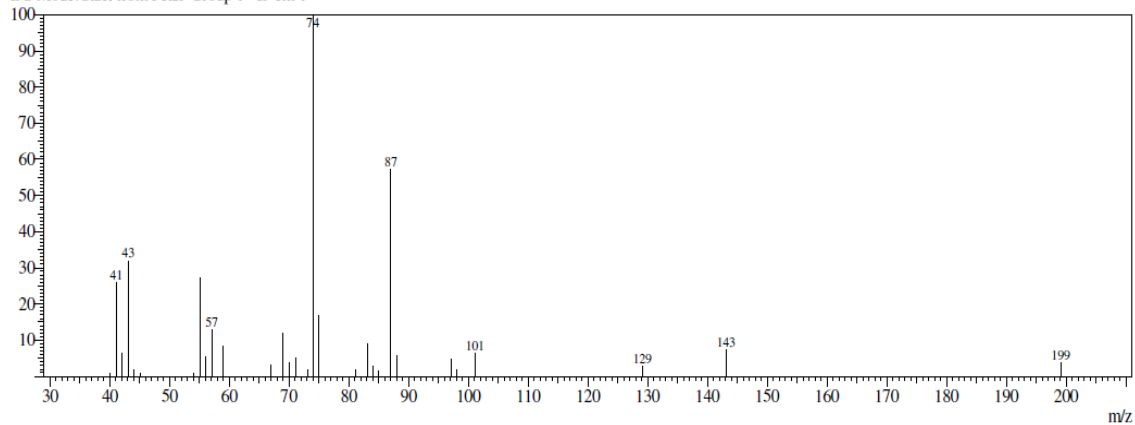
## Anexo C – Espectros de massa dos ésteres metílicos provenientes dos ácidos graxos do carvão da semente de umburana (UAC)

Line#:1 R.Time:24.6(Scan#:6476)

MassPeaks:30

RawMode:Averaged 24.6-24.6(6475-6477) BasePeak:74(41475)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

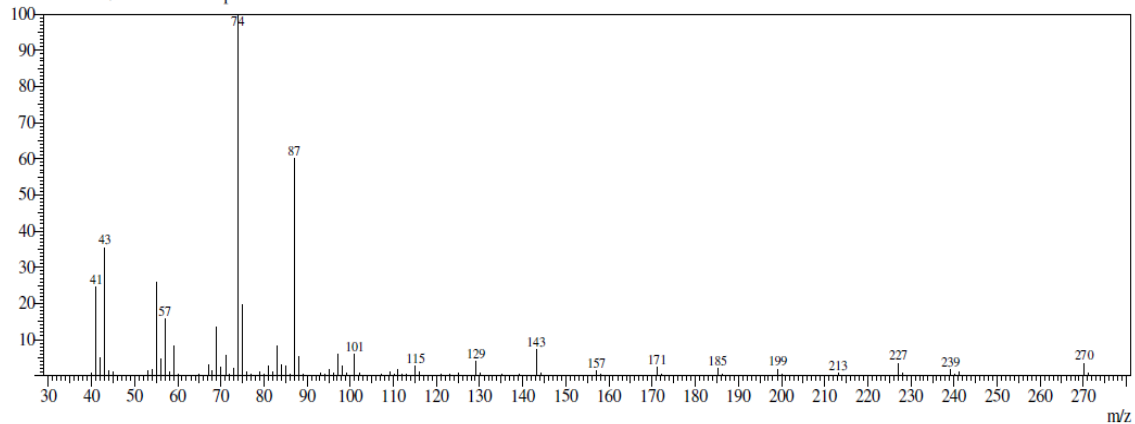


Line#:2 R.Time:26.9(Scan#:7174)

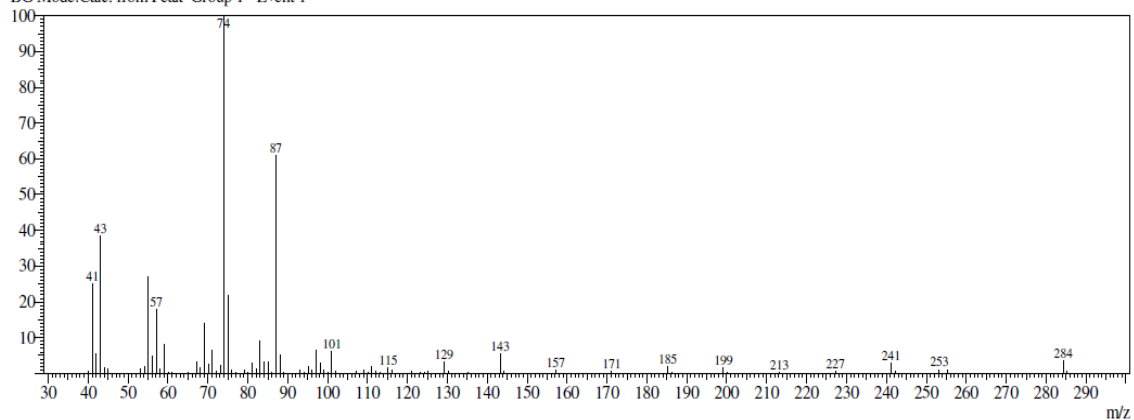
MassPeaks:127

RawMode:Averaged 26.9-26.9(7173-7175) BasePeak:74(3168126)

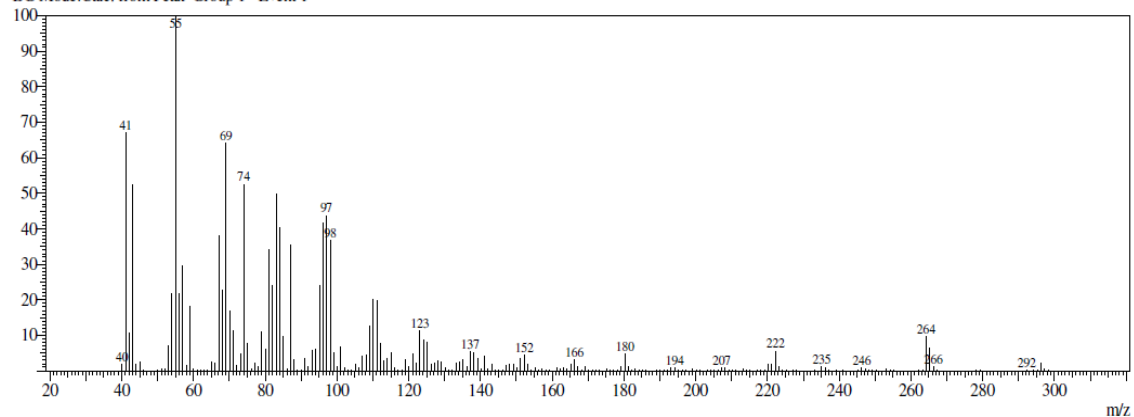
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



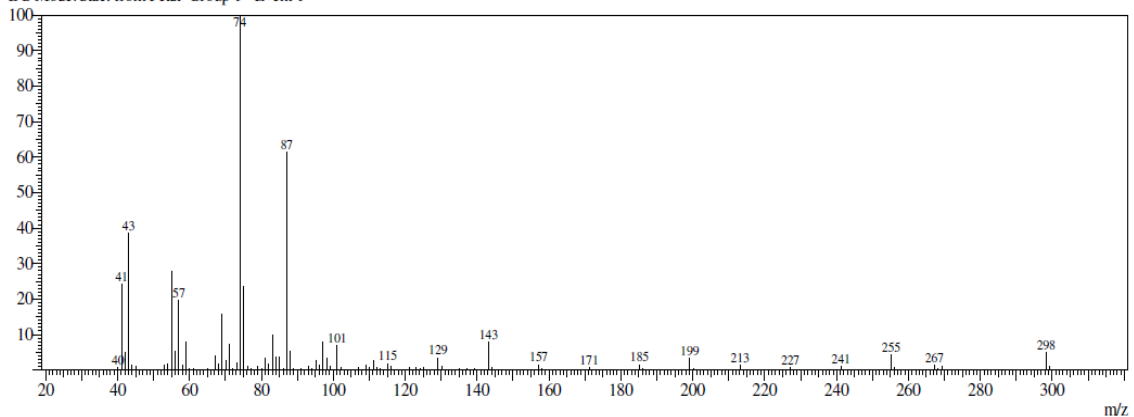
Line#:3 R.Time:28.0(Scan#:7490)  
MassPeaks:82  
RawMode:Averaged 28.0-28.0(7489-7491) BasePeak:74(495226)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



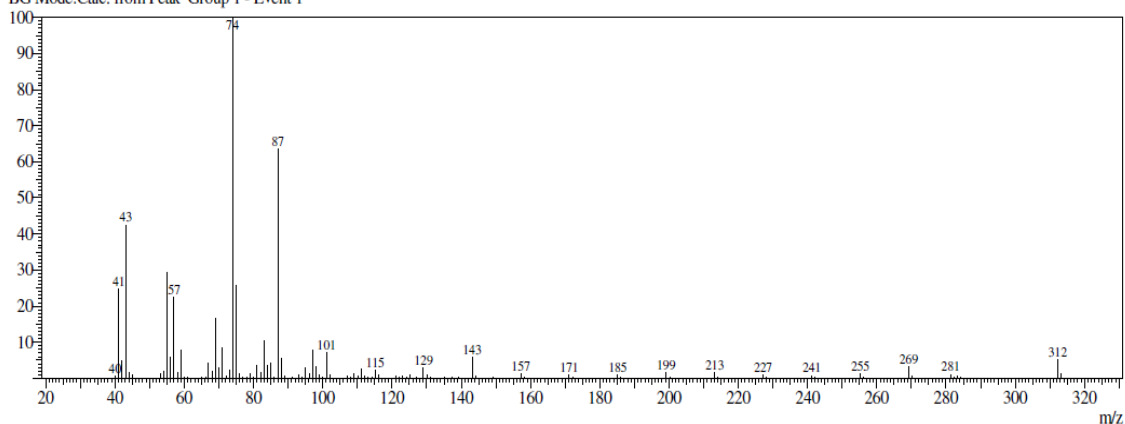
Line#:4 R.Time:28.7(Scan#:7722)  
MassPeaks:210  
RawMode:Averaged 28.7-28.7(7721-7723) BasePeak:55(2746817)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



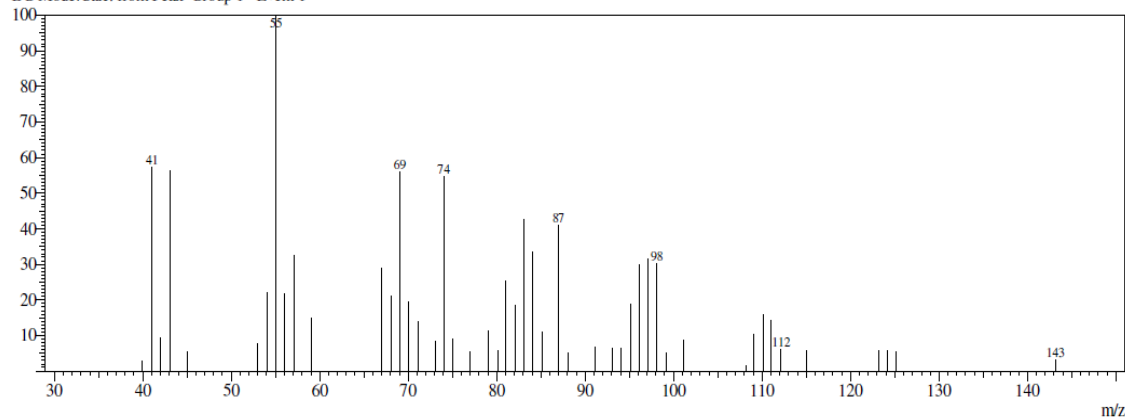
Line#:5 R.Time:29.0(Scan#:7788)  
MassPeaks:143  
RawMode:Averaged 29.0-29.0(7787-7789) BasePeak:74(1842022)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



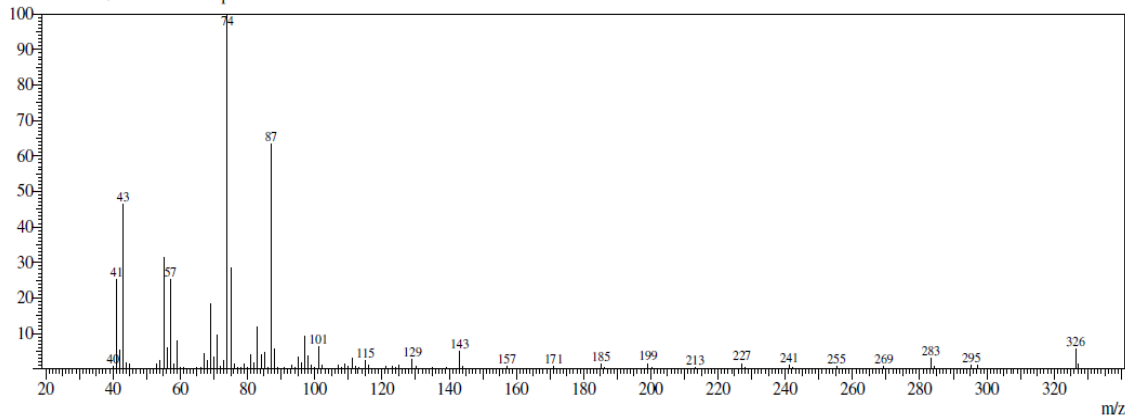
Line# 6 R.Time:29.9(Scan#:8072)  
MassPeaks:106  
RawMode:Averaged 29.9-29.9(8071-8073) BasePeak:74(830216)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



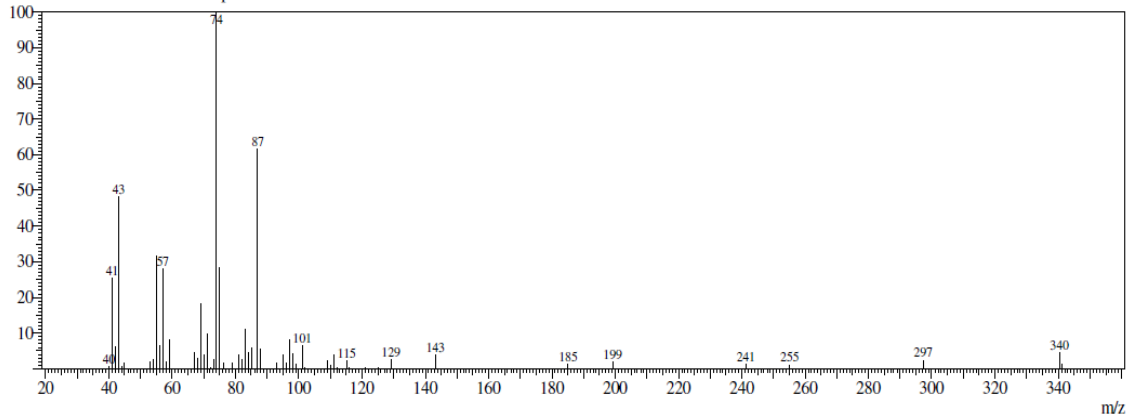
Line# 7 R.Time:30.6(Scan#:8283)  
MassPeaks:48  
RawMode:Averaged 30.6-30.6(8282-8284) BasePeak:55(22588)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



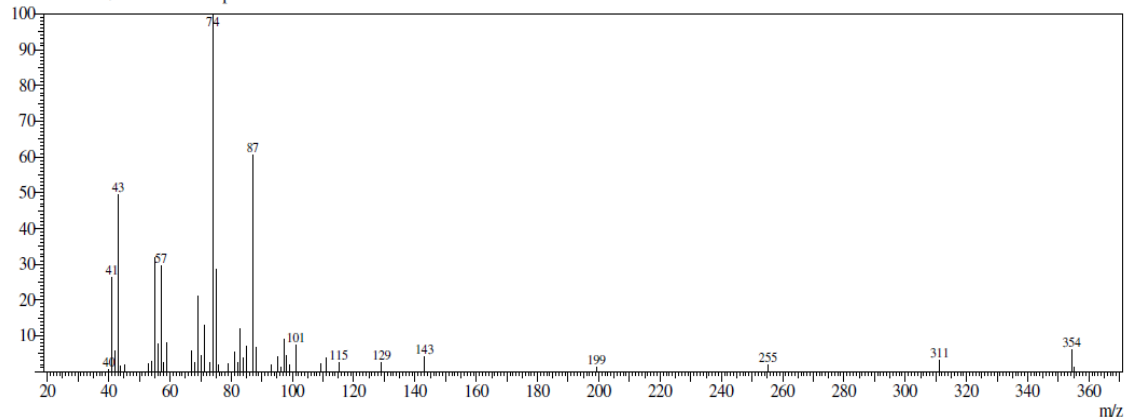
Line# 8 R.Time:30.8(Scan#:8343)  
MassPeaks:93  
RawMode:Averaged 30.8-30.8(8342-8344) BasePeak:74(448253)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



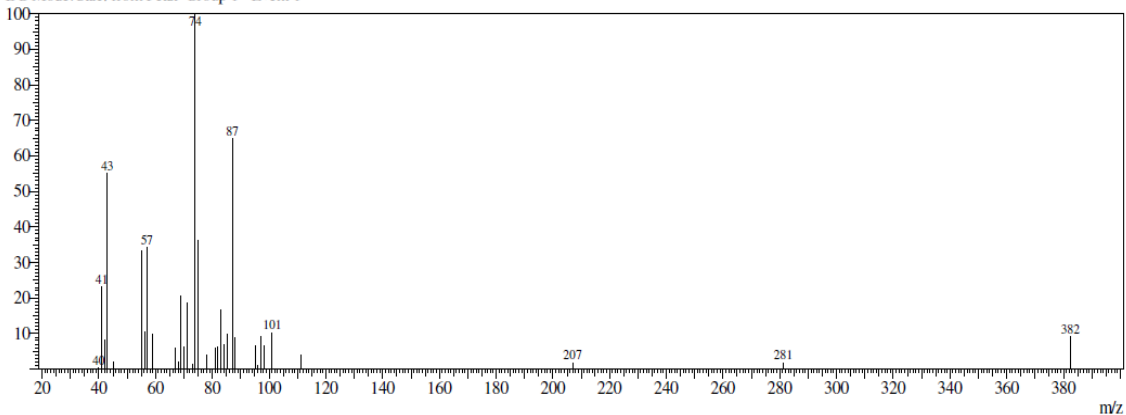
Line# 9 R.Time:31.7(Scan#:8602)  
MassPeaks:56  
RawMode:Averaged 31.7-31.7(8601-8603) BasePeak:74(98177)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line# 10 R.Time:32.5(Scan#:8850)  
MassPeaks:47  
RawMode:Averaged 32.5-32.5(8849-8851) BasePeak:74(75678)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line# 11 R.Time:34.1(Scan#:9317)  
MassPeaks:34  
RawMode:Averaged 34.1-34.1(9316-9318) BasePeak:74(19738)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



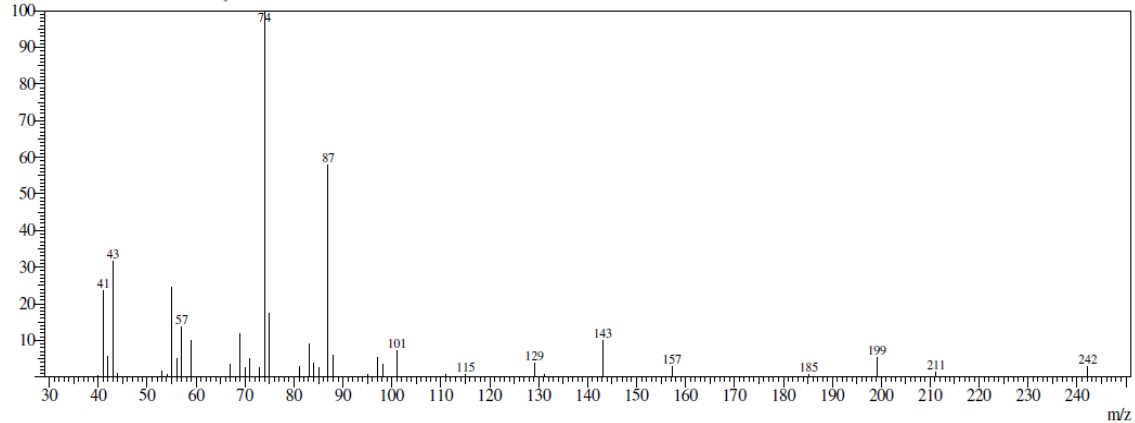
## Anexo D – Espectros de massa dos ésteres metílicos provenientes dos ácidos graxos da semente *in natura* de umbu (UU)

Line#:1 R.Time:24.6(Scan#:6477)

MassPeaks:38

RawMode:Averaged 24.6-24.6(6476-6478) BasePeak:74(51807)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

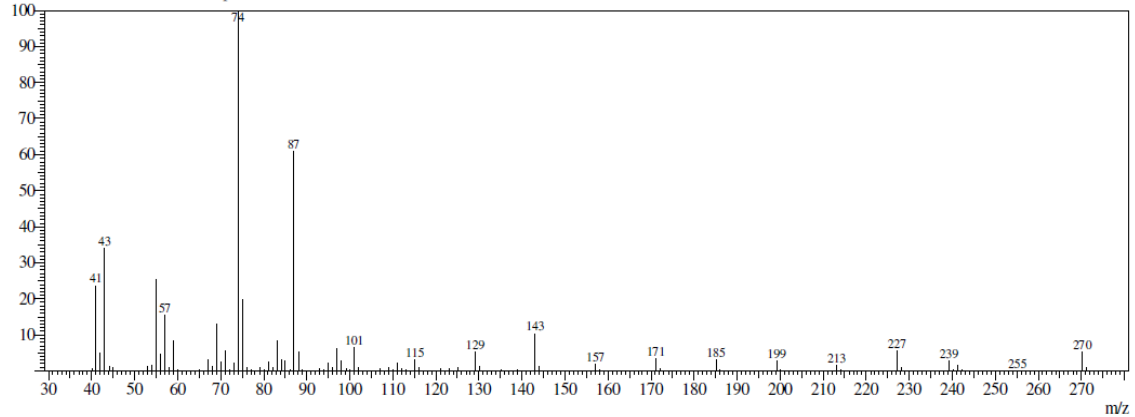


Line#:2 R.Time:26.9(Scan#:7174)

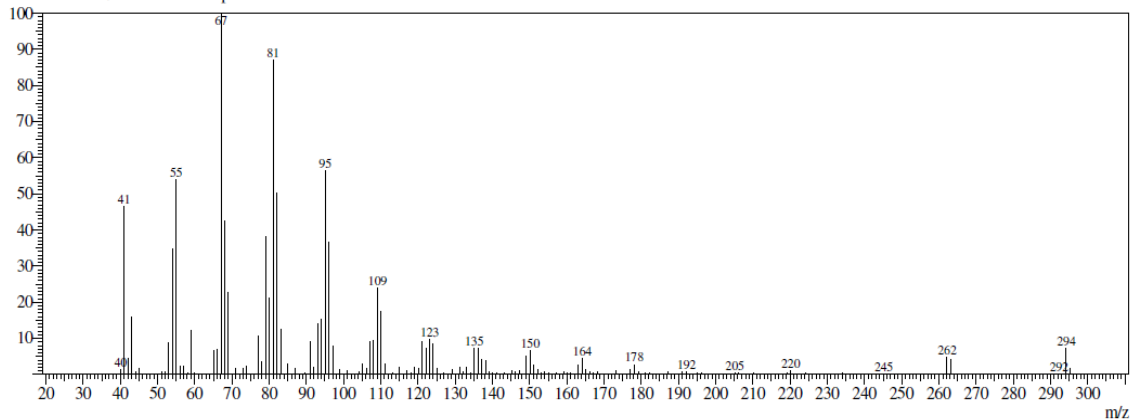
MassPeaks:146

RawMode:Averaged 26.9-26.9(7173-7175) BasePeak:74(4587661)

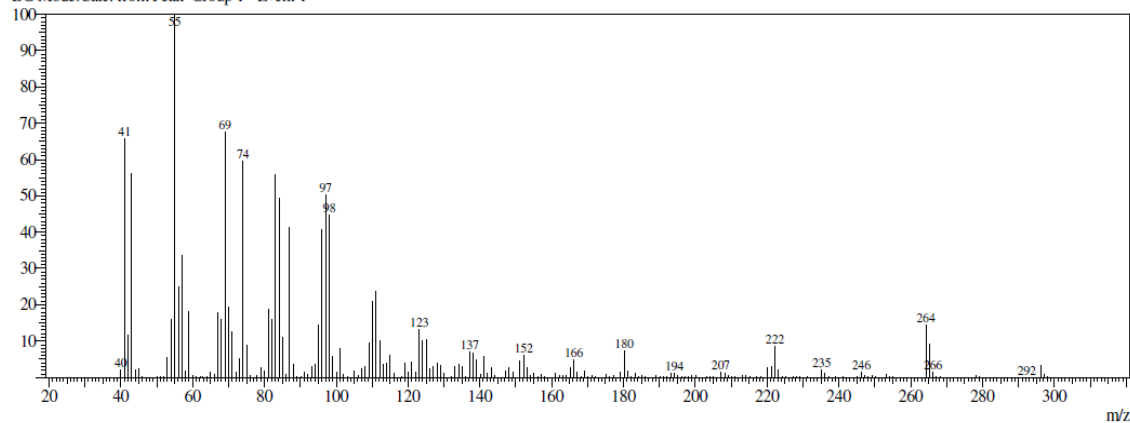
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



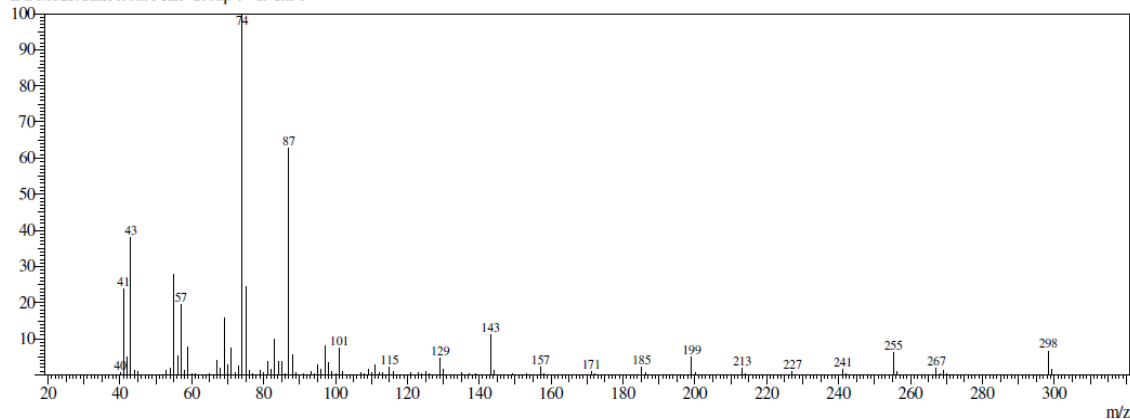
Line#:3 R.Time:28.7(Scan#:7709)  
MassPeaks:171  
RawMode:Averaged 28.7-28.7(7708-7710) BasePeak:67(1160862)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



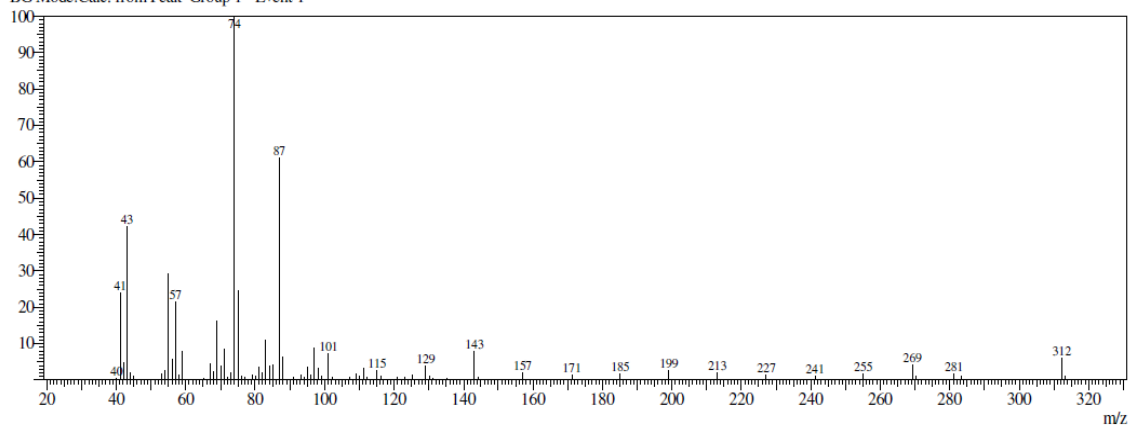
Line#:4 R.Time:28.7(Scan#:7722)  
MassPeaks:198  
RawMode:Averaged 28.7-28.7(7721-7723) BasePeak:55(2210844)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



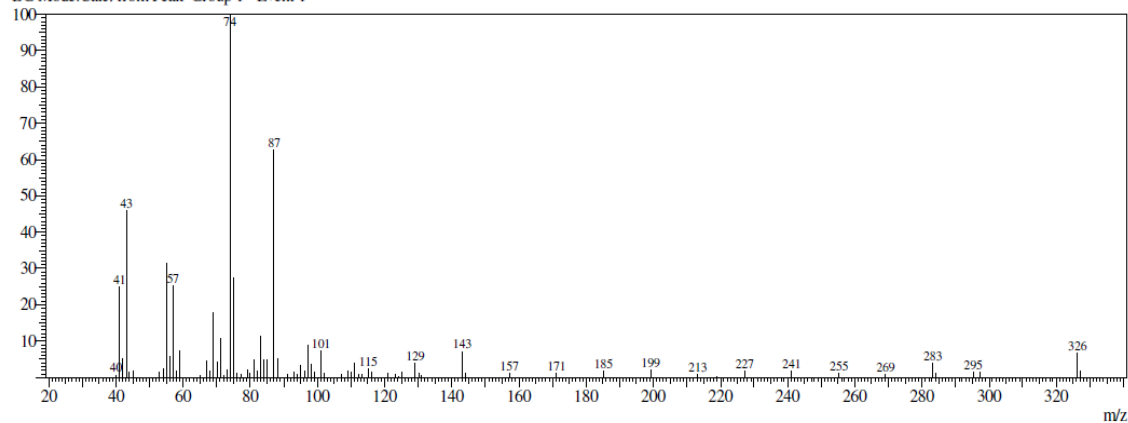
Line#:5 R.Time:29.0(Scan#:7788)  
MassPeaks:169  
RawMode:Averaged 29.0-29.0(7787-7789) BasePeak:74(2619880)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



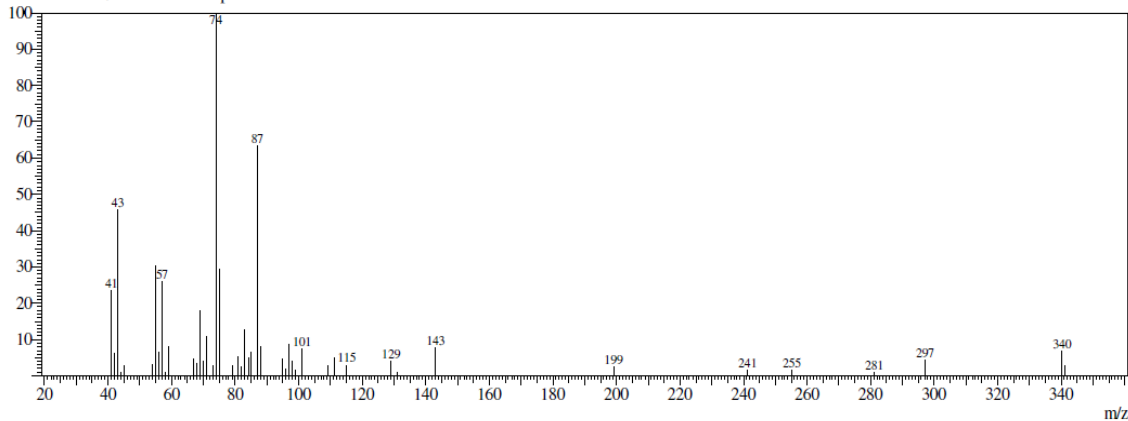
Line#:6 R.Time:29.9(Scan#:8073)  
MassPeaks:76  
RawMode:Averaged 29.9-29.9(8072-8074) BasePeak:74(158714)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#:7 R.Time:30.8(Scan#:8343)  
MassPeaks:77  
RawMode:Averaged 30.8-30.8(8342-8344) BasePeak:74(157538)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

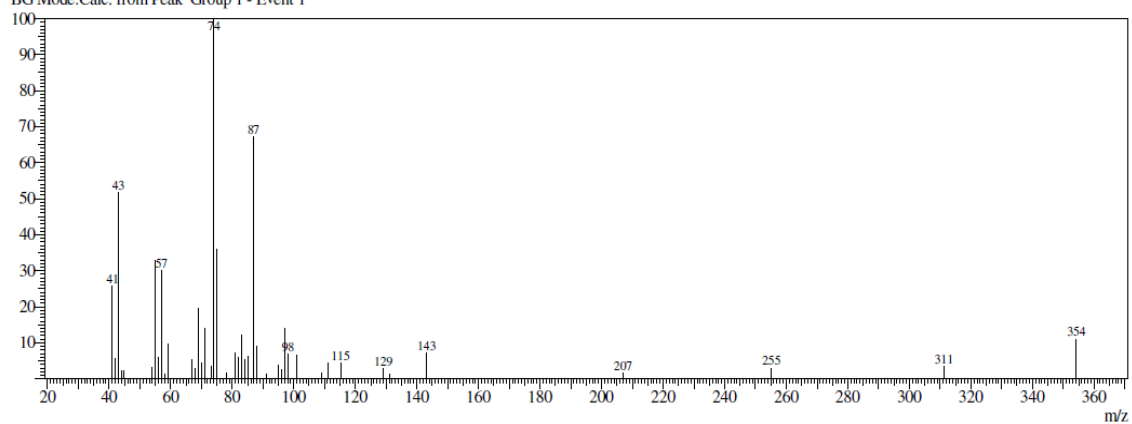


Line#:8 R.Time:31.7(Scan#:8602)  
MassPeaks:46  
RawMode:Averaged 31.7-31.7(8601-8603) BasePeak:74(44339)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1





Line#:9 R.Time:32.5(Scan#:8849)  
MassPeaks:43  
RawMode:Averaged 32.5-32.5(8848-8850) BasePeak:74(24966)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



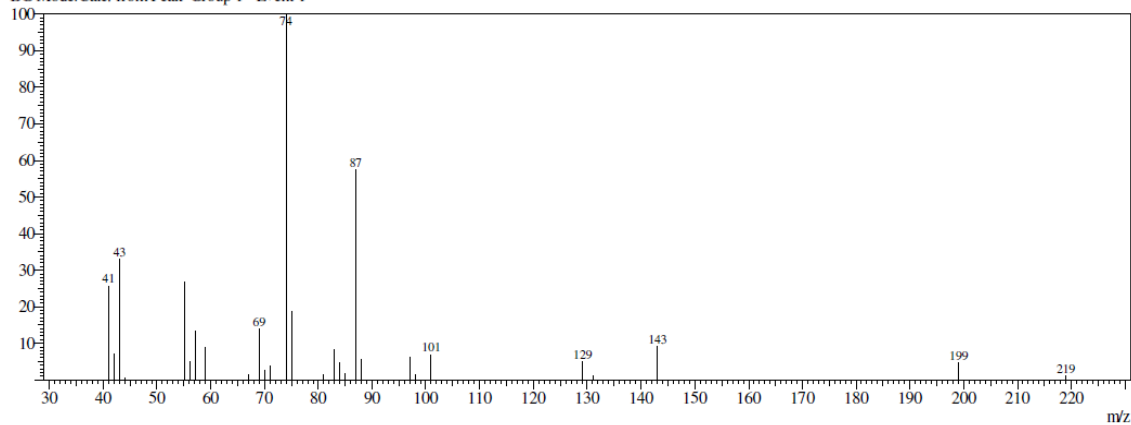
## Anexo E – Espectros de massa dos ésteres metílicos provenientes dos ácidos graxos do carvão da semente de umbu (UUC)

Line#1 R.Time:24.6(Scan#:6476)

MassPeaks:29

RawMode:Averaged 24.6-24.6(6475-6477) BasePeak:74(26500)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

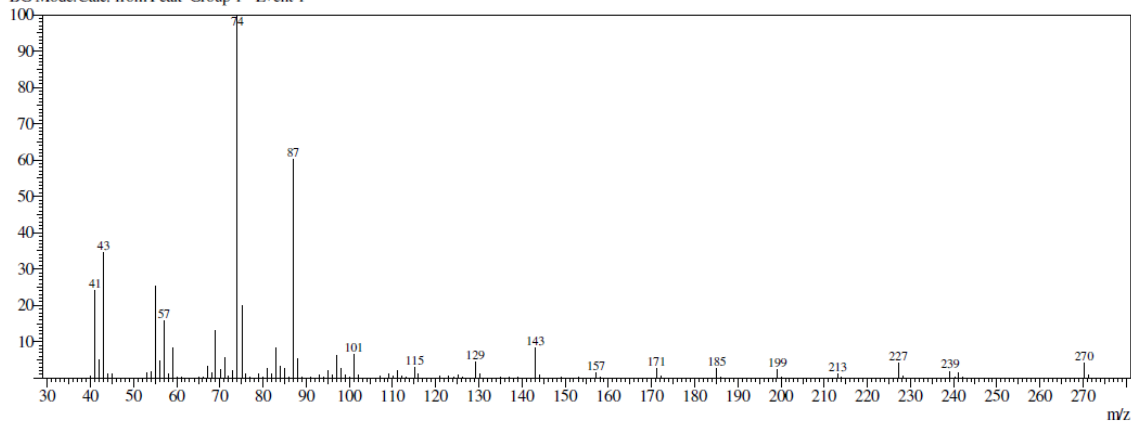


Line#2 R.Time:26.9(Scan#:7174)

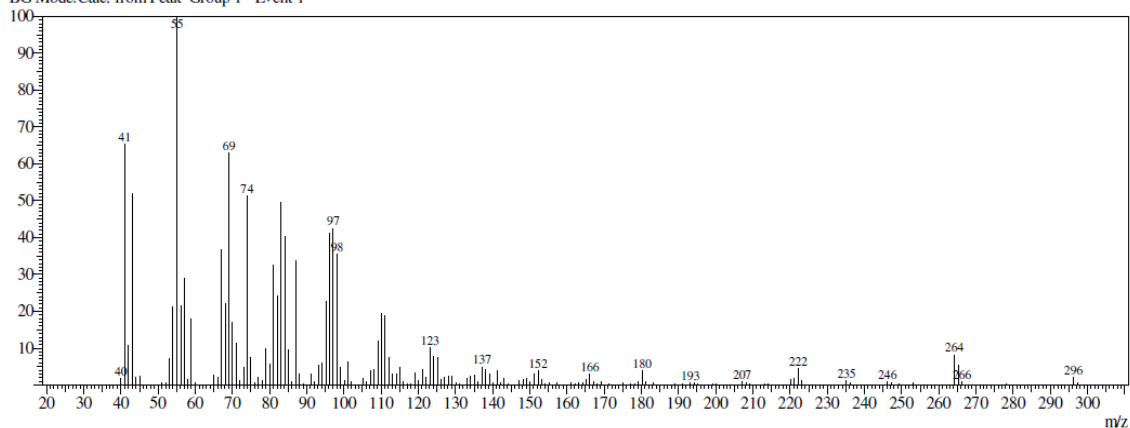
MassPeaks:116

RawMode:Averaged 26.9-26.9(7173-7175) BasePeak:74(1776007)

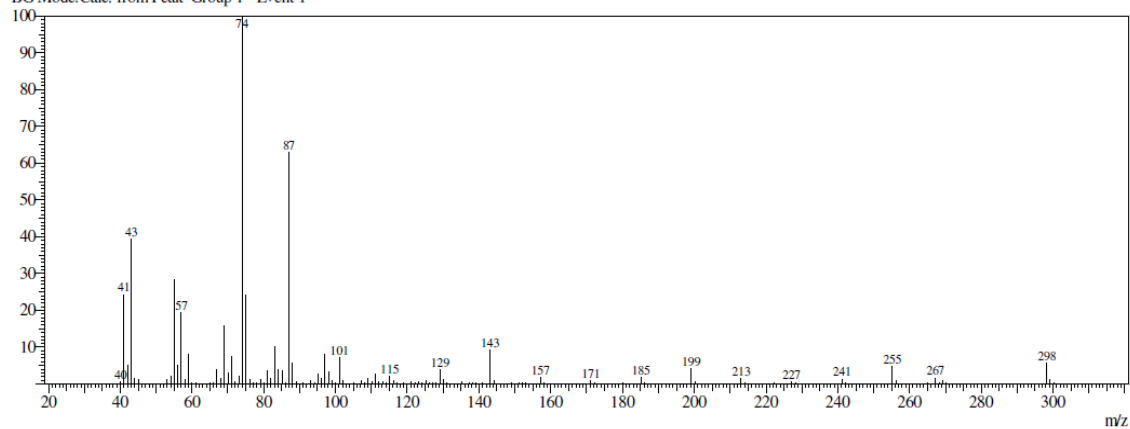
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



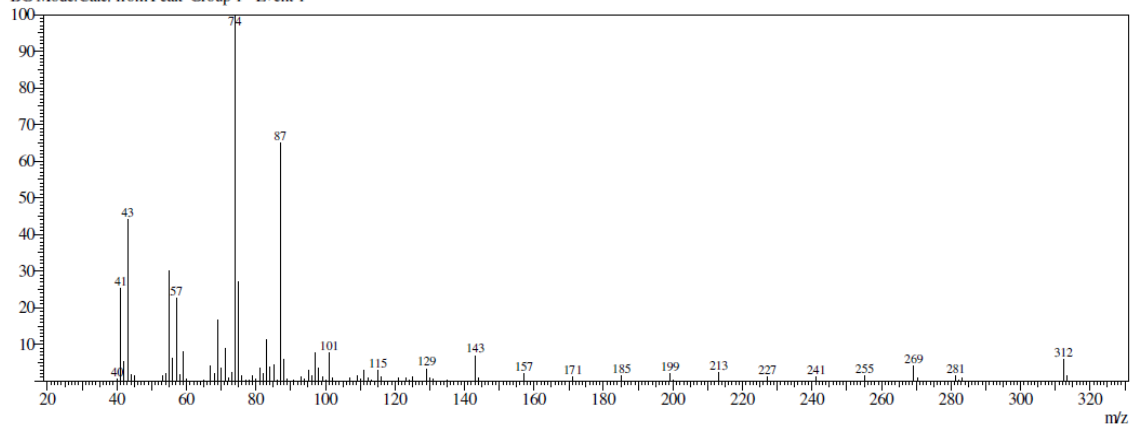
Line#:3 R.Time:28.7(Scan#:7721)  
MassPeaks:176  
RawMode:Averaged 28.7-28.7(7720-7722) BasePeak:55(927305)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



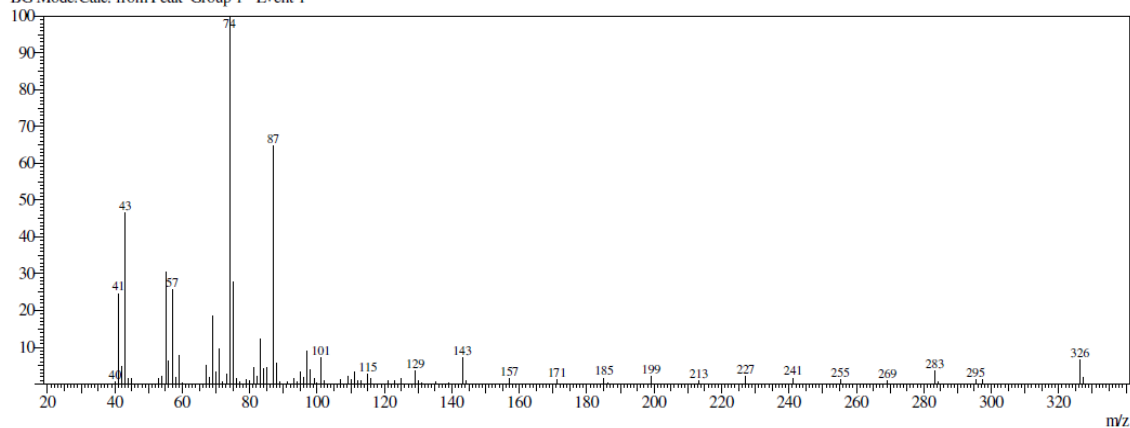
Line#:4 R.Time:29.0(Scan#:7787)  
MassPeaks:125  
RawMode:Averaged 29.0-29.0(7786-7788) BasePeak:74(1038627)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



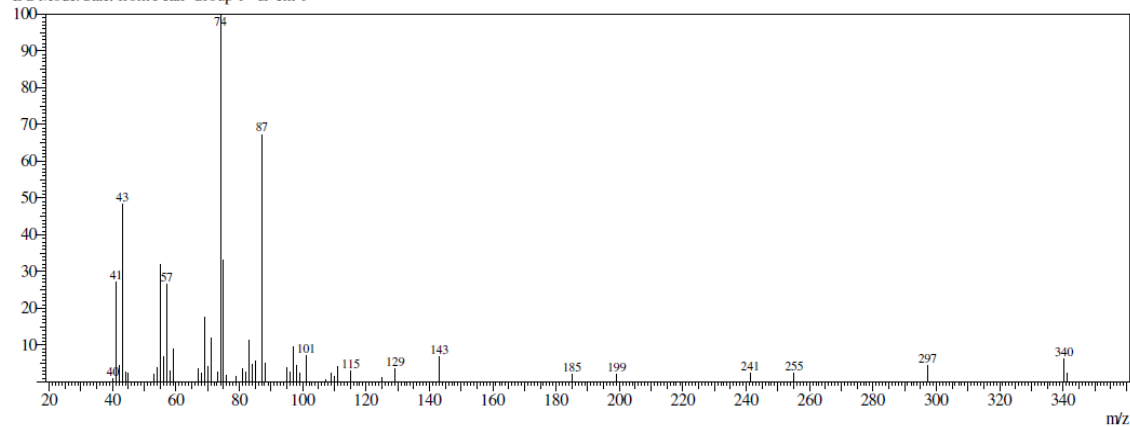
Line#:5 R.Time:29.9(Scan#:8072)  
MassPeaks:83  
RawMode:Averaged 29.9-29.9(8071-8073) BasePeak:74(253039)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#:6 R.Time:30.8(Scan#:8343)  
MassPeaks:85  
RawMode:Averaged 30.8-30.8(8342-8344) BasePeak:74(205620)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#:7 R.Time:31.7(Scan#:8602)  
MassPeaks:51  
RawMode:Averaged 31.7-31.7(8601-8603) BasePeak:74(57647)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Line#:8 R.Time:32.5(Scan#:8849)  
MassPeaks:45  
RawMode:Averaged 32.5-32.5(8848-8850) BasePeak:74(32352)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

