

Fortaleza, CE / Fevereiro, 2026



Estratégias de extração do amburosídeo A da casca de cumaru: otimização e preparo de extratos em diferentes condições

Edy Sousa de Brito⁽¹⁾, Marcelo Victor Lima⁽²⁾ e Kirley Marques Canuto⁽³⁾

⁽¹⁾Químico Industrial, doutor em Tecnologia de Alimentos, pesquisador da Embrapa Alimentos e Territórios, Maceió, AL. ⁽²⁾Químico, doutor em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

⁽³⁾Farmacêutico, doutor em Química, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Resumo – O cumaru (*Amburana cearensis* A. C Smith – Fabaceae) é uma planta medicinal nativa da Caatinga usada no tratamento de doenças respiratórias. Compostos presentes na casca do caule, como cumarina, isocampferídio e amburosídeo A, são responsáveis pelas atividades broncodilatadora, analgésica e anti-inflamatória. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi otimizar a extração do amburosídeo A da casca do caule do cumaru, avaliando-se o efeito de diferentes processos: Soxhlet, maceração minâmica (MD) e extração assistida por ultrassom (EAU). Diferentes solventes [água, etanol e água + etanol 1:1(v/v)] foram utilizados. Também foi realizado um planejamento experimental para avaliar a influência de algumas variáveis (potência e tempo) na extração e remoção dos açúcares presentes no extrato por dois processos: adsorção e fermentação. Os extratos obtidos por MD apresentaram os maiores teores do composto de interesse, principalmente nas extrações feitas com água + etanol (1:1). Concentrações semelhantes de amburosídeo A foram obtidas por EAU. Para este processo, verificamos que a variável potência e a interação potência x tempo foram significativas. Como resultado, a melhor extração do amburosídeo foi alcançada aplicando-se 100% de potência por 6 minutos. Com relação à remoção do açúcar, o processo de adsorção foi mais eficiente do que a fermentação; contudo, ambos os métodos reduziram a concentração de amburosídeo A. Sob essa perspectiva, demonstramos que o extrato de cumaru pode ser obtido com alto teor de amburosídeo A por meio de MD ou EAU, processos mais sustentáveis e energeticamente eficientes em comparação ao método convencional de Soxhlet.

Termos para indexação: cumaru, amburosídeo A, Soxhlet, maceração dinâmica, ultrassom.

Extraction strategies for amburoside A from tonka bean bark: optimization and preparation of extracts under different conditions

Abstract – Cumaru (*Amburana cearensis* A. C Smith – Fabaceae) is a medicinal plant native to the Caatinga biome, where is used to treat respiratory diseases. Compounds present in the stem bark, such as coumarin, iso-

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Pernambuco, 2.270, Pici
CEP 60.511-110 – Fortaleza, CE
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

José Roberto Vieira Junior

Secretária-executiva

Celli Rodrigues Muniz

Membros

Afrânio Arley Teles Montenegro,

Aline Saraiva Teixeira, Eveline de

Castro Menezes,

Francisco Nelsieudes Sombra

Oliveira, Helenira Ellery Marinho

Vasconcelos, Kirley Marques

Canuto, Laura Maria Bruno,

Marlon Vagner Valentim Martins,

Pablo Busatto Figueiredo,

Roselayne Ferro Furtado e

Sandra Maria Morais Rodrigues

Edição executiva

Celli Rodrigues Muniz

Revisão de texto

José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica

Rita de Cassia Costa Cid

(CRB-3/624)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Diagramação

José Cesamildo Cruz Magalhães

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados à Embrapa.

kaempferide and amburoside A, are responsible for its bronchodilator, analgesic and anti-inflammatory activities. In this context, the objective of this study was to optimize the extraction of amburoside A from the stem bark of cumaru, by evaluating the effect of different processes: Soxhlet, Dynamic Maceration (DM) and Ultrasound Assisted Extraction (UAE). Different solvents (water, ethanol and water + ethanol 1:1 v/v) were used. Also, an experimental design was carried out to evaluate the influence of some variables (power and time) on the extraction and removal of the sugars from the extract by two processes: adsorption and fermentation. The extracts obtained by DM presented the highest levels of the compound of interest, mainly in the extractions performed with water + ethanol (1:1). Similar concentrations of amburoside were obtained by UAE. For this process, we found that the variables power and power x time interaction were significant, as a result the best extraction of amburoside A was achieved by applying 100% power for 6 min. Regarding the sugar removal, the adsorption process was more efficient than fermentation, however both methods reduced the concentration of amburoside A. Finally, we demonstrated that cumaru extract can be produced with good content of amburoside A through DM or UAE, which are clean processes and have lower energy costs than the conventional method by Soxhlet.

Index terms: cumaru, amburoside A, Soxhlet, dynamic maceration, ultrasound.

Introdução

Amburana cearensis A. C. Smith (sin. *Torresea cearensis* Fr. All) pertence à família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, sendo, ao lado da *Amburana acreana*, os únicos representantes do gênero. Esta espécie é popularmente chamada de imburana-de-cheiro, cerejeira e cumaru, sendo o último o mais utilizado, causando confusões com outra leguminosa homônima, chamada *Dipteryx odorata*, ambas ricas em cumarina. Já o termo imburana costuma provocar iguais equívocos na identificação, por se referir também à *Commiphora leptophloeos* (Burseraceae), conhecida comumente como imburana-de-espinho (Maia, 2004).

Embora nativa do sertão nordestino e típica da Caatinga, o cumaru pode ser encontrado praticamente em toda América do Sul (do Peru à Argentina). Seu tronco é revestido por uma casca de cor castanho-escuro, com uma parte externa que se solta em camadas finas, formando manchas

vermelho-pardacentas e lisas. Esta espécie se encontra ameaçada de extinção devido ao uso predatório de sua madeira (Almeida et al., 2010).

O uso medicinal do cumaru motivou a realização de estudos científicos que comprovassem a sua indicação para o tratamento de afecções respiratórias. Ensaio clínico em extrato hidroalcoólico da casca do caule evidenciaram as atividades broncodilatadora, analgésica e anti-inflamatória (Canuto et al., 2008). Estudos de compostos isolados mostraram que o isocampferídio e o amburoside A também contribuem para atividade farmacológica da planta. O efeito de relaxante muscular em traqueias de cobaias evidenciou a ação broncodilatadora do isocampferídio (Leal et al., 2006a). Devido à sua ação antioxidante, o amburoside A possui atividade hepatoprotetora e neuroprotetora (Leal et al., 2008).

Segundo Canuto et al. (2010a), os principais compostos encontrados na casca do caule de cumaru são: cumarina, responsável pelo odor peculiar; os flavonoides isocampferídio, campferol e afrormosina; os glicosídeos fenólicos amburoside A e B; os ácidos fenólicos ácido vanílico e ácido protocatecuico; e quantidades abundantes de sacarose.

Pertencentes à família de glicosídeos fenólicos, os amburosideos foram encontrados pela primeira vez em *Amburana cearensis*. A redução do ácido *p*-hidroxi-benzoico a álcool *p*-hidroxi-benzílico leva à biossíntese do amburoside A por meio da glicosilação do éster com UDPglicose; porém, quando o ácido *p*-hidroxi-benzílico é esterificado com ácido vanílico, ocorre a formação do amburoside B (Canuto, 2007). Estudos realizados mostraram que o amburoside A apresenta atividade neuroprotetora em células mesencefálicas, indicando potencial uso terapêutico contra doenças neurodegenerativas (Leal et al., 2005).

Muitos estudos têm sido realizados para extração de compostos fenólicos em plantas, frutas e sementes, sendo a extração por Soxhlet a mais utilizada. No entanto, essa técnica conduz à perda de fenólicos devido à hidrólise, oxidação e decomposição durante a extração. Novas técnicas têm sido desenvolvidas para extração de compostos fenólicos em plantas, tais como: extração assistida por ultrassom, extração por micro-ondas, extração por maceração dinâmica, extração por solvente acelerado e extração com fluido supercrítico (Banjoo; Nelson, 2005).

A maceração dinâmica e a extração assistida por ultrassom se destacam por serem métodos simples, de fácil execução e relativamente baratos (Cerino et al., 2023; Wang et al., 2013). A maceração dinâmica consiste em colocar o material vegetal

em contato contínuo com um solvente, sob agitação, em temperatura controlada (Cerino et al., 2023).

A extração assistida por ultrassom tem como vantagens o tempo de extração e a quantidade de solvente reduzidos (Charpe; Rathod, 2012). A eficiência da técnica ocorre devido à cavitação acústica no solvente pela passagem de uma onda ultrassônica, permitindo uma maior penetração do solvente. A cavitação forma microbolhas, que aumentam e diminuem de tamanho, fazendo com que haja ciclos de expansão e compressão até que as bolhas implodem, liberando grandes quantidades de energia, ocasionando o aumento da pressão na região próxima à implosão, gerando aumento da turbulência do líquido, ocasionando o rompimento das células vegetais e facilitando a difusão do solvente para o interior da matriz, que, junto ao calor liberado pela implosão, aumenta a solubilidade dos analitos e a eficiência da extração (Castro; Priego-Capote; Peralbo-Molina, 2011).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver processos de extração eficientes e limpos para o amburosídeo A presente na casca do caule do cumaru, bem como reduzir o teor de açúcares presente no extrato.

Material e métodos

Material botânico

O pó da casca do caule do cumaru (*A. cearensis*) utilizado neste estudo foi fornecido pelo Polo Moveleiro de Marco, Ceará. A autorização de pesquisa foi concedida pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado por meio do cadastro A4407D7.

Processos de extração do amburosídeo A

O processo de extração foi realizado por meio de três métodos distintos: Soxhlet, maceração dinâmica e ultrassom. Os solventes utilizados foram etanol 95% P.A. e água ultrapura obtida por deionizador. As extrações foram realizadas em triplicata e, com exceção da extração em Soxhlet, que ocorreu somente com a utilização de etanol como solvente, os demais processos foram realizados com etanol, água e água + etanol (1:1, v/v). Os extratos foram centrifugados (1.370 g por 15 min), filtrados a vácuo, armazenados em garrafas de vidro (330 mL) a -18 °C.

Soxhlet

As extrações foram realizadas utilizando-se 5 g da amostra em cartucho de extração com 100 mL

de etanol (1:20, m/v) em três tempos diferentes: 4, 6 e 8 horas.

Maceração dinâmica (MD)

O processo de extração por maceração dinâmica (MD) ocorreu em um evaporador rotativo a 90 °C durante 2 horas com rotação constante de 120 rpm, sem a utilização do vácuo, para que não ocorresse a evaporação do solvente (água, etanol, água/etanol 1:1). A relação amostra-solvente foi de 1:20 (m/v) adicionada em balão volumétrico de 250 mL. O etanol condensado retornou ao balão, mantendo a relação massa/volume constante durante todo o processo de extração.

Extração assistida por ultrassom (EAU)

Etapa I

Para a extração assistida por ultrassom (EAU), os extratos foram obtidos em um ultrassom de ponteira (500 W de potência, e ponteira de 4 mm). As extrações ocorreram com ajuste da potência para 50, 75 e 100%. Foram utilizados 5 g da amostra em um béquer de 200 mL, ao qual foram adicionados 100 mL de solvente (água, etanol, água/etanol 1:1), correspondendo a uma razão 1:20. As extrações foram realizadas por 2, 4 e 6 min, em intervalos de 1 min para evitar o superaquecimento do sistema.

Etapa II

Nesta etapa da EAU, foi adotado um delineamento composto central. O experimento consistiu em 15 ensaios, sendo doze pontos fatoriais e três repetições no ponto central, tendo como variável dependente a concentração de amburosídeo A. A Tabela 1 apresenta os valores numéricos e codificados das variáveis independentes adotadas. O efeito das variáveis selecionadas foi analisado em relação à concentração de amburosídeo A, utilizando-se um programa de estatística.

Processo de remoção de açúcares

Remoção por adsorção

Para a análise de saturação da coluna e de remoção da sacarose por adsorção, foi utilizado o extrato selecionado obtido por ultrassom com uma mistura de água/etanol (1:1), aplicando-se 100% de potência durante 6 min em um equipamento com sistema de leito fixo (coluna 2,6 x 45,7 cm) equipado com bomba e uma coluna de gel de divinilbenzeno-estireno sulfonado (20–60 mesh).

Tabela 1. Valores numéricos e codificados das variáveis independentes para a extração assistida por ultrassom de amburosídeo A.

Variáveis	Codificação		
	-1	0	1
Potência (%) (X_1)	50	75	100
Tempo (min) (X_2)	2	4	6

Etapa I

Na análise de saturação da coluna, foi realizada uma limpeza prévia na coluna com água deionizada durante 25 min, a uma vazão de 3 mL/min. Em seguida, o extrato (água + etanol, 1:1, 100% potência) foi bombeado através da coluna com a mesma vazão. Após o preenchimento da coluna pelo extrato, a cada 2 min foram realizadas coletas de amostras em tubos de ensaio até todo volume de extrato passar pela coluna.

Etapa II

Uma porção de 1 L de extrato do cumaru passou pelo mesmo processo de limpeza da coluna da etapa I. Em seguida, o fluxo foi acionado passando o extrato através da coluna a uma vazão de 3 mL/min de água/etanol (1:1). A cada 25 min, o processo foi interrompido para limpeza da coluna com água deionizada por 10 min. Após a limpeza, o extrato foi novamente separado através da coluna. O processo foi repetido até todo volume do extrato ter sido bombeado através da coluna.

Remoção por fermentação

Cinco litros do extrato obtido em ultrassom (6 min e potência de 100%, etapa I) foram concentrados em evaporador rotativo a 60 °C até atingir um volume de 300 mL. Ao extrato concentrado de cumaru, foi adicionada uma massa de fermento *Saccharomyces cerevisiae*, relativo a 5% do seu volume, deixando-o agir por 5 horas a 30 °C. Em seguida, o extrato foi centrifugado a 1.370 g por 15 min, filtrado a vácuo e armazenado em garrafa de vidro de 330 mL.

Determinação da concentração de amburosídeo A

A determinação da concentração do amburosídeo A foi baseada no método previamente descrito por Canuto (2007). De forma concisa, uma alíquota de 4 mL de cada extrato foi concentrada em uma centrífuga a vácuo, em seguida suspensa em 1 mL de metanol e filtrada em membranas de nylon (0,45 µm). Uma alíquota de 100 µL dessa solução

foi diluída em 1 mL de metanol. As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) e um espectrômetro de massas (EM) do tipo ion trap. Uma coluna de octadecilsilano (5 µm, 4,6 x 250 mm) foi usada a 30 °C com um fluxo de 400 µL/min. A fase móvel foi composta por água deionizada, acetonitrila e ácido fórmico, com a combinação de A (0,1% de ácido fórmico em água) e B (0,1% de ácido fórmico em acetonitrila). O gradiente foi variado linearmente a partir de 30% a 50% B (v/v) em 10 min, para 80% B a 15 min e, finalmente, para 100% B a 16 min e mantido a 100% B até 20 min. O comprimento de onda do DAD foi selecionado para 270 nm. Os espectros de massas foram simultaneamente adquiridos usando-se ionização por electrospray nos modos positivo e negativo (PI e NI), com voltagem de fragmentação de 80 V para uma faixa de massas de 100–2.000 u.m.a. As condições de operação incluíram: pressão do gás de secagem de 35 psi; pressão do nebulizador de 40 psi; temperatura do gás de secagem de 370 °C; voltagem de 3.500 V para PI e NI; e voltagem de campo do spray de 600 V. A identificação dos compostos foi primariamente baseada nos espectros de UV, espectros de massas e na injeção de um padrão autêntico, o qual foi previamente isolado por Canuto (2007). A quantificação foi realizada por meio da curva de calibração de amburosídeo A (1-60 µg/mL). Os resultados da concentração de amburosídeo A foram expressos em mg/100g de casca de caule de cumaru.

Determinação da concentração de açúcares

A determinação de sacarose foi feita nos extratos obtidos por ultrassom, bem como nos extratos submetidos aos processos de fermentação e adsorção, empregando-se o método descrito previamente por López e Gómez (1996). Uma alíquota de 2 mL de cada extrato foi filtrada a vácuo em cartucho de extração de fase sólida (SPE) contendo 500 mg do adsorvente octadecilsilano (SPE-C18), previamente condicionado com metanol (6 mL). A concentração de sacarose foi determinada por cromatografia

líquida de alta eficiência (CLAE), empregando-se um cromatógrafo acoplado a um detector de índice de refração e equipado com uma coluna analítica à base de um polímero divinilbenzeno-estireno reticulado sulfonado e impregnado com cátions de chumbo (8 μ m, 300 x 7,7 mm ID) com uma pré-coluna contendo adsorvente similar (50 x 7,7 mm ID). A temperatura da coluna foi de 65 °C, e utilizou-se água deionizada com um fluxo isocrático de 0,6 mL/min. O tempo de análise foi de 35 min.

Resultados e discussão

Concentração de amburosídeo A nos diferentes processos de extração

Na Tabela 2, são apresentadas as concentrações de amburosídeo A na casca do caule de cumaru obtidas por Soxhlet, nos três tempos de extração, utilizando-se etanol como solvente. Como o aumento de temperatura tende a favorecer a solubilização das substâncias, foi observado que a concentração máxima de amburosídeo A ocorreu com 6 horas de

extração, uma vez que 4 horas não foram suficientes para extrair todo composto, enquanto 8 horas resultaram em uma diminuição da concentração. Logo, supõe-se que os fenômenos difusivos sejam mais intensos em um período de 4 a 8 horas. Segundo Muñiz-Márquez et al. (2013), uma extração em elevada temperatura por um longo tempo pode levar à decomposição térmica de compostos bioativos.

As concentrações de amburosídeo A na casca do caule de cumaru, obtidas por MD utilizando-se como solvente etanol, água/etanol (1:1) e água, são mostradas na Tabela 3. Para a maceração dinâmica, todos os extratos obtidos apresentaram teores de amburosídeo A superiores aos do preparado em Soxhlet, mas principalmente empregando-se água/etanol (1:1).

Hussain et al. (2012), Wijekoon et al. (2011) e Gironi; Piemonte (2011) também obtiveram maiores rendimentos na extração de compostos fenólicos de amendoim, castanheira e bastão-do-imperador (*Etlíngera elatior*), respectivamente, usando a mistura água e etanol.

Tabela 2. Concentração de amburosídeo A (mg/100 g de casca de cumaru) em extração por Soxhlet utilizando-se etanol como solvente.

Tempo de extração (horas)	Amburosídeo A (mg/100 g de casca de cumaru)
4	421,9 $\pm$ 68,6
6	522,2 $\pm$ 24,3
8	504,0 $\pm$ 34,9

Tabela 3. Concentração de amburosídeo A (mg/100 g de casca do caule de cumaru) obtido pelo processo de maceração dinâmica (MD).

Processo	Concentração amburosídeo A (mg/100 g)		
	Etanol	Água + etanol (1:1)	Água
Maceração dinâmica (MD)	878,0 $\pm$ 31,0	931,6 $\pm$ 65,0	666,0 $\pm$ 61,9

Nos extratos obtidos com EAU (Tabela 4), o maior rendimento foi alcançado com água/etanol (1:1) na potência máxima (100%); contudo, o efeito da potência variou conforme o solvente. Na potência de 50%, os extratos preparados com etanol e mistura água/etanol exibiram valores muito próximos, tendo o extrato etanólico uma concentração de amburosídeo A um pouco superior. Ao aumentar a potência do ultrassom para 75%, novamente a extração em etanol apresentou os melhores resultados,

correspondendo a aproximadamente 11% maior do que o extrato da mistura água/etanol (1:1) e 88% maior em relação ao extrato aquoso. Para as extrações com uma potência de 100%, os melhores resultados de extração de amburosídeo A foram obtidos com a mistura água/etanol (1:1), superando os resultados obtidos com as demais potências aplicadas. Nessa condição, o extrato hidroetanólico apresentou um resultado de aproximadamente 64% e 92% superior em relação aos extratos etanólico e

aquoso, respectivamente. Quanto maior a potência, maior será a amplitude da onda propagadas através do meio líquido, gerando um aumento no colapso das bolhas sobre as estruturas da amostra (Hemwimol et al., 2006). Quando essas ondas atingem a superfície do material, geram uma força que, paralela à superfície, produz uma onda de cisalhamento e cavitação, rompendo a estrutura do material e melhorando a eficiência de extração (Fellows, 2009). Independentemente da potência, o extrato aquoso apresentou as menores concentrações de amburosídeo A em relação aos demais solventes.

Ao analisar a variável tempo no processo de EAU, pode-se verificar que o aumento do tempo de extração não influenciou nas extrações com etanol e na mistura água/etanol (1:1) na potência de 50%, ocorrendo um decréscimo na extração em meio aquoso. Na potência em 75%, o incremento no tempo de extração só não foi favorável para o extrato hidroetanólico.

Segundo Maran et al. (2013), o colapso de microbolhas produzido pela cavitação próxima à amostra pode reduzir a concentração do composto. Um efeito semelhante foi observado por Sun et al. (2011) na extração de β -caroteno em casca de frutas cítricas utilizando EAU. De acordo com os autores, a redução de concentração ocorreu devido à combinação de cavitação e efeitos térmicos, em que a presença excessiva de bolhas pode dificultar a propagação de ondas. O aumento subsequente do rendimento ocorre por causa da combinação de absorção de calor e redução do efeito da cavitação.

Nos extratos produzidos com a mistura água/etanol (1:1) na potência de 100%, o aumento do tempo de extração proporcionou um aumento na

concentração de amburosídeo A de 49% e 70% superiores em relação às potências de 50% e 75%, respectivamente.

Para Ko, Cheigh e Chung (2014), tempo de extração por EAU inferior a 20 min pode ser apropriado para ingredientes ativos, uma vez que o ultrassom aumenta os poros das paredes celulares das plantas, resultando em uma melhor transferência de massa do soluto para o solvente, reduzindo o tempo de extração.

Chen et al. (2007) relataram, em seu estudo de extração de antocianinas em framboesa vermelha utilizando EAU, que o tempo de extração prolongado pode levar à degradação do composto fenólico. Para os extratos aquosos, houve uma redução da concentração de amburosídeo A com o aumento do tempo de extração nas potências de 50% e 100%, resultando nas concentrações mais observadas.

Dos solventes utilizados para extração de amburosídeo A na EAU, a mistura água/etanol (1:1) com 100% de potência apresentou a maior quantidade deste composto bioativo. O melhor desempenho com o uso da mistura água/etanol (1:1) pode ser atribuído à baixa viscosidade apresentada pela mistura, alterando, assim, a estrutura da matriz, permitindo uma boa penetração do solvente e melhorando o intumescimento do material vegetal.

Segundo os autores Sahin; Samli (2013), a água pura, mesmo sendo mais polar, possui uma alta viscosidade em relação à mistura em etanol. O etanol, por sua vez, interrompe a ligação entre o soluto e a matriz vegetal. Essas características contribuem para a mistura água/etanol (1:1) ter um melhor desempenho na extração de fenólicos em plantas.

Tabela 4. Concentração de amburosídeo A (mg/100 g de casca do caule de cumaru) obtido pelo processo de extração assistida por ultrassom (EAU).

Potência (%)	Solventes	Tempo		
		2 min	4 min	6 min
50%	Etanol	248,5 $\pm$ 24,4	248,4 $\pm$ 23,9	239,7 $\pm$ 1,7
	Água + etanol (1:1)	236,1 $\pm$ 15,6	232,6 $\pm$ 7,1	236,6 $\pm$ 17,8
	Água	34,3 $\pm$ 3,6	28,8 $\pm$ 8,3	18,4 $\pm$ 3,2
75%	Etanol	153,1 $\pm$ 13,2	162,0 $\pm$ 2,4	156,9 $\pm$ 11,6
	Água + etanol (1:1)	138,2 $\pm$ 5,6	154,3 $\pm$ 8,2	127,5 $\pm$ 0,8
	Água	23,7 $\pm$ 5,8	39,0 $\pm$ 11,0	41,4 $\pm$ 2,9
100%	Etanol	170,6 $\pm$ 13,9	160,4 $\pm$ 17,6	176,2 $\pm$ 0,15
	Água + etanol (1:1)	431,8 $\pm$ 7,1	434,4 $\pm$ 43,1	515,9 $\pm$ 28,8
	Água	53,3 $\pm$ 13,8	35,3 $\pm$ 2,5	24,9 $\pm$ 6,5

As amostras de amburosídeo A obtidas do extrato da mistura água/etanol (1:1) da casca de cumaru pelos diferentes processos de extração foram injetadas em CLAE-EM, resultando na separação do pico com tempo de retenção entre 7,85 min e 10 min. Na Figura 1, pode-se observar os cromatogramas do extrato de casca do caule de cumaru nos diferentes

processos de extração, utilizando-se água/etanol (1:1) nas extrações em ultrassom e maceração dinâmica, e somente etanol na extração em Soxhlet. O pico do amburosídeo A teve uma maior intensidade nas extrações realizadas com a mistura água/etanol (1:1).

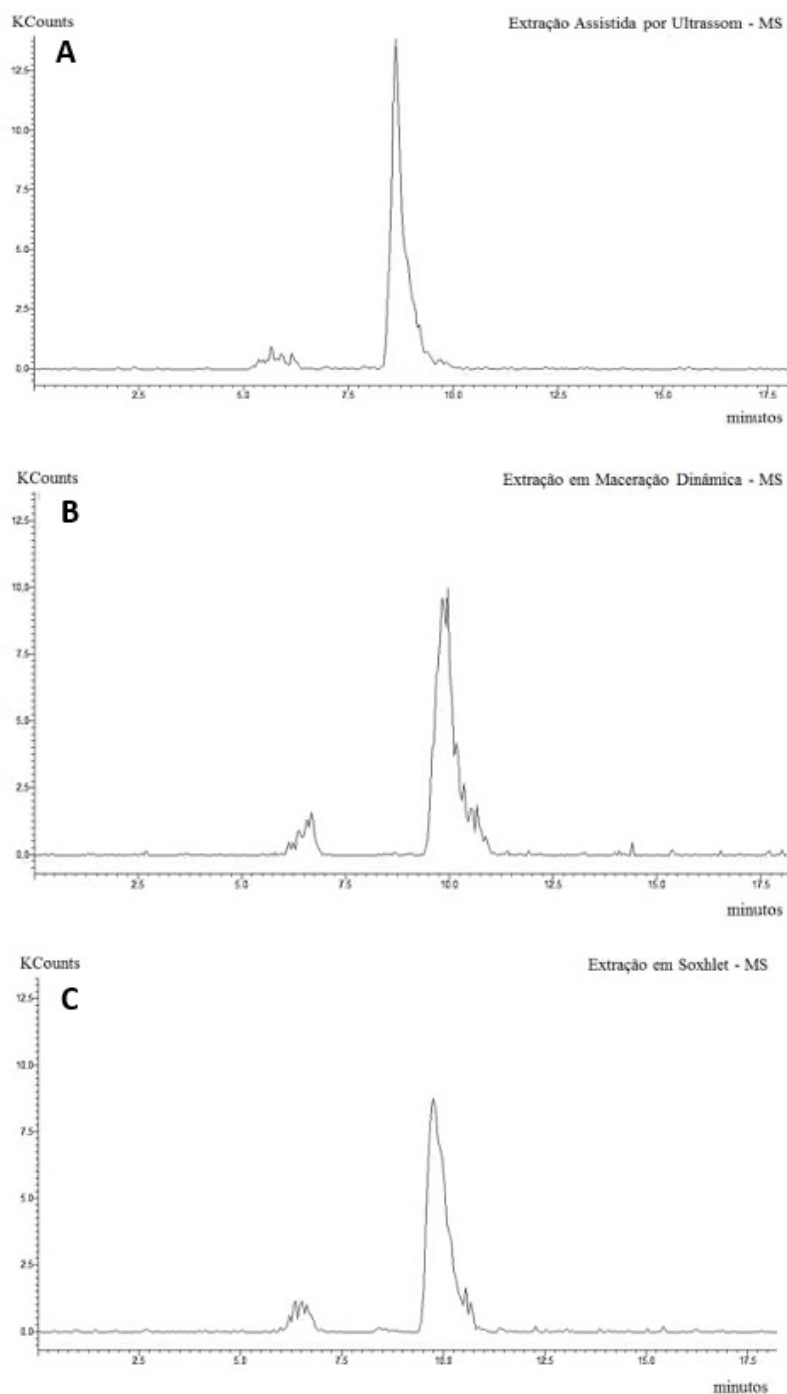


Figura 1. Cromatogramas de CLAE-EM dos extratos da casca de cumaru utilizando-se água + etanol (1:1) nas extrações por ultrassom (A) e maceração dinâmica (B), além de etanol na extração por Soxhlet (C).

Avaliação da potência e do tempo na extração assistida por ultrassom

Os testes abaixo avaliam o efeito da potência e do tempo de extração. Os resultados experimentais para as diferentes condições de extração do amburosídeo A da casca do caule de cumaru obtido pelo delineamento fatorial completo, usando-se água/etanol (1:1) como solvente são mostrados na Tabela 5.

Foram realizados 15 experimentos para se avaliar o efeito de diferentes variáveis na quantidade de

amburosídeo A. Na Tabela 6, pode-se observar os valores da análise de variância do modelo para extrações em ultrassom, utilizando-se como solvente a mistura água/etanol (1:1).

De acordo com a ANOVA, o coeficiente de determinação obtido foi de $R^2 = 0,73$ e considerado satisfatório. O coeficiente de correlação quantifica a qualidade do ajustamento, pois fornece uma medida de proporção da variância na variável dependente que é explicada pela(s) variável(is) independente(s) (Rodrigues; lemma, 2009).

Tabela 5. Delineamento experimental da extração de amburosídeo A da casca do caule de cumaru e resposta em diferentes condições de extração assistida por ultrassom, usando-se água + etanol (1:1, v/v) como solvente.

Ensaio	Potência (%)	Tempo (min)	Amburosídeo A (mg/100 g)
1	50	2	251,1
2	50	2	219,9
3	50	2	237,3
4	100	2	495,7
5	100	2	436,9
6	100	2	426,8
7	50	6	224,0
8	50	6	249,1
9	50	6	186,0
10	100	6	495,5
11	100	6	536,2
12	100	6	621,5
13 (C)	75	4	160,8
14 (C)	75	4	157,0
15 (C)	75	4	145,1

Tabela 6. Análise de Variância para extração de amburosídeo A da casca do caule de cumaru, empregando-se água + etanol (1:1) como solvente em ultrassom.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média quadrática	Valor F
Potência (L)	225556,92	1	225556,92	25,35
Tempo (L)	4985,76	1	4985,76	
Potência x tempo	9804,08	1	9804,08	
Resíduo	106546,77	1	106546,77	
Erro puro	13680,01	10	1368,0	
Total	360573,55	14		

A equação 1 representa o modelo fatorial completo para as variáveis, considerando-se 95% de confiança e $F = 25,35$, representando a validação do modelo, uma vez que o F_{cal} foi superior ao $F_{\text{tab}} = 3,40$.

$$y = 322,86 + 274,20x_1 + 40,76x_2 + 57,16x_1x_2 \quad (1)$$

onde: y = concentração de amburosídeo A (mg / 100 g de casca); x_1 = potência; e x_2 = tempo.

No Diagrama de Pareto (Figura 2), os valores absolutos de t_{cal} , também denominados efeitos padronizados, fornecem as alturas das barras, e o valor de t_{tab} fornece o limite a partir do qual os efeitos são significativos. Assim, pode-se observar que na

extração realizada com água + etanol (1:1) a variável potência (1) e a interação potência x tempo (1 x 2) foram significativas; já a variável tempo (2) não foi significativa ao nível de 95% de confiança. A potência apresentou um efeito positivo, ou seja, a elevação desta variável promove um aumento no teor de amburosídeo A. O mesmo não aconteceu no para a extração realizada com etanol, uma vez que somente a potência foi significativa. Nas extrações realizadas com água, o Diagrama de Pareto dessa extração mostra que as alterações das variáveis potência e tempo, e a interação entre elas, não forneceu nenhum efeito significativo no processo de extração do amburosídeo A.

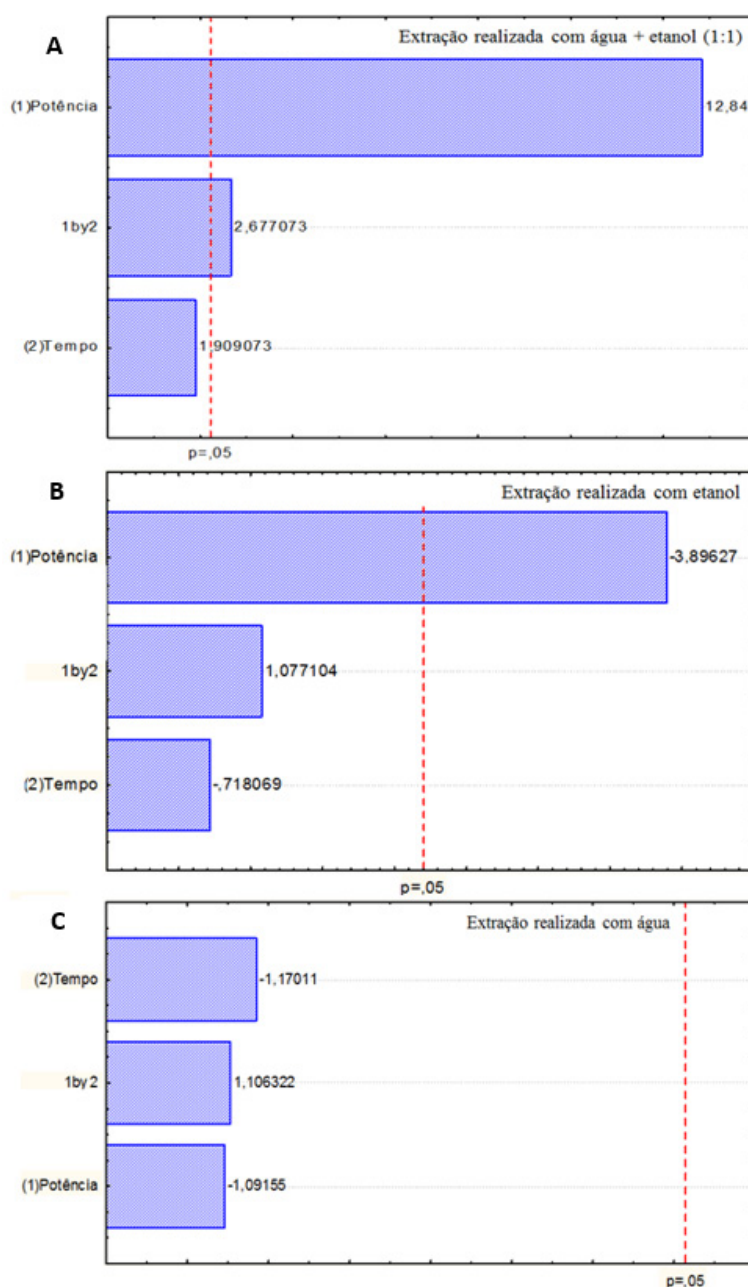


Figura 2. Diagrama de Pareto para concentração de amburosídeo A extraído em ultrassom utilizando-se água + etanol (1:1) (A), etanol (B) e água (C).

O efeito da variável Potência e da interação Potência x Tempo, na extração realizada com água/etanol (1:1) como solvente, também é demonstrado no gráfico de superfície de resposta (Figura 3), em que pode-se observar que o aumento dessas variáveis resulta em um aumento no teor de amburosídeo A. Efeito semelhante foi encontrado por

Fernández-Ronco et al. (2013) na extração de compostos bioativos em *Capsicum annuum* utilizando EAU. Além disso, as análises estatísticas revelaram que o aumento das variáveis Potência e Tempo não interfere significativamente para o aumento da extração de amburosídeo A.

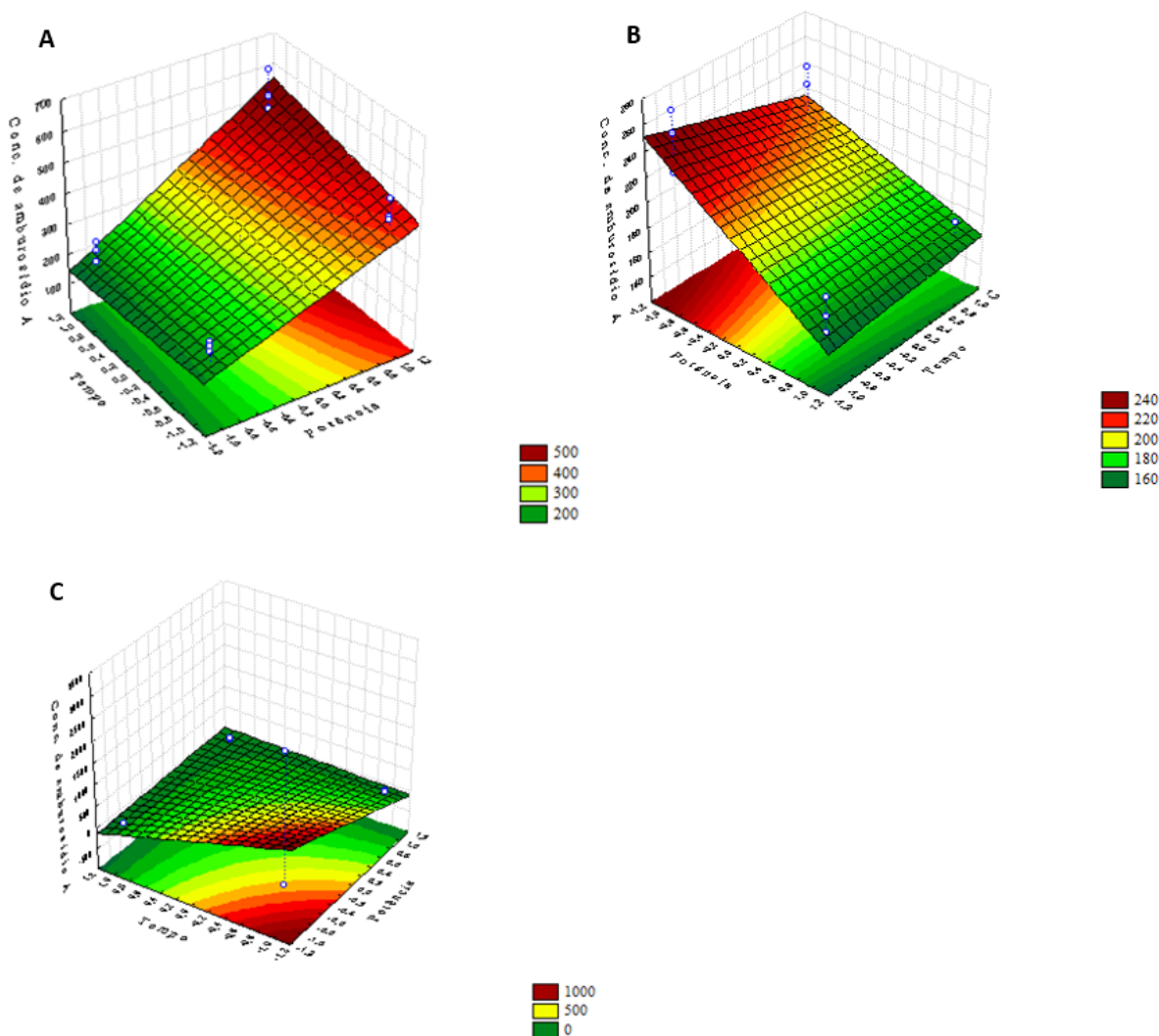


Figura 3. Superfície de resposta para a concentração de amburosídeo A em extratos da casca do caule de cumaru preparados em ultrassom, utilizando-se água + etanol (1:1) (A), etanol (B) e água (C).

Saturação da coluna

O tempo necessário para se atingir o equilíbrio, condição de completa saturação, foi verificado pela isoterma de adsorção obtida pelo método dinâmico da análise frontal. A Figura 4 apresenta as curvas de rupturas da sacarose, glicose e frutose na resina adsorvente, em que o tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio foi de 20 min para sacarose e aproximadamente 23 min para glicose e frutose.

Determinação da concentração de sacarose

No extrato aquoso da casca do caule de cumaru estão presentes, além do amburosídeo A, outros compostos, dentre eles a sacarose, que foi usada como marcador para presença de açúcares. Dessa forma, foram realizados um processo de fermentação e um de adsorção com o objetivo de eliminar ou reduzir a carga de interferentes em um eventual processo de purificação do amburosídeo A.

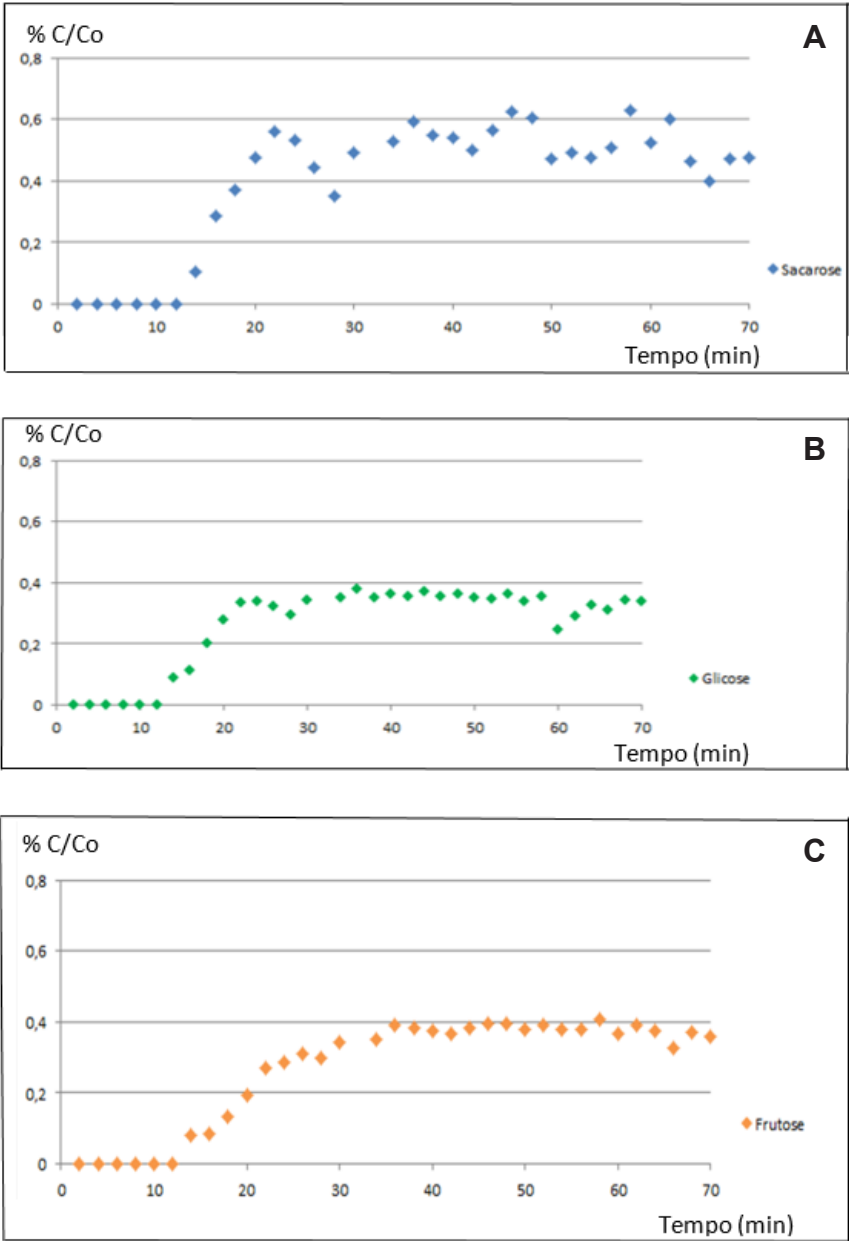


Figura 4. Isoterma de equilíbrio de adsorção de sacarose (A), glicose (B) e frutose (C) em extrato de cumaru.

Adsorção

A análise de adsorção de sacarose pela coluna contendo a resina adsorvente mostrou-se bastante eficiente, uma vez que toda sacarose presente foi removida do extrato. Porém, a remoção da sacarose ocasionou uma redução de aproximadamente 54%

da concentração de amburosídeo A presente no extrato (Tabela 7). Essa redução pode ter sido ocasionada pela adsorção de parte do amburosídeo A à resina em virtude da unidade de glicose presente em sua estrutura química (Figura 5).

Tabela 7. Concentração de sacarose e amburosídeo A nos extratos de cumaru não purificado e purificado.

Extrato de cumaru	Concentração de sacarose (mg/L)	Concentração de amburosídeo A (g/L)
Não purificado	752,0	6,8
Purificado	0	3,1

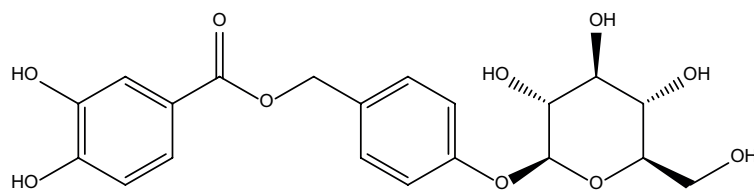


Figura 5. Estrutura química do amburosídeo A.

Fermentação

A análise de sacarose foi realizada no extrato antes e após a fermentação. Na Tabela 8, pode-se observar uma redução na concentração de sacarose de 49%; porém, o processo de fermentação

ocasionou uma redução de 26,2% na concentração do amburosídeo A. Essa redução pode ter sido provocada pela complexação dos compostos com a parede da levedura ou podem ter sido consumidos.

Tabela 8. Concentração de sacarose e amburosídeo A nos extratos concentrados de cumaru não fermentado e fermentado.

Extrato de cumaru	Concentração de sacarose (mg/L)	Concentração de amburosídeo A (g/L)
Não fermentado	266,4	11,4
Fermentado	130,4	8,4

Conclusões

A maceração dinâmica (MD) é o processo mais eficiente para extração de amburosídeo A da casca do caule de cumaru.

Os extratos obtidos com a mistura água/etanol (1:1) apresentaram maiores quantidades de amburosídeo A, em relação aos outros solventes, tanto no processo de MD quanto em extração assistida por ultrassom (EAU), realizada com 100% de potência por 6 min.

Enfim, demonstramos que o extrato de cumaru pode ser produzido com bom teor de amburosídeo A por meio de MD ou EAU, que são processos limpos e de menores custos energéticos do que o método convencional por Soxhlet. Ademais, EAU tem o diferencial de ser um processo 20 vezes mais rápido do que a MD.

Com relação à remoção de açúcar, o processo de adsorção foi mais eficiente para remover completamente a sacarose, porém o processo fermentativo causou menor perda amburosídeo A. Logo, a escolha desse processo depende da aplicação industrial do extrato.

Agradecimento

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) pela bolsa de mestrado de MVL.

Referências

- ALMEIDA, J. R. G. S.; GUIMARÃES, A. G.; SIQUEIRA, J. S.; SANTOS, M. R. V.; LIMA, J. T.; NUNES, X. P.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. *Amburana cearensis* – uma revisão química e farmacológica. **Scientia Plena**, v. 6, n. 11, p. 1-8, 2010.
- BANJOO, D. R.; NELSON, P. K. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. **Journal of Chromatography A**, 1066, 9-18, 2005.
- CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F.; PERALBO-MOLINA, A. The role of ultrasound in analytical derivatizations. **Journal of Chromatography B**, v. 879, p. 1189-1195, 2011.
- CANUTO, K. M. **Aspectos químicos do estudo interdisciplinar (Química – Agronomia – Farmacologia) de *Amburana cearensis* A. C. Smith**. 2007. 313 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2007.
- CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R.; BEZERRA, A. M. E.; LEAL, L. K. A. M.; VIANA, G. S. B. **Uso de plantas jovens de *Amburana cearensis* A. C. Smith: alternativa para preservação e exploração econômica da espécie**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008. p. 24.
- CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R.; BEZERRA, A. M. E. Estudo fitoquímico de espécimens cultivados de cumaru

(*Amburana cearensis* A. C. Smith). **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 662-666, 2010a.

CERINO, M. C.; PINELA, J.; CALEJA, C.; SAUX, C.; PEREIRA, E.; BARROS, L. Dynamic maceration of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit waste: an optimization study to recover anthocyanins. **Agronomy**, 13, 2202, 2023.

CHARPE, T. W.; RATHOD, V. K. Extraction of glycyrrhizic acid from licorice root using ultrasound: Process intensification studies. **Chemical Engineering and Processing**, v. 54, p. 37-41, 2012.

CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, p. 767-778, 2007.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology: principles and practice**. 3. ed. Cambridge: Woodhead, 2009. 912 p.

FERNÁNDEZ-RONCO, M. P.; GRACIA, I.; DE LUCAS, A.; RODRÍGUEZ, J. F. Extraction of *Capsicum annuum* oleoresin by maceration and ultrasound-assisted extraction: influence of parameters and process modeling. **Journal of Food Process Engineering**, n. 36, p. 343-352, 2013.

GIRONI, F.; PIEMONTE, V. Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. **Chemical Engineering Research and Design**, n. 89, p. 857-862, 2011.

HEMWIMOL, S.; PAVASANT, P.; SHOTIPRUK, A. Ultrasound-Assisted Extraction of Anthraquinones from Roots of *Morinda citrifolia*. **Ultrasonics Sonochemistry**, 13, 543-548, 2006.

HUSSAIN, A. I.; CHATHA, S. A. S.; NOOR, S.; KHAN, Z. A.; ARSHAD, M. U.; RATHORE, H. A.; SATTAR, M. Z. A. Effect of Extraction Techniques and Solvent Systems on the Extraction of Antioxidant Components from Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Hulls. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 4, p. 890-896, 2012.

KO, M. J.; CHEIGH, C. I.; CHUNG, M. S. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). **Food Chemistry**, v. 14, p. 147-155, 2014.

LEAL, K. A. M.; NOBRE JÚNIOR, H. V.; CUNHA, G. M. A.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; OLIVEIRA, R. A.; SILVEIRA, E. R.; CANUTO, K. M.; VIANA, G. S. B. Amburoside A, a glucoside from *Amburana cearensis*, protects mesencephalic cells against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. **Neuroscience Letters**, 388, p. 86-90, 2005.

LEAL, K. A. M.; COSTA, M. F.; PITOMBEIRA, M.; BARROSO, V. M.; SILVEIRA, E. R.; CANUTO, K. M.; VIANA, G. S. B. Mechanisms underlying the relaxation induced by isokaempferide from *Amburana cearensis* in the guinea-pig isolated trachea. **Life Sciences**, 79, p. 98-104, 2006a.

LEAL, L. K.; CANUTO, K. M.; DA SILVA COSTA, K. C.; NOBRE-JÚNIOR, H. V.; VASCONCELOS, S. M.; SILVEIRA, E. R.; FERREIRA, M. V.; FONTENELE, J. B.; ANDRADE, G. M.; DE BARROS VIANA, G. S. Effects of amburoside A and isokaempferide, polyphenols from *Amburana cearensis*, on rodent inflammatory processes and myeloperoxidase activity in human neutrophils. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, 104, p. 198-205, 2008.

LÓPEZ, E. L.; GÓMEZ, E. F. Simultaneous Determination of the Major Organic Acids, Sugars, Glycerol, and Ethanol by HPLC in Grape Musts and White Wines, **Journal of Chromatographic Science**, v. 34, n. 5, p. 254-257, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/34.5.254>.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D & Z, 2004. p. 413.

MARAN, J. P.; MANIKANDAN, S.; NIVETHA, C. V.; DINESH, R. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. **Arabian Journal of Chemistry**, 2013.

MUÑIZ-MÁRQUEZ, D. B.; MARTÍNEZ-ÁVILA, G. C.; WONG-PAZ, J. E.; BELMARES-CERDA, R.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; AGUILAR, C. N. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1149-1154, 2013.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 2. ed. Campinas: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009.

ROSTAGNO, M. A.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. **Journal of Chromatography A**, v. 1012, p. 119-128, 2003.

SAHIN, S.; SAMLI, R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 595-602, 2013.

SUN, Y.; LIU, D.; CHEN, J.; YE, X.; YU, D. Effects of different factors of ultrasound treatment on the extraction yield of the all-trans- β -carotene from citrus peels. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.18, p. 243-249, 2011.

WANG, X.; WU, Y.; CHEN, G.; YUE, W.; LIANG, Q.; WU, Q. Optimisation of ultrasound assisted extraction

of phenolic compounds from *Sparganii rhizoma* with response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 846-854, 2013.

WIJEKOON, M. M. J. O.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (*Etlingera elatior* Jack.) inflorescence. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 4-5, p. 615-619, 2011.



**Ministério da
Agricultura e Pecuária**