

Quantificação de taninos nas cascas de jurema-preta e acácia-negra

Leandro Calegari^{1*}, Pedro Jorge Goes Lopes¹, Elisabeth de Oliveira¹, Darci Alberto Gatto², Diego Martins Stangerlin³

¹Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Universitária S/N, Bairro Santa Cecília, CEP 58708-110, Patos, PB, Brasil

²Universidade Federal de Pelotas, Rua Conde de Porto Alegre, 793, Centro, CEP 96010-290, Pelotas, RS, Brasil

³Universidade Federal de Mato Grosso, Avenida Alexandre Ferronato, 1200, Setor Industrial, CEP 78557-267, Sinop, MT, Brasil

*Autor correspondente:

leandrocalegari@yahoo.com.br

Termos para indexação:

Método gravimétrico
Stiasny
Extrator ALCA

Index terms:

Gravimetric method
Stiasny
ALCA extractor

Histórico do artigo:

Recebido em 20/07/2015
Aprovado em 29/01/2016
Publicado em 31/03/2016

doi: 10.4336/2016.pfb.36.85.986

Resumo - Em função de sua complexidade química, há diversas metodologias de quantificação dos taninos vegetais. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo quantificar as substâncias tânicas e não-tânicas presentes nas cascas de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) e de acácia-negra (*Acacia mearnsii*) por dois métodos distintos. A partir das partículas de casca de ambas as espécies, foram geradas soluções analíticas utilizando um extrator do tipo camisa de vapor, sendo a solução analisada pelos métodos de Stiasny e do pó de pele (não cromado). Para ambas as espécies, os teores de tânicos foram superiores quando analisados pelo método de pó de pele, atingindo 47,8 e 24,1% para *A. mearnsii* e *M. tenuiflora*, respectivamente. Pelo método de Stiasny, o teor de taninos condensados foi de 39,0% para *A. mearnsii* e 15,5% para *M. tenuiflora*. Apesar dos melhores resultados obtidos para a *A. mearnsii*, a casca de *M. tenuiflora* também apresentou grande potencialidade em função da considerável quantidade de tânicos e da disponibilidade da espécie no bioma Caatinga.

Tannins quantification in barks of *Mimosa tenuiflora* and *Acacia mearnsii*

Abstract - Due to its chemical complexity, there are several methodologies for vegetable tannins quantification. Thus, this work aims at quantifying both tannin and non-tannin substances present in the barks of *Mimosa tenuiflora* and *Acacia mearnsii* by two different methods. From bark particles of both species, analytical solutions were produced by using a steam-jacketed extractor. The solution was analyzed by Stiasny and hide-powder (no chromed) methods. For both species, tannin levels were superior when analyzed by hide-powder method, reaching 47.8% and 24.1% for *A. mearnsii* and *M. tenuiflora*, respectively. By Stiasny method, the tannins levels considered were 39.0% for *A. mearnsii*, and 15.5% for *M. tenuiflora*. Despite the best results presented by *A. mearnsii*, the bark of *M. tenuiflora* also showed great potential due to its considerable amount of tannin and the availability of the species at Caatinga biome.

Introdução

Taninos vegetais são substâncias naturais que não possuem composições químicas definidas. O termo é utilizado em seu sentido genérico para designar um grupo de compostos polifenólicos de grandes massas moleculares que possuem a habilidade de

se fixarem a proteínas, carboidratos, alcaloides, vitaminas e minerais (Makkar, 2003; Heldt, 2005). São geralmente classificados em hidrolisáveis e condensados, correspondendo a tipos estruturais diferenciados (Jorge et al., 2001).

A acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) é uma espécie florestal exótica, originária da Austrália e

cultivada na região Sul do Brasil, primordialmente para a extração comercial de taninos a partir de sua casca. Algumas empresas nacionais destacam-se neste segmento, produzindo e comercializando extratos tânicos vegetais para diversas finalidades (Caldeira et al., 1998). A jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.), por sua vez, é uma espécie nativa, pioneira, de rápido crescimento e muito comum na Caatinga. Sendo sua madeira utilizada para lenha, carvão vegetal e confecção de cercados. Geralmente, sua casca é descartada, mas poderia ser aproveitada para agregar valor a este resíduo (Paes et al., 2010; Lima et al., 2014).

Durante o processo de extração dos taninos também ocorre a de outras substâncias, tais como pectinas, aminoácidos e açúcares. Esse mesmo problema surge quando da quantificação causada pela dificuldade de isolamento dos compostos tânicos. Existem diversas metodologias para a quantificação dos taninos, as quais se adequam ao uso que será dado a esta substância. Nesse sentido, o método de Stiasny é recomendado para avaliação de taninos a serem utilizados como adesivo para produtos à base de madeira, enquanto o método do pó de pele é recomendado para taninos destinados ao curtimento de peles (Makkar, 2003).

Uma das mais reconhecidas metodologias destinadas às quantificações de substâncias tânicas baseia-se no uso do pó de pele como agente detanizador, as quais são padronizadas por alguns organismos normatizadores (*American Society for Testing and Materials* (ASTM), *Indian Standards Institution* (ISI), Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e *International Organization for Standardization* (ISO)). Comparando as normas, editadas por tais organizações observam-se algumas divergências metodológicas, além de determinadas fases com execução mais complexas e caras, incluindo a exigência de equipamentos específicos e o uso do pó de pele comercial, insumo de difícil obtenção e alto custo. A determinação por meio do método de Stiasny, por sua vez, apesar de ser de fácil execução e expedito, não é abordado por qualquer norma técnica. Nessas circunstâncias, é importante a comparação entre ambos os métodos a fim de se verificar a possibilidade de desenvolvimento de uma metodologia confiável, de fácil execução e de baixo custo.

Apesar da reconhecida potencialidade, poucos estudos (Paes et al., 2006, 2010; Calegari et al., 2014; Lima et al., 2014) foram realizados no sentido de prospectar espécies nativas e exóticas da Caatinga que poderiam ser

exploradas comercialmente para a produção de taninos para diferentes fins. Tais estudos basearam-se no método de Stiasny, não sendo avaliadas outras metodologias que poderiam indicar outros usos para os extratos tânicos.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo quantificar as substâncias tânicas e não-tânicas presentes nas cascas de jurema-preta (*M. tenuiflora*) e de acácia-negra (*A. mearnsii*) através dos métodos de Stiasny e do pó de pele.

Material e métodos

Obtenção e preparo da casca

Dez árvores adultas, sendo cinco de jurema-preta (*M. tenuiflora* (Willd.) Poir.) e cinco de acácia-negra (*A. mearnsii* De Wild.), foram aleatoriamente selecionadas nos municípios de Patos, PB e Pelotas, RS, respectivamente. Com o uso de ferramentas manuais, removeram-se suas cascas, as quais foram secas à sombra, armazenadas em sacos plásticos e transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Produtos Florestais da Universidade Federal de Campina Grande, em Patos, PB.

As cascas foram fragmentadas em moinhos de martelos e Willey. Selecionou-se a porção que atravessou a malha de 40 *mesh* (0,425 mm) e ficou retida na de 60 *mesh* (0,25 mm). Finalmente, foram armazenadas em frascos hermeticamente fechados, protegidos da luz e umidade do ar, como indicado por Makkar (2003).

Obtenção e preparo do pó de pele

Uma porção de pele de gado bovino foi depilada, salgada, esticada e submetida à secagem ao sol. Após seca, a mesma foi transformada em fragmentos menores (cerca de 1 cm²) e triturada em moinho do tipo Willey e classificada (40 a 60 *mesh*), gerando o pó de pele.

Obtenção da solução para análise

Para a obtenção da solução analítica utilizaram-se 15 g de partículas de casca secas ao ar, que foram submetidas à extração em um extrator do tipo camisa de vapor, conforme estabelecido pela ASTM D - 6402 (American Society for Testing and Materials, 2004b), a qual substitui o método oficial da *American Leather Chemists Association* (ALCA). O material (partículas de casca) foi previamente umedecido em água destiladas durante 24 h e inserido na câmara de extração, sobre uma camada de algodão. Para o processo de quantificação com base no método de Stiasny, a extração prosseguiu

até a obtenção de 2 L de solução analítica e para o método de quantificação embasado no uso do pó de pele, até obtenção de 1 L. Foi utilizado termômetro para conferir a temperatura em que as amostras estavam submetidas, em intervalo de tempos regulares (30 min), no decorrer do processo de extração.

Determinação da umidade e da massa anidra das partículas de casca submetidas à extração

Simultaneamente à retirada da amostra para obtenção da solução para análise (amostra primária), foi obtida uma amostra secundária de aproximadamente 5 g, que foi posta em estufa (103 ± 2 °C) até obtenção da massa anidra, da qual se obteve o teor de umidade base úmida, segundo ASTM D - 6403 (American Society for Testing and Materials, 2004c). A massa anidra da amostra utilizada na extração foi então calculada a partir da massa seca ao ar da amostra primária (utilizada na extração) e do teor de umidade da amostra secundária.

Quantificação do extrato tânico

A quantificação do extrato tânico foi realizada seguindo adaptações das normas técnicas da ASTM (American Society for Testing and Materials, 2004a, 2004b), ISI - IS 5466 (Indian Standards Institution, 2001), Norma Brasileira Regulamentadora - NBR 14362 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008) e ISO 14088 (International Organization for Standardization, 2012). Tais adaptações referem-se à determinação dos teores de sólidos totais, sólidos solúveis, sólidos insolúveis, sólidos solúveis não-tânicos e teor de tânicos pelo método do pó de pele.

Determinação dos sólidos totais

Após agitação da solução analítica bruta, pipetou-se uma alíquota de 50 mL, que foi submetida à secagem em estufa (103 ± 2 °C) até obtenção de sua massa anidra para cálculo dos sólidos totais (Equação 1).

$$ST\% = (M_{a_r} / M_{a_e}) \cdot 100 \quad (1)$$

Em que:

ST% = Sólidos totais, em %; M_{a_r} = Massa anidra do resíduo extrapolado para o volume total da solução (1 ou 2 L), em g; e M_{a_e} = Massa anidra da amostra utilizada na extração, em g.

Determinação dos sólidos solúveis e insolúveis

Após filtrações em tecido de flanela e cadinho de porosidade 2, cerca de 100 mL de solução analítica bruta foram submetidos à filtração em papel-filtro quantitativo de filtração média (faixa branca). Foram descartados os primeiros 25 mL do filtrado, uma vez que o papel-filtro possui certa capacidade de absorção de substâncias da solução (Trotman, 1908).

Do filtrado restante, após agitação, pipetou-se uma alíquota de 50 mL que foi levada para estufa (103 ± 2 °C), até obtenção da massa anidra do resíduo para cálculo dos sólidos solúveis (Equação 2). O teor de sólidos insolúveis foi obtido pela diferença entre os sólidos totais e sólidos solúveis.

$$SS\% = (M_{a_{rs}} / M_{a_e}) \cdot 100 \quad (2)$$

Em que:

SS% = Sólidos solúveis, em %; $M_{a_{rs}}$ = Massa anidra do filtrado extrapolado para o volume total da solução (1 ou 2 L), em g; M_{a_e} = Massa anidra da amostra utilizada na extração em g.

Determinação do teor de taninos pelos métodos de Stiasny e do pó de pele

Para a determinação pelo método de Stiasny, uma alíquota de 50 mL da solução analítica bruta foi colocada em um balão de fundo chato de 500 mL, com adição de 4 mL de formaldeído (37%) e 1 mL de ácido clorídrico concentrado, sendo mantida a uma fervura branda (100 °C), sob refluxo e agitação constante durante 30 min (Paes et al., 2010).

Procedeu-se a filtração do precipitado tanino-formaldeído com papel-filtro quantitativo de filtração média. O papel-filtro, juntamente com o precipitado, foi submetido à secagem (103 ± 2 °C) até obtenção de massa constante, sendo calculado o teor de taninos condensados (Equação 3). O teor de sólidos solúveis não-tânicos foi obtido pela diferença entre os sólidos solúveis e teor de taninos condensados.

$$TT_s\% = (M_{a_p} / M_{a_e}) \cdot 100 \quad (3)$$

Em que:

$TT_s\%$ = Teor de taninos condensados pelo método de Stiasny, em %; M_{a_p} = Massa anidra do precipitado extrapolado para o volume total da solução (2 L), em g; M_{a_e} = Massa anidra da amostra utilizada na extração, em g.

Para o método do pó de pele, uma alíquota de 100 mL de solução analítica bruta foi adicionada em recipiente contendo 10 g do pó de pele seca ao ar. Após agitação, deixou-se a mistura em repouso durante 12 h. A solução analítica detanizada foi filtrada em papel-filtro quantitativo (faixa branca) e, após descarte dos primeiros 25 mL, mensurou-se o volume do filtrado com uma proveta, o qual foi posto em estufa (103 ± 2 °C) até obtenção de massa anidra, para cálculo dos sólidos solúveis não-tânicos (SSnT), conforme Equação 4.

$$SSnT\% = (M_{a_{rf}} / M_{a_e}) \cdot 100 \quad (4)$$

Em que:

SSnT% = Sólidos solúveis não-tânicos, em %; $M_{a_{rf}}$ = Massa anidra do resíduo no filtrado extrapolado para o volume da solução (1 L), em g; M_{a_e} = Massa anidra da amostra utilizada na extração, em g.

Ao considerar que a porção tânica da solução ficou retida no pó de pele, obteve-se o teor de taninos (TTpp%)

pela diferença entre os sólidos solúveis e sólidos não-tânicos. Posteriormente, calculou-se a razão entre os teores de tânicos e não-tânicos (Equação 5).

$$R_{\text{tnt}} = \text{TT}\% / \text{SnT}\% \quad (5)$$

Em que:

R_{tnt} = Razão entre tânicos e não-tânicos (adimensional); $\text{TT}\%$ = Teor de tânicos, em %; e $\text{SnT}\%$ = Sólidos não-tânicos, em %.

Para ambas as metodologias adotadas, foram desenvolvidos testes em branco. Para o método de Stiasny realizou-se o procedimento adicionando-se somente ácido clorídrico à solução de taninos, a fim de verificar possível formação de precipitado sem a adição do formaldeído (Tahir et al., 2002). Para o método do pó de pele, a solução analítica foi substituída por água destilada (American Society for Testing and Materials, 2004a; International Organization for Standardization, 2012). Ambos os testes foram realizados para possíveis correções nas análises.

Determinação da concentração em taninos e quantidade adequada de partículas

A partir da quantidade de taninos presentes na alíquota de 50 mL tomada da solução, calculou-se sua concentração ao utilizar regra de três simples (Equação 6). De maneira semelhante, calculou-se a quantidade adequada de partículas anidra para gerar uma concentração de 0,4% de taninos puros (Equação 7). Finalmente, realizou-se a correção da massa anidra de partículas para o teor de umidade seca ao ar, considerado como sendo de 10% (Equação 8).

$$C_t = [(Ma_t \cdot 100) / V_a] \quad (6)$$

Em que:

C_t = Concentração de taninos da solução, em %; Ma_t = Massa anidra de taninos obtida na alíquota, em g; e V_a = Volume de alíquota analisada (50 mL).

$$Ma_c = [(Ma_c \cdot 0,4) / C_t] \quad (7)$$

Em que:

Ma_c = Massa anidra de partículas para uma concentração em taninos puros de 0,4%, em g; Ma_c = Massa anidra de partículas utilizada na extração, em g; C_t = Concentração de taninos, em %.

$$Mp_{sa} = Ma_c / [1 - (TU_c / 100)] \quad (8)$$

Onde:

Mp_{sa} = Massa úmida de partículas (seca ao ar) na umidade requerida, em g; Ma_c = Massa anidra de partículas para concentração de 0,4%, em g; TU_c = Teor de umidade requerida para correção (10%).

Delineamento experimental e análise dos dados

Realizou-se a mistura das cascas de todos os indivíduos da mesma espécie e, posteriormente, empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, em que foram avaliadas duas espécies (jurema-preta e acácia-negra) combinadas a dois métodos de quantificação (Stiasny e pó de pele), totalizando quatro tratamentos.

Foram avaliadas três repetições (extrações) por tratamento e as análises (subrepetições) foram analisadas em duplicata para cada repetição. Os testes em branco foram realizados em triplicata. Os resultados das principais variáveis foram interpretados pelo teste de F ($p \leq 0,05$), com comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados e discussão

Parâmetros do processo de geração de solução analítica

O teor de umidade médio das partículas foi de aproximadamente 9,0%, o que proporcionou uma massa anidra média de 13,7 g no momento da extração. O tempo médio de extração foi de 3 h e 48 min e 7 h e 13 min para a geração de 1 e 2 L de solução, respectivamente. Com relação à temperatura, observou-se um valor geral médio de 53 °C (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros do processo de geração de solução analítica a partir da casca de distintas espécies florestais e métodos de quantificação.

Espécie	Método	TU (%)	Ma (g)	Tempo (h:min)	Temperatura (°C)	Volume de solução (mL)
Jurema-preta	Stiasny	8,6	13,7	6:52	53	2.000
Jurema-preta	Pó de pele	9,6	13,6	3:42	48	1.000
Acácia-negra	Stiasny	8,3	13,8	7:33	54	2.000
Acácia-negra	Pó de pele	9,6	13,6	3:53	47	1.000

TU = Teor de umidade, base úmida; Ma = Massa anidra de partículas utilizadas na extração; Tempo = Tempo de extração; Temperatura = Temperatura da amostra durante a extração.

A redução do volume da solução analítica de 2 L, conforme recomendado pela ASTM D - 6405 (American Society for Testing and Materials, 2004d), para 1 L foi necessária, pela impossibilidade da leitura dos sólidos solúveis não-tânicos quando utilizado o volume de 2 L. Por ser um método gravimétrico, a concentração dos taninos na solução de 2 L, quando analisada pelo método do pó de pele, provavelmente era muito baixa (solução muito diluída), não sendo possível sua detecção por pesagem (Makkar, 2003).

De modo geral, todos os parâmetros contemplaram o indicado pela ASTM D - 6405 (American Society for Testing and Materials, 2004d), a qual determina que sejam gerados 2 L de solução analítica num período de 7 h de extração (3 h e 30 min para 1 L), e que a amostra não seja submetida a temperaturas superiores a 60 °C.

Os testes em branco para o método de Stiasny não detectaram qualquer formação de precipitado. Tal fato não corrobora com Tahir et al. (2002), que descreveram que podem surgir complicações quando existem determinados materiais presentes no extrato de algumas espécies, tais como açúcares e gomas, em formar produtos insolúveis, por causa do efeito do ácido. Para o método do pó de pele foi detectado a massa média do resíduo de 0,128 g em 50 mL.

Sólidos totais e solúveis

A análise de variância dos sólidos totais e solúveis indicou diferença estatística significativa entre os tratamentos, com valores F de 180,71 ($p \leq 0,01$) e 205,36 ($p \leq 0,01$), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Comparação de médias dos sólidos totais e sólidos solúveis de extratos obtidos da casca de distintas espécies florestais e métodos de quantificação.

Espécie	Método	Sólidos totais (%)	Sólidos solúveis (%)
Jurema-preta	Stiasny	39,9 b	30,4 b
Jurema-preta	Pó de pele	38,2 b	30,9 b
Acácia-negra	Stiasny	56,8 a	49,7 a
Acácia-negra	Pó de pele	54,5 a	50,6 a

Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não apresentam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

O teor de sólidos totais expressa a totalidade de extrativos obtidos da amostra (Paes et al., 2010). Os sólidos solúveis, por sua vez, correspondem à parcela

dos sólidos totais que se solubiliza em água. Da mesma maneira que os sólidos totais, altos valores de sólidos solúveis são desejáveis.

Para ambos os parâmetros não houve diferença estatística significativa para os distintos métodos utilizados, para uma mesma espécie. No entanto, comparando-se as espécies entre si, a acácia-negra destacou-se por apresentar maiores valores. Portanto, além da acácia-negra ter apresentado maiores valores de sólidos totais, a mesma apresentou maiores valores de sólidos solúveis, quando comparada a jurema-preta.

Para a casca de jurema-preta coletada na região semiárida, Paes et al. (2006) citaram o valor de 26,3% para os sólidos totais. Tal valor é inferior ao observado no presente estudo e deve-se, principalmente, às distintas metodologias utilizadas. Haroun et al. (2013), ao avaliarem diversas espécies de acácias na África, citaram 51,8% de sólidos totais e 48,7% de sólidos solúveis para a acácia-negra. De maneira semelhante, Jiyuan et al. (1994), ao analisarem a qualidade de cascas de acácia-negra provenientes de distintas procedências, observaram valores de sólidos totais entre 41,2 e 65,2%. Tais valores apresentam-se próximo ao observado neste estudo, provavelmente por causa da semelhança na metodologia utilizada. O período de coleta das cascas, fenofases da planta, características do sítio e idade das árvores também podem explicar as diferenças encontradas entre os resultados.

Deve-se levar em consideração que, nesta fase inicial, a diferença entre os métodos diz respeito apenas ao volume de extrato gerado a partir das partículas. Para o método de Stiasny foram gerados 2 L de solução, enquanto para o método do pó de pele foi gerado 1 L, num período de tempo aproximado de 7 h e 3 h e 30 min, respectivamente. Uma vez que os valores dos sólidos totais e solúveis não diferiram em função destes períodos de tempo, observa-se que é mais viável realizar a extração em 1 L para ambos os métodos, com a vantagem de demandar menos tempo.

Sólidos insolúveis e solúveis não-tânicos

A análise de variância dos sólidos insolúveis e dos solúveis não-tânicos indicou diferença estatística significativa entre os tratamentos, com valores F de 4,14 ($p \leq 0,05$) e 14,38 ($p \leq 0,01$), respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação de médias dos sólidos insolúveis e sólidos solúveis não tânicos de extratos obtidos da casca de distintas espécies florestais e métodos de quantificação.

Espécie	Método	Sólidos insolúveis (%)	Sólidos solúveis não-tânicos (%)
Jurema-preta	Stiasny	9,5 b	14,8 c
Jurema-preta	Pó de pele	7,4 ab	6,7 ab
Acácia-negra	Stiasny	7,0 ab	10,6 b
Acácia-negra	Pó de pele	3,9 a	2,8 a

Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não apresentam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Ambas as espécies apresentaram valores semelhantes de sólidos insolúveis, com maiores diferenças observadas nos sólidos solúveis não-tânicos, sendo desejável que estes parâmetros apresentem valores reduzidos.

Com relação aos sólidos solúveis não-tânicos, quando do uso do pó de pele, uma maior quantidade de substâncias foi absorvida pelo mesmo quando comparado ao método de Stiasny, motivo pelo qual observou-se menores valores. Maiores diferenças foram observadas em decorrência do método utilizado, sendo menores quando comparado entre as espécies.

A jurema-preta, quando analisada pelo método de Stiasny, apresentou o maior valor de sólidos solúveis não-tânicos, diferenciando-se estatisticamente dos demais. No entanto, esse parâmetro não deve ser considerado isoladamente para a realização da análise da qualidade, tal como foi observado por Zalacain et al. (2003). Para extratos gerados a partir de folhas de sumagre (*Rhus coriaria*) extraídas sob os tempos de 15; 30; 60; 120 e 180 min, tais autores citaram, para o teor de não-tânicos quando analisado com pó de pele, valores de 6,5; 6,8; 7,8; 8,0 e 7,9%, respectivamente. Considerando apenas esse parâmetro, o melhor valor teria sido observado para 15 min de extração. No entanto, levando em consideração outros parâmetros, estabeleceram que o extrato de melhor qualidade foi gerado para o tempo de 60 min. Altos rendimentos de extração (sólidos totais) tendem a elevar os teores de substâncias insolúveis e solúveis não-tânicas dos extratos vegetais, conferindo maior viscosidade, cores mais escuras e, conseqüentemente, tornando-os menos atrativos para diversos usos.

Sólidos solúveis tânicos e razão tânicos:não-tânicos

A análise de variância dos sólidos solúveis tânicos (teor de taninos) e da razão tânicos:não-tânicos indicou diferença estatística significativa entre os tratamentos, com valores F de 198,52 ($p \leq 0,01$) e 113,67 ($p \leq 0,01$), respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação de médias do teor de tânicos e da razão tânicos:não-tânicos de extratos obtidos da casca de distintas espécies florestais e métodos de quantificação.

Espécie	Método	Teor de tânicos	Razão tânicos:não-tânicos
Jurema-preta	Stiasny	15,5 d	1,1 b
Jurema-preta	Pó de pele	24,1 c	3,6 b
Acácia-negra	Stiasny	39,0 b	3,7 b
Acácia-negra	Pó de pele	47,8 a	17,1 a

Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não apresentam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Para a mesma espécie, o método do pó de pele destacou-se por apresentar maiores valores de substâncias tânicas quando comparado ao método de Stiasny. No entanto, para o mesmo método, observa-se que a acácia-negra apresentou maiores valores, em detrimento da jurema-preta. Em todos os casos a diferença apresentou-se estatisticamente significativa.

Pelo fato dos taninos serem substâncias complexas e de composição química não definida, seus componentes que reagem com o formaldeído não são os mesmos que reagem com o pó de pele, motivo que explica a diferença entre os resultados obtidos pelos distintos métodos. Enquanto o formaldeído, em meio ácido, reage apenas com os taninos condensados, o método baseado no uso do pó de pele reage tanto com os taninos condensados quanto com os hidrolisáveis (Makkar, 2003; Vázquez et al., 2009), explicando o maior valor observado quando do uso do pó de pele.

Sendo substâncias fenólicas, os taninos são bastante reativos quimicamente. Pelo método de Stiasny é determinado o teor de componentes polifenólicos reativos (taninos condensáveis). Os taninos condensados ou proantocianidinas são basicamente constituídos por unidades flavonóides, com destaque para flava-3-ols (catequina) e flavan 3,4-diols (leucoantocianinas), que são precipitadas pela condensação com o formaldeído em meio ácido (Gonçalves & Lelis, 2001).

Os taninos também possuem grupos hidroxila, o que permite que os mesmos sofram interações com proteínas, especialmente com o colágeno, através de pontes de hidrogênio, gerando um produto de alta estabilidade, tal como se observa com o couro, resistindo ao ataque de micro-organismos degradadores (Heldt, 2005).

A acácia-negra possui reconhecimento mundial pelo teor de taninos em sua casca, superando a maioria das outras espécies com relação ao rendimento em substâncias tânicas. Ao avaliarem diversas espécies

desse gênero, Haroun et al. (2013) observaram um teor de taninos de quase 40% quando a análise foi realizada utilizando pó de pele, valor este que superou os de todas as demais espécies florestais avaliadas. No presente estudo, o valor observado para a espécie com metodologia similar apresentou-se um pouco superior, atingindo 47,8%.

Em distintos povoamentos de acácia-negra foi observada diferença estatisticamente significativa no teor de tanino na casca quando avaliada com pó de pele por meio do método do filtro, variado de 11,1 a 13,4% (Caldeira et al., 1998). Para a mesma espécie, Rachwal et al. (2007) compararam os teores de taninos em cinco classes distintas de solos. Utilizaram extrator de Procter (Indian Standards Institution, 2001) e realizaram a quantificação conforme normas da *Society of Leather Technologists and Chemist* (SLTC). Os valores variaram de 12,3 a 17,6%, sendo o maior valor obtido em árvores que se desenvolveram no solo menos produtivo. Justificaram tal resultado pelo comportamento de defesa das plantas às condições do meio, condicionando-as a uma situação de estresse.

Referindo-se ao método de Stiasny, Paes et al. (2006) citaram o valor de 17,7% de taninos condensados para a jurema-preta, valor próximo ao obtido no presente estudo, apesar da distinta metodologia de extração, uma vez que os mesmos realizaram a fervura das cascas para gerar a solução para análise. Apesar de não terem realizado a análise por meio do pó de pele, tais autores observaram bons resultados em peles curtidas com extrato obtido da espécie.

Da mesma forma que para teor de tânico, altos valores da razão tânico:não-tânico são preferíveis (Tabela 4), como foi observada para a acácia-negra quando analisada pelo método do pó de pele. Porém, quando a mesma espécie foi analisada pelo método de Stiasny, tal índice apresentou-se bastante inferior, significando que o extrato tânico obtido dessa espécie é mais indicado para o curtimento de peles. Para a jurema-preta observa-se o mesmo comportamento, porém numa diferença de menor magnitude.

Conforme Zalacain et al. (2003), uma melhor qualidade de extrato tânico é indicado por altos valores da razão tânico:não-tânico. Para extratos gerados a partir de folhas de sumagre (*Rhus coriaria*) extraídas sob os tempos de 15; 30; 60; 120 e 180 min., tais autores citaram, para a razão tânico:não-tânico, valores de 1,80; 1,82; 1,88; 1,80 e 1,78%, respectivamente, sendo,

portanto, o maior valor observado para o tempo de 60 min. Comparando diversas espécies de acácias, Haroun et al. (2013) obtiveram uma razão tânico:não-tânico de 4,5 para a acácia-negra, o melhor resultado para esse parâmetro.

Observa-se, portanto, que os dados obtidos na literatura são bastante variados, sendo reflexo da problemática que existe quanto ao isolamento e quantificação de substâncias tânico. No presente estudo, a não utilização de pó de pele fracamente cromado, conforme estabelecido pelas normas técnicas, provavelmente influenciou os resultados das análises.

Conforme Trotman (1908), compostos a base de cromo possuem a capacidade de tornar insolúveis substâncias presentes na pele, fixando-as sem prejudicar a capacidade das mesmas em absorver os tânico, reduzindo assim a quantidade de sólidos lixiviados pela mesma e, consequentemente, favorecendo a qualidade da análise.

Adicionalmente, ASTM D-6401 (American Society for Testing and Materials, 2004a) estabelece que o tempo de contato entre o pó de pele e a solução analítica deve ser de 15 min, enquanto ISO 14088 (International Organization for Standardization, 2012) recomenda um tempo de 120 min. No presente estudo, o período de contato da solução analítica com o pó de pele foi superior, o que possivelmente contribuiu para aumentar a absorção de substâncias pelo pó de pele, já que segundo a ISO 14088 (International Organization for Standardization, 2012) existe a possibilidade de absorção de outras substâncias pelo pó de pele além daquelas tânico. Nesse sentido, Makkar (2003) também alerta que o pó de pele não possui alta afinidade apenas com substâncias tânico (fenóis de alta massa molecular), mas também com fenóis simples, com destaque para o ácido tânico.

Concentração em taninos da solução analítica e quantidade adequada de partículas

A concentração em taninos na solução analítica apresentou-se menor quando foi analisada pelo método de Stiasny, quando comparada ao uso do pó de pele. De modo geral, o valor de absorção de tânico pelo pó de pele foi de 2,9 e 2,4 vezes superior, para jurema-preta e acácia-negra, respectivamente, quando comparado à fixação proporcionada pelo formaldeído (Tabela 5). Em todos os casos, no entanto, a concentração ficou fora do intervalo $0,4 \pm 0,025\%$, conforme padronizado por normas técnicas que versam sobre a quantificação

de taninos utilizando pó de pele (Indian Standards Institution, 2001; American Society for Testing and

Materials, 2004d; International Organization for Standardization, 2012).

Tabela 5. Concentração em taninos e quantidade adequada de partículas para geração da solução analítica para casca de distintas espécies florestais e métodos de quantificação.

Espécie	Método	Concentração (%)	Massa de partículas (g)	
			Anidra	Seca ao ar (10% umidade)
Jurema-preta	Stiasny	0,11	95,4	105,9
Jurema-preta	Pó de pele	0,32	16,9	18,7
Acácia-negra	Stiasny	0,27	37,0	41,1
Acácia-negra	Pó de pele	0,65	8,4	9,30

Ao considerar que essas normas fixam a concentração da solução apenas quando se usa o pó de pele, observa-se que a acácia-negra atingiu uma concentração superior à recomendada, indicando a necessidade de uma quantidade menor de partículas de casca. No entanto, a jurema-preta necessitaria de uma quantidade maior de partículas que a utilizada no presente estudo.

Observa-se, portanto, que a quantidade de amostra depende do tipo de material a ser analisado. Quanto maior o teor de taninos extraíveis no material, menor será a quantidade necessária para satisfazer a concentração de 0,4% ou 4 g L⁻¹. Nesse sentido, Procter (1912) citou ser necessário, para casca de acácia-negra, de 10 a 15 g de partículas para extração. Os máximos valores necessários, dentre os citados por esse autor, são madeira do cerne de carvalho e rejeitos provenientes do processo de extração industrial, que requerem até 100 g. Justificou que valores fora dos limites tendem a gerar erros durante a análise de alguns materiais, a exemplo da valônia (*Quercus macrolepis*) e quebracho (*Schinopsis* sp.), por apresentarem sólidos solúveis de difícil diluição, uma vez que a solubilização dos taninos é afetada pela concentração da solução.

Para o método de Stiasny, por sua vez, não existe qualquer recomendação com relação à concentração da solução analítica. No entanto, sua padronização possivelmente geraria resultados mais confiáveis e facilitaria comparações.

Apesar da acácia-negra ter apresentado melhores valores dos parâmetros, a jurema-preta também possui potencial para produção de tânico. Independente do método utilizado, a casca da jurema-preta apresentou mais de 10% de taninos em relação à massa absolutamente seca, valor mínimo citado por Vázquez et al. (2009) e Haroun et al. (2013) para que a extração seja

economicamente viável. Adicionalmente, essa espécie apresenta ampla ocorrência na região semiárida, sendo sua casca considerada um resíduo.

Conclusões

A espécie jurema-preta apresenta potencial para produção de extratos tânicos, apesar dos teores de taninos serem inferiores aos obtidos para acácia-negra, para ambos os métodos avaliados.

Pela falta de uma metodologia padronizada para a análise de taninos pelo método de Stiasny (taninos condensados), sugere-se que a mesma seja adaptada conforme recomendações disponíveis para a análise realizada pelo método do pó de pele, visto que esta última apresenta reconhecimento mundial.

Apesar de ter sido possível comparar os métodos e espécies avaliados, sugere-se a realização de novos estudos a fim de um melhor ajuste dos parâmetros de extração e quantificação dos taninos.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil.

Referências

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D - 6401**: standard test method for non-tannins and tannin in extracts of vegetable tanning materials. Pennsylvania, 2004a. 4 p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D - 6402**: standard test method for determining soluble solids and insoluble in extracts of vegetable tanning materials. Pennsylvania, 2004b. 3 p.

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D - 6403**: standard test method for determining moisture in raw and spent materials. Pennsylvania, 2004c. 3 p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D - 6405**: standard practice for extraction of tannins from raw and spent materials. Pennsylvania, 2004d. 3 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14362**: insumos: tanantes: determinação do teor de sólidos solúveis e insolúveis: método por gravidade. Rio de Janeiro, 2008. 3 p.
- CALDEIRA, M. V. W.; SCHUMACHER, M. V.; SANTOS, E. M.; VIEGAS, J.; PEREIRA, J. C. Quantificação de tanino em três povoamentos de *Acacia mearnsii* De Wild. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 37, p. 81-88, 1998.
- CALEGARI, L.; LOPES, P. J. G.; SANTANA, G. M.; STANGERLIN, D. M.; OLIVEIRA, E.; GATTO, D. A. Eficiência de extrato tânico combinado ou não com ácido bórico na proteção da madeira de *Ceiba pentandra* contra cupim xilófago. **Floresta**, Curitiba, v. 44, n. 1, p. 43-52, 2014. DOI: 10.5380/ufv44i1.28798.
- GONÇALVES, C. A.; LELIS, R. C. C. Teores de taninos da casca e da madeira de cinco leguminosas arbóreas. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p. 167-173, 2001.
- HAROUN, M.; KHIRSTOVA, P.; COVINGTON, T. Evaluation of vegetable tannin contents and polyphenols of some indigenous and exotic woody plant species in Sudan. **Journal of Forest Products and Industries**, v. 2, n. 4, p. 48-54, 2013.
- HELDT, H.W. **Plant biochemistry**. 3rd. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 630 p.
- INDIAN STANDARDS INSTITUTION. **IS 5466**: methods of test for vegetable tanning materials. New Delhi, 1969. Reaprovada em 2001. 19 p.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14088**: leather: chemical tests: quantitative analysis of tanning agents by filter method. Geneva, 2012. 10 p.
- JIYUAN, L.; CHUANBI, G.; FANGJI, Z.; HUADONG, R. Bark quality of *Acacia mearnsii* provenances from different geographic origins growing in South China. In.: BROWN, A. G. **Australian tree species research in China**. Canberra: ACIAR, 1994. p. 203-213. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=AU19950077832>>. Acesso em: 18 abr. 2014.
- JORGE, F. C.; BRITO, P.; PEPINO, L.; PORTUGAL, A.; GIL, H.; COSTA, R. P. Aplicações para as cascas de árvores e para os extractos taninosos: uma revisão. **Silva Lusitana**, v. 9, n. 2, p. 225-236, 2001.
- LIMA, C. R.; PAES, J. B.; LIMA, V. L. A.; DELGADO, M. F. F.; LIMA, R. A. Potencialidade dos extratos tânicos de três espécies florestais no curtimento de peles caprinas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 11, p. 1192-1197, 2014. DOI: 10.1590/1807-1929/agriambi.v18n11p1192-119.
- MAKKAR, H. P. S. **Quantification of tannins in tree and shrub foliage**: a laboratory manual. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 2003. 102 p.
- PAES, J. B.; MARINHO, I. V.; LIMA, R. A.; LIMA, C. R.; AZEVEDO, T. K. B. Viabilidade técnica dos taninos de quatro espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro no curtimento de peles. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 16, n. 4, p. 453-462, 2006.
- PAES, J. B.; SANTANA, G. M.; AZEVEDO, T. K. B.; MORAIS, R. M.; CALIXTO JÚNIOR, J. T. Substâncias tânicas presentes em várias partes da árvore angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. var. *cebil* (Gris.) Alts.). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 441-447, 2010.
- PROCTER, H.R. **Leather chemists' pocket-book**: a short compendium of analytical methods. London: E. & F. N. Spon, 1912. 224 p. Disponível em: <<http://archive.org/details/leatherchemistsp00procrich>>. Acesso em: 30 jun. 2015.
- RACHWAL, M. F. G.; DEDECEK, R. A.; CURCIO, G. R.; SIMON, A. A. Manejo dos resíduos da colheita de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild) e a sustentabilidade do sítio. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 17, n. 2, p. 137-144, 2007.
- TAHIR, P. M.; MUSGRAVE, O. C.; ASHARI, Z. Determination of polyphenolic content of bark extracts for wood adhesives. **Holzforschung**, Berlin, v. 56, n. 3, p. 267-272, 2002. DOI: 10.1515/HF.2002.044.
- TROTSMAN, S. R. **Leather trades chemistry**: a practical manual on the analysis of materials and finished products. London: C. Griffin & Company, 1908. 290 p. Disponível em: <<http://archive.org/details/leathertradesch00trotgoog>>. Acesso em: 12 jul. 2015.
- VÁZQUEZ, G.; GONZÁLEZ-ALVAREZ, J.; SANTOS, J.; FREIRE, M. S.; ANTORRENA, G. Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 29, n. 2, p. 364-370, 2009. DOI: 10.1016/j.indcrop.2008.07.004.
- ZALACAIN, A.; PRODANOV, M.; CARMONA, M.; ALONSO, G. L. Optimization of extraction and identification of gallotannins from sumac leaves. **Biosystems Engineering**, London, v. 84, n. 2, p. 211-216, 2003. DOI: 10.1016/S1537-5110(02)00246-5.

