

## ESTUDO QUÍMICO EM AMOSTRAS *IN NATURA* DO MESOCARPO DE BABAÇU (*Orbignya phalerata*)

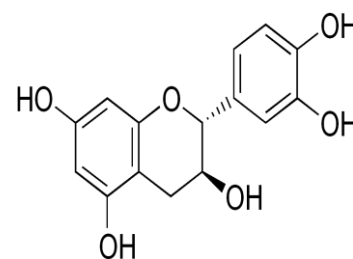
Gabriela Batista de FARIAS<sup>1</sup>  
Maria da Paz LIMA<sup>2</sup>  
Maria Nilce de Sousa RIBEIRO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/CNPQ/INPA; <sup>2</sup>Orientadora COTI/INPA; <sup>3</sup>Colaboradora UFMA

### INTRODUÇÃO

O babaçu (*Orbignya phalerata*, Mart.) ocorre naturalmente no Estado do Amazonas nos municípios de Manaquiri, Rio Preto da Eva, Manicoré, entre outros. Em levantamento das espécies com potencial para produção de biodiesel realizada no município de Manicoré, essa cultura foi a quarta mais abundante. Nessa mesma região constatou-se que o coco babaçu é utilizado na alimentação de frangos (Miranda *et al.* 2004). O grande interesse econômico por esse fruto, especialmente nos estados do Maranhão e Piauí, está no fato de ser possível aproveitá-lo integralmente, podendo destacar-se a larga utilização popular da farinha do mesocarpo no tratamento de doenças, mesmo havendo poucos estudos que comprovem essas indicações. Estudos fitoquímicos realizados com amostra comercial de farinha do mesocarpo adquirida no Estado do Maranhão, evidenciaram a predominância do  $\beta$ -sitosterol no extrato hexânico (Gomes *et al.* 2011), taninos no extrato metanólico, polissacarídeo e antocianina no extrato aquoso (Arruda *et al.* 2012). Os taninos são classes de substâncias conhecidas principalmente pela capacidade de precipitar em proteínas, pela adstringência e por formar uma camada protetora sobre a pele dos animais (Cardoso 2009).

Morais e colaboradores (2009), em estudo de atividade antioxidante obtiveram os melhores resultados na avaliação do chá de *Camelia sinensis* (chá verde) e atribuiu essa atividade à presença de catequinas, flavonoides e outros compostos fenólicos capazes de inibir os radicais livres no organismo. O presente projeto, inserido na Rede Babaçu, visou a continuidade dos estudos fitoquímicos incluindo a detecção de taninos. No estudo, utilizaram-se amostras *in natura* do mesocarpo coletado no Amazonas, com objetivo de contribuir para a justificativa ou desmistificação da larga utilização da farinha do mesocarpo na medicina popular.



catequina

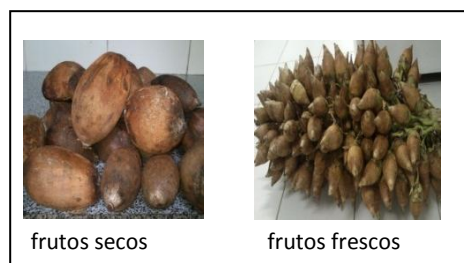
### MATERIAL E MÉTODOS



Figura 1. Palmeira de coco babaçu no Amazonas.

#### Obtenção do mesocarpo do coco-de-babaçu

Amostras de frutos secos e frescos obtidas nos municípios de Manaquiri e Rio Preto da Eva, respectivamente, foram submetidas à higienização com água corrente e secos à temperatura ambiente. Após esse procedimento, os cocos foram descascados manualmente com o auxílio de uma faca, raspando-se o mesocarpo que foi armazenado sob refrigeração.



frutos secos

frutos frescos

Figura 2. Amostras de coco babaçu coletados no Amazonas



Figura 3. Mesocarpo de babaçu triturado.

#### Preparação dos extratos orgânicos e aquosos

A amostra de mesocarpo seco foi triturada e submetida à maceração em metanol durante sete dias à temperatura ambiente, o extrato bruto (MSM; 3,92 g) foi obtido após a evaporação do solvente em evaporador rotativo. Para a preparação do extrato da amostra fresca realizou-se o mesmo processo de trituração, seguida por duas macerações sucessivas em metanol (5 dias cada) à temperatura ambiente, e uma maceração em água (5 dias) em ambiente refrigerado. A

concentração dos extratos metanólicos foi realizada com auxílio de evaporador rotativo e o extrato aquoso liofilizado, sendo estes codificados como MNM 1 (21,260 g), MNM 2 (6,106 g) e MNH<sub>2</sub>O (11,489 g), respectivamente, e calculados seus teores extrativos.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa da fase orgânica (g)} \times 100}{\text{Massa inicial da amostra (g)}}$$

### Fracionamentos cromatográficos

**Extrato metanólico da amostra 1 (MSM; 3,92 g)** - tratado em Amberlite XAD-2 com mistura e agitação por 10 minutos em solução de HOAc: MeOH: H<sub>2</sub>O (5:5:45), eluição em H<sub>2</sub>O + ácido fórmico (5%), (Fr. I); H<sub>2</sub>O (Fr. II), metanol (Fr. III) e diclorometano (Fr. IV), forneceu 4 frações. A fração IV (135 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel (230-400 mesh) com eluição em diclorometano fornecendo 47 subfrações, e teve como resultado o isolamento da substância **1** (3 mg) proveniente da subfração 21.

**Extrato aquoso da amostra 2 (MNH<sub>2</sub>O; 7,83g)** - tratado em Amberlite XAD-2 com mistura e agitação por 10 minutos em água, coluna de vidro eluída com H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O:MeOH (1:1), metanol, hexano, acetato de etila, acetona e diclorometano fornecendo 14 frações de 200mL cada, que após a evaporação dos solventes, foram analisadas por CCD em fase normal e reversa. As 2 frações eluídas em metanol foram reunidas para serem submetidas a fracionamento em Sephadex LH-20 (eluição socrática com metanol) fornecendo 15 subfrações.

**Extrato metanólico do mesocarpo fresco (MNM2; 6,0 g)** - o fracionamento em coluna de vidro do tipo filtrante em sílica gel (70-230 mesh) eluída com hexano, hexano:AcOEt (98:2 →1:1), AcOEt, AcOEt:MeOH (1:1) e MeOH, forneceu 23 frações. Efetuou-se a reunião das frações 11 e 12 (35 mg) de um novo fracionamento em coluna de sílica gel (230-400 mesh), eluída com hexano, hexano:AcOEt (9:1 →3:7), AcOEt, AcOEt:MeOH (1:1) e MeOH. Foram obtidas 24 frações e nas análises por CCD, as frações 5, 6 e 7, eluídas em hexano:AcOEt (9:1) mostraram-se promissoras e foram codificadas como M2-5 (2 mg), M2-6 (5 mg) e M2 -7 (5 mg).

### Teste para detecção de taninos

O extrato metanólico MNM 1, foi submetido a três testes clássicos de detecção de taninos:

Teste I- reação com cloreto férrico 2% (Cardoso 2009; Matos 1980);

Teste II - precipitação em gelatina (Cardoso 2009);

Teste III- chama hidro alcoólica (Cardoso 2009; Matos 1980).

Antes do início dos testes, três gramas do extrato foram solubilizadas em 20 mL de uma solução de acetona:H<sub>2</sub>O (7:3), com auxílio de banho ultrassônico. Em seguida realizou-se o teste I, que consistiu na transferência de uma alíquota da amostra para um tubo de ensaio onde se gotejou 6 gotas de cloreto férrico (2%), havendo mudança instantânea da coloração do extrato, de marrom para verde-esmeralda.

O teste II consistiu na transferência de uma segunda alíquota da amostra para um tubo de ensaio contendo gelatina incolor sem sabor já diluída em água morna (conforme indicação do fabricante), em seguida adicionaram-se duas gotas de HCl concentrado, e imediatamente iniciou o processo de precipitação. Após 24 h em repouso à temperatura ambiente, grande parte da amostra formou um precipitado branco. Para a realização do teste III, mergulhou-se um palito de madeira no extrato, e em um dos lados do palito foi gotejado HCl concentrado, em seguida, acendeu-se uma chama hidro alcoólica onde o palito foi passado durante cinco minutos. O lado em que havia sido gotejado o ácido foi notado mudança de coloração para pardo-avermelhado, a outra face do palito não mudou de coloração.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores extrativos das amostras de mesocarpo seco e fresco estão dispostos na tabela 1, onde é possível destacar-se que o teor extrativo do extrato metanólico da amostra 1 (MNM 1, obtida por maceração em 5 dias) foi cerca de 66% maior que da amostra seca em 7 dias de maceração (MSM).

Tabela 1. Teor extrativo do mesocarpo de coco babaçu.

Estado do mesocarpo	Solvente	Código	Rendimento (%)
Fresca	MeOH	MNM 1	2,4
	MeOH	MNM 2	0,7
	H <sub>2</sub> O	MNH <sub>2</sub> O	1,3
Seco	MeOH	MSM	1,6

O pré-tratamento do extrato metanólico da amostra de fruto seco (MSM) em Amberlite XAD-2 teve como objetivo a retirada de pigmentos e açúcares que devem ficar retidos na fração aquosa (F-II), a fração com água acidificada (fase I) foi descartada. A substância **1** (3 mg) isolada da Fr. IV foi identificada por comparação em CCD com amostra padrão como  $\beta$ -sitosterol. Este fitoesteróide é de ampla ocorrência em diversas espécies incluindo amostra comercial de babaçu (Gomes *et al.* 2011), sendo este o primeiro registro em amostras de mesocarpo de coco babaçu *in natura* de origem amazônica. Para o extrato aquoso da amostra fresca (MNH<sub>2</sub>O), o pré-tratamento em Amberlite (XAD-2) não forneceu frações de caráter mais apolar. Uma das frações promissoras foi a metanólica, rica em pigmentos, no entanto o seu fracionamento em Sephadex LH-20 apresentou frações com baixo rendimento (abaixo de 4%) e não foi possível identificar substâncias promissoras por análise em CCD.

O fracionamento do extrato metanólico do mesocarpo fresco (MNM2) forneceu as substâncias em mistura conforme mostra placa em CCD (fig. 4). Comparando as substâncias em mistura com os padrões de  $\beta$ -sitosterol (esteroide) e lupeol (triterpeno), verifica-se que nas frações M2-5, M2-6 e M2-7 também tem substâncias predominantes diferentes dos padrões utilizados na comparação.

Os espectros de RMN-<sup>1</sup>H destas misturas mostram sinais predominantes de hidrogênios olefínicos, carbinólicos e metílicos conforme mostra a tabela 2. Desta forma, os sinais obtidos nos espectros de RMN-<sup>1</sup>H associados a coloração das manchas quando reveladas em vanilina sulfúrica sugere-se tratar de triterpenos ou esteroides. Estas amostras serão analisadas por CG-EM para identificação em misturas das substâncias.

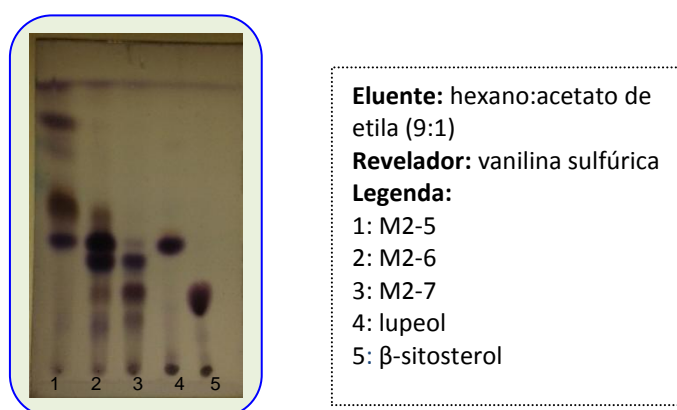


Figura 4. Placa de CCD com amostras M2 e padrões de lupeol e  $\beta$ -sitosterol

Tabela 2. Dados dos sinais predominantes ( $\delta$ ) de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Hidrogênios	M2-5	M2-6	M2-7
Olefínicos	5,34	5,37-5,05	5,29-5,23
	4,29-4,09	4,29-4,06	4,13-4,03
Carbinólico	3,64	3,64	
Metílicos	1,28-0,86	1,28-0,78	1,23-0,73

Os três testes para detecção de taninos apontaram resultados positivos para a presença desse tipo de classe de substância, conforme mostrado na figura 5.

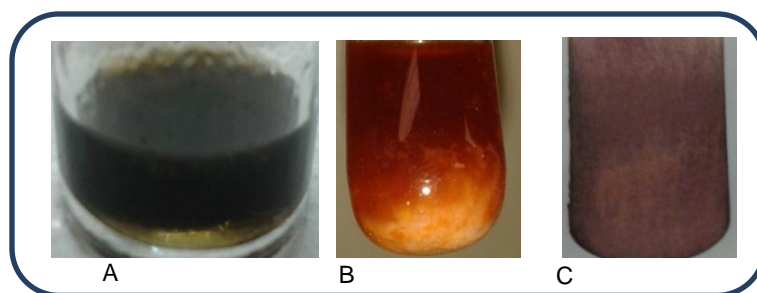


Figura 5. A) Teste I; B) Teste II; C) Teste III

Tabela 3. Testes de detecção de taninos

Teste	Resultado	Indicativo
I	Mudança de coloração para verde-esmeralda	catequina
II	Formação de precipitado branco	taninos
III	Mudança de coloração para pardo-avermelhado	catequina

## CONCLUSÃO

Com fracionamentos da amostra de mesocarpo seco foi possível o isolamento do esteróide  $\beta$ -sitosterol utilizando uma metodologia ainda em fase de aperfeiçoamento com Amberlite XAD-2. As tentativas de isolamento de substâncias com as amostras de mesocarpo fresco forneceram misturas de substâncias que sugerem presença de triterpenos ou esteroides. Por tratar-se de materiais de difícil solubilidade e coloração escura, optou-se por realizar testes para detecção de taninos, podendo ser confirmada a presença desse tipo de substância, o que possibilita a realização de testes de quantificação de taninos, que já estão em fase de finalização. A quantificação desse tipo de substância em amostras de mesocarpo é de extrema importância, tendo em vista que lhes são atribuídas diversas indicações farmacológicas. Espera-se concluir os estudos com amostras de mesocarpo de frutos maduros, a fim de contribuir com o conhecimento do perfil químico da espécie, principalmente como alimento funcional.

## REFERÊNCIAS

- Arruda, L.G.; Lima, M.P.; Ribeiro, M.N.S. 2012. Estudo fitoquímico em farinha do mesocarpo do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart, Arecaceae). In: XX Jornada de Iniciação Científica PIBIC INPA - CNPq/FAPEAM, Manaus.
- Cardoso, C.M.Z. 2009. *Manual de Controle de Qualidade de Matérias-Primas Vegetais para Farmácia Magistral*. Pharmabooks, São Paulo, SP, 49-52.
- Gomes, R.F.; Lima, M.P.; Ribeiro, M.N.S. 2011. Estudo fitoquímico de *Orbignya phalerata*: uma contribuição para o conhecimento do perfil químico do babaçuzeiro. In: XX Jornada de Iniciação Científica PIBIC INPA - CNPq/FAPEAM, Manaus.
- Matos, F.J.A. 1980. *Introdução a Fitoquímica Experimental*. Edições UFC, Fortaleza, CE, 141pp.
- Miranda, I.P. de A.; Rabelo, A.; Barbosa, E.; Ramos, J.F.; Morais, F.F.; Oliveira, de J.G. 2004. Levantamento quantitativo de espécies oleaginosas para produção de biodiesel na Reserva Extrativista do Capanã Grande – Município de Manicoré – AM, 48: 26-28 ([https://www.inpa.gov.br/labpalm/arq\\_pdf/Relatorio\\_Ibama\\_Capana-Final.pdf](https://www.inpa.gov.br/labpalm/arq_pdf/Relatorio_Ibama_Capana-Final.pdf)). Acesso em 30/01/2014.
- Morais, S. M. de; Cavalcanti, E.S.B; Costa, S.M.O.; Aguiar, L.A. 2009. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1B): 315-320.