

## Caracterização química parcial e bioquímica de sementes de *Bauhinia forficata* link

Rozilaine A.P.G. Faria<sup>1</sup>, Manoel Andrade-Neto<sup>1</sup>, Luciano Silva Pinto<sup>2</sup>, Rolando Rivas Castellón<sup>4</sup>,  
Juan J. Calvete<sup>3</sup> & Benildo Sousa Cavada<sup>4</sup>

Depto. de Química Orgânica e Inorgânica Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE<sup>1</sup>, Depto. Botânica Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS<sup>2</sup>, Instituto de Biomedicina de Valencia, Valencia – España<sup>3</sup>, BioMol-Lab, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil<sup>4</sup>

**RESUMO.** Sementes quiescentes de *Bauhinia forficata* foram submetidas à caracterização bioquímica por meio de análise de ácidos graxos, fracionamento de proteínas e atividade hemaglutinante específica. A análise elementar da semente mostrou grande quantidade de proteína total e de lipídeos com 21,24 % e 19,45%, respectivamente. Na fração lipídica, o ácido linoléico foi o mais abundante com 46,47%. Com exceção das prolaminas, as diferentes frações protéicas (albuminas, globulinas, glutelinas ácidas e básicas) apresentaram atividade hemaglutinante contra hemácias de coelho tratadas e não tratadas com enzimas proteolíticas. A maior atividade hemaglutinante específica foi evidenciada na fração glutelinas ácidas (1.072,25 U.H./mg P) contra sangue de coelho tratado com tripsina. Os aminoácidos presentes em maior teor foram glutamina (16,20%) e valina (11,07%). Assim, por apresentarem alto valor energético as sementes de *Bauhinia forficata* são uma possível fonte opcional na alimentação.

**Palavras-chave:** *Bauhinia forficata*, nutrição humana, ácidos graxos, proteínas,

**SUMMARY.** Biochemical and chemical partial characterization of *Bauhinia forficata* Link seeds. Seeds of *Bauhinia forficata* species were submitted to biochemical characterization concerning fatty acids analysis, protein fractionization, and hemagglutinating activity. The seed elementary analysis showed a high protein and lipids contents with 21.24 % and 19.45 % respectively. The more abundant fatty acid was linoleic acid with 46.47 % of the lipidic fraction. With the exception of prolamins, the different proteic fractions (albumin, globulins, acid and basic glutelins) showed hemagglutinating activity against rabbit red cells no treated and treated with proteolytic enzymes. The fraction acid glutelin showed the higher specific hemagglutinating activity (1072.25 UH/mg P) against rabbit blood pre-treated with trypsin. Glutamin (16.20%) and Valin (11.07%) were the more abundant amino acids in the seeds. Therefore, *B. forficata* represent a possible optional source of food because exhibit a high energetic values.

**Key words:** *Bauhinia forficata*, human nutrition, fatty acids, proteins.

### INTRODUÇÃO

O táxon *Bauhinia* (família Leguminosae) compreende em torno de 300 espécies nativas dos trópicos e subtropicais, sendo que no Brasil 250 espécies nativas já foram catalogadas (1). Algumas destas espécies são muito utilizadas para fins ornamentais, como a *B. variegata* devido à beleza das flores (2), enquanto outras são muito utilizadas como hipoglicemiantes destacando-se *B. forficata* (3) e *B. retusa* (4). A maioria das espécies deste táxon são conhecidas popularmente como pata-de-vaca devido à morfologia de suas folhas. Existem vários estudos que relatam as propriedades medicinais de diferentes espécies do gênero *Bauhinia*, destacando-se as atividades depurativas, diuréticas, antiinflamatórias e hipocolesterolêmica (4-6). Atualmente, além dos estudos fitoquímicos e farmacológicos, alguns trabalhos estão sendo realizados no sentido de viabilizar as sementes dessas espécies como fontes alternativas de proteínas (7). Legumes e cereais são a base na dieta de toda sociedade,

mas a presença de fatores antinutricionais (polifenóis, lectinas, ácido fítico, grupos cianogênicos, inibidores de proteases, alcalóides e toxinas) limita o emprego de várias espécies de leguminosas na alimentação (8, 9). A necessidade de obtenção de fontes protéicas de baixo custo tem dirigido as pesquisas na busca de novas espécies vegetais alternativas que possam suprir estas deficiências, principalmente em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Porém, não basta apenas disponibilizar essas fontes protéicas sem antes realizar os estudos da presença de fatores antinutricionais bem como análise de toxicidade (10). Em algumas regiões da Índia são consumidas sementes de *Bauhinia* sp. tanto *in natura* quanto cozidas (11). Outros legumes selvagens também são consumidos, mas poucos estudos foram realizados para avaliar a qualidade protéica das sementes (12). O primeiro estudo realizado sobre a qualidade nutricional das sementes de *Bauhinia* foi realizado por Walters (13). Neste estudo, o autor analisou o teor de água, lipídeos, proteínas, carboidratos, fibras e cinzas em *B. articulata*. Alguns fatores antinutricionais, como

lectinas, freqüentemente são encontrados em sementes, porém podem se localizar em diferentes partes do vegetal, como raiz, caule e folha (14). As cascas de *Bauhinia* são ricas em taninos que se mostram como fatores antinutricionais como indicado por Prasad & Gupta (15) em ensaio de inibição da atividade das enzimas protopectinase e poligalacturonase. Para combater o ácido fítico, polifenóis e os inibidores de tripsina, Sindhu & Khetarpaul (9) sugerem além do aquecimento, a utilização da fermentação desses alimentos, ressaltando assim o valor nutritivo do grão, uma vez que o ácido fítico apresenta uma certa estabilidade ao calor. O presente trabalho objetivou realizar a caracterização química e bioquímica da composição da farinha da semente de *B. forficata*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

Sementes maduras de *Bauhinia forficata* foram coletadas no maciço de Baturité-CE. As sementes foram trituradas mecanicamente em moinho elétricas tipo Wiley (acoplado com peneira de 60 mesh) obtendo-se a farinha para as diferentes análises.

### Lipídios e ácidos graxos

O extrato lipídico total foi obtido por extrações sucessivas com N-Hexano e posteriormente o teor de ácidos graxos foi determinado segundo a técnica modificada de Matos (16), realizada em triplicatas de aproximadamente 2,0 gramas do extrato lipídico dissolvida em 60 ml de solução etanólica de KOH 0,6 N. A mistura reacional foi deixada em refluxo por 6 horas, acrescentado 20 ml de água destilada e extraída a matéria insaponificável com n-hexano Merck p.a. e a fração aquosa foi reservada. O insaponificável foi lavado com água e seco com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrado e concentrado em rotavapor. A fração aquosa reservada foi acidificada com HCl p.a. até pH 2,0 e levada para funil de separação e lavada com n-hexano Merck p.a., obtendo-se assim os ácidos graxos livres que foram posteriormente metilados com diazometano para obtenção dos ésteres metílicos.

### Proteínas solúveis

O teor de proteínas solúveis totais presentes nas diferentes frações protéicas da farinha de sementes de *B. forficata* foi determinado segundo o método descrito por Bradford (17) utilizando-se albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

### Fracionamento de proteínas das sementes

A farinha das sementes de *B. forficata*, foram submetidas à extração e fracionamento de proteína de acordo com sua solubilidade (globulinas, prolaminas, albuminas, glutelinas ácidas e básicas) (18). Inicialmente, cinco gramas da farinha foram deixadas em contato com uma solução salina (NaCl

0,5 M) na proporção de 1:10 (m/v) com agitação constante durante 4 horas à temperatura ambiente. Este material foi centrifugado a 9.000 g por 10 minutos, filtrado em papel filtro e o sobrenadante dialisado contra água destilada por 48 horas e centrifugado. O novo sobrenadante obtido continha a fração de albumina e o precipitado, depois de ressuspenso em 15 mL de NaCl 0,5 M, constituiu a fração globulínica. Para a obtenção da fração protéica de prolaminas, o resíduo da extração inicial com NaCl 0,5 M foi submetido à extração com etanol 70% levado à agitação à temperatura ambiente por 1 hora. Após centrifugação, o sobrenadante continha as prolaminas e o novo resíduo foi submetido a extração com HCl 0,1 M por 1 hora e após a filtração, o sobrenadante foi dialisado por 48 horas para obtenção das glutelinas ácidas. O resíduo submetido a contato com NaOH 0,1 M por 1 hora foi centrifugado nas mesmas condições anteriores para a obtenção das glutelinas básicas. Alíquotas dessas frações protéicas foram utilizadas em ensaios de hemaglutinação e dosagem de proteínas antes de serem liofilizadas.

### Ensaio de atividade hemaglutinante

A determinação da atividade hemaglutinante nos diferentes extratos protéicos foi realizada utilizando-se suspensões de hemácias de coelho a 2%, tratadas e não tratadas com enzimas proteolíticas (tripsina e papaína). O título de hemaglutinação, expresso em Unidades de Hemaglutinação (UH), foi determinado como sendo o inverso da maior diluição ainda capaz de apresentar aglutinação visível a olho nu (19).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 pode-se observar os valores lipídicos totais (19,45%), estes são similares aos encontrados por Pant & Bishnoi (20) para *B. purpurea* com um teor de 16,58% de lipídeos. Na mesma tabela aparece o conteúdo de ácidos graxos da farinha das sementes de *B. forficata*, onde se destaca o alto valor de ácidos graxos insaturados (52,52%) sendo 46,47% correspondente ao ácido linoléico.

Sastri & Shenolikar (21) realizaram estudos do teor de ácidos graxos em sementes de *B. vahlii* encontrando para lipídeos totais teores de 29,9%, dos quais 31,0% correspondem ao ácido linoléico. Os autores citam a possibilidade de se utilizar às sementes como fonte protéica e de ácidos graxos insaturados. Dietas ricas em ácidos graxos saturados, principalmente os ácidos láurico, mirístico e palmítico, elevam o nível do colesterol no sangue aumentando o risco de doenças cardiovasculares, ao contrário dos ácidos graxos insaturados (ácidos oléico e linoléico), que reduzem o nível do colesterol no organismo (22). O teor de ácidos graxos insaturados (ácido linoléico-46,47%) também foi considerado satisfatório se comparado com o teor presente em óleo de milho (40%) e óleo de girassol (50-70%) (23). Vale ressaltar que o ácido

linoléico é um ácido graxo essencial para o homem e outros animais, ou seja, é necessária a sua incorporação na dieta alimentar. Este ácido graxo participa na formação de hormônios que atuam na transmissão de estímulos nervosos e na diminuição da pressão arterial (23).

TABELA 1  
Teores de lipídeos e ácidos graxos na farinha de sementes de *Bauhinia forficata*

Fração lipídica na farinha	Teor (%)
Lípídeo totais	19,45
Ácido graxo	
Ácido linoléico*	46,47
Ácido palmítico	19,27
Ácido esteárico	13,89
Ácido oléico*	5,54
Ácido gordoico*	0,51

\*ácidos graxos insaturados

Na Tabela 2 se observa o teor de proteínas solúveis totais (21,24%), o que foi similar ao encontrados em *B. acuminata* (22,3%) e inferior em comparação aos encontrados em *B. retusa* (52,8%) (13). Assim mesmo os valores de proteína total da farinha de *B. forficata* são aproximados daqueles (entre 21,6 e 24,7 %) encontrados por Castellón (24), trabalhando com 6 variedades melhoradas de *Vigna unguiculata* L Walp. Considerando que o teor de proteínas presentes em leguminosas é de 18-24% (exceto soja e amendoim)(23), esse valor pode ser considerado como fonte protéica satisfatória.

O teor das diferentes frações protéicas albuminas, globulinas, prolaminas, glutelinas ácidas e básicas das sementes de *B. forficata*, estão ilustrados na Tabela 2. Pode-se observar que as globulinas representam o maior teor na farinha (8,93%), este fato é uma tendência observada na grande maioria de sementes de leguminosas, sendo as globulinas a fração eu concentra a grande maioria das proteínas de reserva das sementes. As glutelinas básicas foram as que apresentaram o segundo valor com 6,69%.

TABELA 2  
Teor de proteínas totais e solúveis das frações protéicas na farinha de sementes de *B. forficata*

Fração Protéica	Teor g/100g
Proteínas totais	21,24
Globulinas	8,93
Glutelinas Básicas	6,69
Prolaminas	2,62
Glutelinas Ácidas	1,61
Albuminas	1,39

A atividade hemaglutinante específica contra hemácia de coelho das diferentes frações protéicas da farinha de sementes de *Bauhinia forficata* foi analisada para determinação de possível presença de fator antinutricional. Os resultados encontrados podem ser observados na Tabela 3. Observa-se que todas as frações, com exceção das prolaminas apresentaram atividade hemaglutinante sendo mais efetiva em hemácias tratadas com tripsina.

Trabalhando com eritrócitos do sistema ABO humano, Rajaram & Jarnadhajan (25) encontraram atividade hemaglutinante específica na fração globulinas de *B. vahlii* contra sangue humano do grupo B. Nas frações albuminas e globulinas de *B. purpurea*, esses mesmos autores observaram atividade hemaglutinante contra todos os tipos sanguíneos humanos testados, mas não observaram o mesmo para as albuminas de *B. racemosa* quando testadas contra hemácias deste sistema.

Os resultados mostrados na Tabela 3 indicam que as glutelinas ácidas apresentaram a maior atividade hemaglutinante específica (1072,25 U.H./mg P) contra sangue de coelho tratado com tripsina. O fato da fração prolaminas não apresentar atividade hemaglutinante provavelmente se deva à ausência de lectinas ou a presença de algum inibidor (glicoconjugado endógeno) presente na semente.

TABELA 3  
Atividade hemaglutinante específica nas diferentes frações protéicas da farinha de sementes de *B. forficata*\*

Fração	mg P (a)	mg P/g F (b)	U.H. (c)	U.H./g F (d)	U.H./mg P (e)
Albuminas	69,50	13,90	32	6,40	13,33
Globulinas	446,70	89,34	2048	409,60	13,75
Glutelina Ácida	80,30	16,06	2048	409,60	1072,25
Glutelinas Básicas	334,70	66,94	16	3,20	1,89
Prolaminas	131,10	26,22	S.A.	S.A.	S.A.

\* Atividade contra hemácias de coelho; S.A. Sem atividade hemaglutinante; (a) quantidade obtida da proteína; (b) relação proteína obtida/quantidade da amostra; (c) Unidade hemaglutinante; (d) relação atividade hemaglutinante/quantidade amostra; (e) atividade hemaglutinante específica levando em consideração a concentração da proteína.

De acordo com a análise dos aminoácidos presentes nas frações protéicas, conforme Tabela 4, pode-se considerar as sementes de *B. forficata* como boa fonte dos aminoácidos essenciais valina (11,07%) e leucina (9,14%), se comparados com a carne de vaca, respectivamente 5,5% e 8,0% (25). O contrário se verifica com os aminoácidos sulfurados como

metionina (1,13%) e cisteína (0,87%) para as sementes analisadas e 3,2% e 1,2% respectivamente, para a carne de vaca. Estes aminoácidos são importantes porque entram no metabolismo da produção de energia muscular (valina e leucina) enquanto que a glutamina é necessária nas atividades cerebrais.

TABELA 4  
Teor de aminoácidos nas diferentes frações protéicas obtidas de farinha de sementes de *B. forficata*

	Albuminas (% ηmol)	Globulinas (% ηmol)	Prolaminas (% ηmol)	Glutelinas Ácidas (% ηmol)	Glutelinas Básicas (% ηmol)
Asparagina	10,44	9,96	10,53	10,41	10,86
Glutamina	14,71	14,57	11,01	10,38	16,20
Prolina	12,26	11,95	12,41	11,00	9,45
Glicina	10,36	8,65	9,48	9,75	9,15
Valina <sup>(E)</sup>	9,33	9,64	11,07	7,80	9,07
Leucina <sup>(E)</sup>	7,59	9,14	8,72	8,31	9,00
Serina	7,28	5,93	6,85	6,55	6,94
Alanina	6,57	6,52	6,26	6,44	6,94
Treonina <sup>(E)</sup>	5,06	3,71	4,10	4,08	4,12
Isoleucina <sup>(E)</sup>	4,51	4,71	4,80	5,33	4,23
Lisina <sup>(E)</sup>	4,59	4,57	5,50	5,56	4,46
Fenilalanina <sup>(E)</sup>	2,14	2,49	2,28	1,91	2,36
Arginina <sup>(E*)</sup>	1,03	3,17	1,81	8,17	3,43
Histidina <sup>(E*)</sup>	1,74	2,40	1,81	1,88	1,83
Tirosina	0,55	1,00	1,58	1,10	1,11
Cisteína	0,87	0,45	0,82	0,70	0,35
Metionina <sup>(E)</sup>	0,95	1,13	0,94	0,63	0,84
Triptofano <sup>(E)</sup>	ND	ND	ND	ND	ND

(E): AA essenciais; (E\*): AA essenciais para fase de crescimento; ND: não determinado

## CONCLUSÕES

As sementes de *B. forficata* apresentam alto potencial nutricional visto que seus teores protéicos e lipídicos (principalmente ácidos graxos insaturados) estão dentro de níveis satisfatórios quando comparados com espécies vegetais de amplo uso na alimentação humana e/ou animal. Evidentemente estudos posteriores devem ser realizados com esta possível fonte alimentar, principalmente no que diz respeito a fatores tóxicos e antinutricionais.

Por outro lado à evidência da presença de lectinas nas frações protéicas sugerem o desenvolvimento de estudos para o isolamento e completa caracterização destas proteínas, bem como avaliação criteriosa das propriedades tóxicas e/ou antinutricionais das mesmas.

## AGRADECIMENTOS

À FUNCAP pela bolsa de pesquisa e CNPq e CAPES pelos auxílios concedidos. BS Cavada é pesquisador do CNPq.

## REFERÊNCIAS

1. Salatino A, Blatt CTT, Santos DYAC, Vaz AMSF. Foliar flavonoids of nine species of *Bauhinia*. Rev Bras Bot São Paulo, 1999; 22:17-20
2. Agarez FV, Pereira C, Rizzini CM. Botânica: taxonomia, morfologia e reprodução dos Angiospermae: chaves para determinação das famílias Angiospermae, 2ª ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural Edições Ltda, 1994.
3. Panda S, Kar S. *Withania somnifera* and *Bauhinia purpurea* in the regulation of circulating thyroid hormone concentrations in female mice. J Ethnopharmacology, 1999; 67:233- 239.
4. Singh KN, Chandra V. Hypoglycaemic and hypocholesterolaemic effects of proteins of *Acacia milanoxydon* and *Bauhinia retusa* wild leguminous seeds in young albino rats. J Indian Medic Assoc, 1977; 68:201-203.
5. Costa OA. Estudo farmacológico da unha-de-vaca – *Bauhinia forficata* Link. Ver Flora Medicinal, 1945; 9: 175-189.
6. Iribarren AM, Pomilio AB. Components of *Bauhinia candicans* Benth. J Nat Prod., 1983; 46: 752-753.
7. Chowdhury AR, Banerji R, Misra G, nigam SK. Fatty acid and mineral composition of the seeds of some species of *Bauhinia*. Fette Seifen Anstrichm., 1984; 86: 237-239.

8. Salatino A. Química da folha de *Bauhinia holophylla* (Bongard) Steudel. Bol Bot Univ S. Paulo, 1977; 5: 43-52.
9. Sindhu SC, Khetarpaul N. Probiotic fermentation of indigenous food mixture: effect on antinutrients and digestibility of starch and protein. J Food Comp Analysis, 2001; 14: 601-609.
10. Prakash D, Misra PS. Amino acid composition of *Bauhinia* and *Cassia* seeds. Fitoterapia, 1983; 54: 257-260.
11. Prakash D, Niranjana A, Tewari SK, Pushpangadan P. Underutilised legumes: potential sources for low-cost protein. Internat J Food Sci Nutrition, 2001; 52: 337-341.
12. Kumari KV, Siddhuraju P, Janardhanan K. Chemical composition, amino acid content and protein quality of the little-known legume *Bauhinia purpurea* L. J Sci Food Agric., 1997; 73: 279-286.
13. Walters JAT. The carob bean (*Ceratonia siliqua*) in Rhodesia and other podbearing indigenous trees of value for stock feed. Rhodesia Agric J, 1924; 21: 567-572.
14. Nair GN, Das HR. Hemagglutinins in vegetative tissues of Bengal gram. Plant Foods Hum Nutrit., 2000; 55: 243-253.
15. Prasad V, Gupta SC. Inhibitory effect of bark and leaf decoctions on the activity of pectic enzymes of *Alternaria tenuis*. Indian J Exp Biol, 1967; 5: 192-193.
16. Matos FJA. Introdução a fitoquímica experimental. Fortaleza: Edições UFC, 1988, p. 126.
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, New York, 1976; 72: 248-254.
18. Osborne TB. The vegetable proteins. 2.ed. London: Longmans Green and company, 1924. p.154.
19. Moreira RA, Perrone JC. Purification and partial characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiol, Maryland, 1977; 59: 783-787.
20. Pant R, Bishnoi PLO. Chemical composition of some wild Indian leguminous seeds. Curr Sci, 1967; 36: 365-367.
21. Sastri BVR, Shenolikar IS. Nutritive value of two unusual foods, adda (*Bauhinia vahlii*), and marking nut (*Semecarpus anacardium*) kernels. Indian J Med Res, 1974; 62: 1673-1677.
22. Robbers JE, Speedie MK, Tyler V. Farmacognosia e farmacobiocologia. São Paulo: Editorial Premier, 1997.
23. Laszlo H, Basso LM, Coelho CML. Química de alimentos: alteração dos componentes orgânicos. São Paulo: Liv. Nobel S.A., 1986, p.98.
24. Castellon RER. Caracterização Bioquímica de Sementes de 6 Variedades de Feijão de Corda *Vigna unguiculata* (L) Walp. Fortaleza: UFC, 1996. 78 p. Dissertação de Mestrado Apresentada no Curso de Agronomia/Fitotecnia, UFC.
25. Rajaran N, Janardhajan K. Chemical composition and nutritional potential of the Tribal Pulses *Bauhinia purpurea*, *B. racemosa* and *B. vahlii*. J Sci Food Agr, London, 1991; 55: 423-431.

Recibido: 05-03-2004

Aceptado: 28-06-2004