



CAROLINE JUNQUEIRA SARTORI

**AVALIAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS
FENÓLICOS NAS CASCAS DE *Anadenanthera*
peregrina (ANGICO-VERMELHO)**

**LAVRAS - MG
2012**

CAROLINE JUNQUEIRA SARTORI

**AVALIAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS NAS
CASCA DE *Anadenanthera peregrina* (ANGICO-VERMELHO)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração A madeira como matéria-prima, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Fábio Akira Mori

**LAVRAS - MG
2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Sartori, Caroline Junqueira.

Avaliação dos teores de compostos fenólicos nas cascas de
Anadenanthera peregrina (angico-vermelho) / Caroline Junqueira
Sartori. – Lavras : UFLA, 2012.

94 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Fábio Akira Mori.

Bibliografia.

1. Polifenóis. 2. Taninos. 3. Casca. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 674.84

CAROLINE JUNQUEIRA SARTORI

**AVALIAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS NAS
CASCAS DE *Anadenanthera peregrina* (ANGICO-VERMELHO)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração A madeira como matéria-prima, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2012

Dra. Ana Hortência Castro	UFSJ
Dr. Gustavo Henrique Denzin Tonoli	UFLA

Dr. Fábio Akira Mori
Orientador

**LAVRAS - MG
2012**

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pelas oportunidades que me foram dadas, pela proteção e por ter colocado em minha vida pessoas muito especiais.

A minha família por serem meu porto seguro e me aturar nos momentos difíceis. Meu irmão, Pedro pela ajuda na coleta do material e companheirismo no dia a dia. Minha mãe Solange pelo apoio e força, por ser meu exemplo. Meu pai Carlos pela preocupação. Minha vó Noeme pelo cuidado e carinho.

Ao Murilo, meu namorado, pelo apoio, carinho, incentivo e pela grande ajuda na coleta do material.

Aos amigos da graduação que seguiram outros caminhos, distantes, porém sempre presentes, em especial Nathália, Dani, Gabizona, Gabizinha, Natalie, Matheus, Elton, Alvaro, Curió,

Aos amigos do mestrado Sabrina, Maíra, Bola, Tião, Cassiana, Jeyme e aos “indiozinhos” do meu coração Alessandra e Jonnys pelos momentos de apertos e alegrias que passamos juntos.

A todos os colegas do Laboratório de Ciência e Tecnologia da Madeira da UFLA pelo companheirismo, em especial Alessandra Ribeiro, pelos ensinamentos e grande ajuda na metodologia.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fábio Akira Mori, pela orientação, incentivo e preocupação e a todos os demais professores do departamento de Ciência e Tecnologia da Madeira.

Aos funcionários Cris, Chica, Ernani, Carlos, Emilio, Melão e Claret por terem ajudado sempre que preciso.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

À professora Ana Hortência pela grande orientação e auxílio na metodologia deste trabalho e a todos do laboratório de Farmacobotânica da Universidade Federal de São João Del Rey, em especial a Taiz pela estadia e ajuda.

A Tina e Flávia, do laboratório Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, pelo auxílio no laboratório.

Ao Thiaguinho pelos ensinamentos e ajuda nas análises estatísticas.

A todos que de maneira direta e indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO GERAL

O Angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) é uma espécie pioneira, sendo sua casca um dos principais produtos não madeireiros ocorrentes no Cerrado, do qual se extrai os taninos. São poucos os estudos de quantificação de fenóis e taninos nas cascas em diferentes diâmetros, tal estudo é de suma importância, pois verifica a viabilidade de utilização de indivíduos oriundos de desbaste florestal, promovendo um maior valor agregado às cascas. Os taninos consistem a segunda fonte de fenóis do reino vegetal, ficando atrás somente da lignina, e são utilizados no curtimento do couro, na indústria alimentícia, farmacêutica, em purificação de águas residuais e na confecção de adesivos para madeira. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos diâmetros a altura do peito (DAP) na produção de fenóis totais, taninos e no rendimento em taninos condensados. As cascas foram coletadas a 1,30m do solo, secas ao ar livre, trituradas em moinho martelo e peneiradas. Foi determinada a umidade das amostras. Os extratos foram preparados conforme metodologia descrita por Castro et al. (2009). O teor de fenóis totais foi determinado pelas metodologias de Folin-Ciocalteu (1927) e Folin-Denis (1912) modificados. Os taninos foram quantificados pela metodologia de Difusão Radial (HAGERMAN,1987) e o rendimento em taninos condensados foi determinado conforme metodologia de Stiasny modificada. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativa a 5% de significância entre as metodologias de quantificação de fenóis. Verificou um aumento nos teores de fenóis totais e taninos com aumento do diâmetro a altura do peito. Nas análises de Stiasny, o fator diâmetro a altura do peito não influenciou estatisticamente nos teores de taninos condensados, somente nas variáveis da metodologia, como teor de sólidos totais, índice de Stiasny e teor de compostos não tânicos. A faixa de diâmetro que apresentou maiores valores para índice de Stiasny e menores valores de compostos não tânicos compreende de 22,5 a 32,5 cm, sendo essa faixa indicada à produção de adesivos.

Palavras-chave: Polifenóis. Taninos. Casca. Angico-vermelho.

GENERAL ABSTRACT

The red-angico (*Anadenanthera peregrina*) is a pioneer species, its barks being a major non-timber products from the Cerrado, which is extracted tannins. There are few studies quantifying phenols and tannins in the different barks diameters, such study is of paramount importance, because checks the feasibility of using individuals from thinning forest, promoting a higher value aggregated to the bark. Tannins consist a second phenols source in the plant kingdom, staying behind only to lignin, and are used in tanning leather, in the food industry, pharmaceuticals, in waste water purification and manufacture adhesives for wood. This study had as objective to evaluate the influence of diameter at breast height (DBH) in total phenols production, tannins and the yield of condensed tannins. The barks were collected at 1.30m of the ground, air dried, crushed in hammer mill and sieved. It was determined the humidity of the samples. The extracts were prepared as methodology described by Castro et al. (2009). The total phenols content was determined by the methodology of Folin-Ciocalteu and Folin-Denis modified. The tannins were quantified by the Radial Diffusion methodology (Hagerman, 1987) and the condensed tannins yield was determined according to the methodology of Stiasny modified. There were no statistical differences significant at the 5% significance between the methods of phenols quantification. It was verified an increase in total phenols content and tannins with increased of diameter at breast height. In the Stiasny analysis, the factor diameter at breast height did not influence statistically in the condensed tannins levels, only in the methodology variables, as total solids content, Stiasny index and content of non-tannin compounds. The diameter range that presented higher values for index Stiasny and smaller values of non-tannin compounds comprising 22.5 to 32.5 cm, and the track indicated to the adhesives production.

Keywords: Polyphenols. Tannins. Bark. Red-angico.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1	Introdução geral	10
1	INTRODUÇÃO	11	
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14	
2.2	Compostos fenólicos	15	
2.3	Taninos	16	
2.3.1	Localização dos taninos nas plantas	21	
2.3.2	Função dos taninos nas plantas e fatores que influenciam os teores de taninos	21	
2.3.3	Espécies florestais mais utilizadas para extração de taninos....	23	
2.3.4	Métodos de extração de taninos	24	
2.3.5	Métodos de determinação dos teores de taninos.....	25	
2.3.6	Utilização dos taninos no curtimento de couro.....	27	
2.3.7	Utilização dos taninos na indústria farmacêutica.....	28	
2.3.8	Utilização dos taninos na indústria alimentícia	29	
2.3.9	Utilização dos taninos na indústria de adesivo de madeira	30	
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	33	
	REFERÊNCIAS	34	
	CAPÍTULO 2	Teores de fenóis e taninos totais nas cascas de angico-vermelho (<i>Anadenanthera peregrina</i>).....	42
1	INTRODUÇÃO	45	
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	49	
2.1	Caracterização da área de estudo	49	
2.2	Coleta e preparo do material.....	49	
2.3	Preparo dos extratos	50	
2.4	Doseamento de fenóis totais pelo método de Folin-Denis	51	
2.5	Doseamento de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu..	52	

2.6	Doseamento de taninos totais através do método de difusão radial	53
2.7	Análise estatística	55
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4	CONCLUSÕES	64
	REFERÊNCIAS	65
	CAPÍTULO 3 Rendimento gravimétrico em taninos condensados nas cascas de <i>Anadenanthera peregrina</i>	68
1	INTRODUÇÃO	71
2	MATERIAL E MÉTODOS	74
2.1	Caracterização da área de estudo	74
2.2	Coleta e preparo do material	74
2.3	Preparo dos extratos e quantificação de taninos	75
2.4	Análise estatística	79
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
4	CONCLUSÃO	86
	REFERÊNCIAS	87
	ANEXOS	89

CAPÍTULO 1 Introdução geral

1 INTRODUÇÃO

Segundo Pizzi (1993), o termo "tanino" tem sido utilizado frequentemente para definir duas classes diferentes de compostos químicos de natureza fenólica, ou seja, os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados. Os taninos representam o segundo maior grupo entre os compostos fenólicos, sendo superado apenas pela lignina, e o quarto constituinte mais abundante nos vegetais, ficando atrás da celulose, hemicelulose e lignina.

Os compostos fenólicos são substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais, os quais são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução.

Os taninos são produzidos pelos vegetais em condições ambientais adversas, sendo responsáveis pela defesa das plantas contra os herbívoros e as doenças patogênicas e essenciais para o crescimento e reprodução do vegetal. Os cerne de muitas árvores mostram excepcional resistência ao ataque de microrganismos devido à presença de extrativos do tipo polifenóis.

Em seu habitat, as plantas estão expostas à intensa radiação solar, dessa forma, degradando moléculas de extrema importância nos processos fotossintéticos, como as clorofilas e outros pigmentos, pelo processo de foto-oxidação. No intuito de se protegerem desta degradação, as plantas sintetizam compostos de origem fenólica que atuam na absorção da radiação nas camadas epidérmicas dos tecidos, regulando o sistema antioxidante nas células. A concentração desses compostos no vegetal pode ser influenciada por diversos fatores, como condições edafoclimáticas, ciclo circadiano, e desenvolvimento do vegetal (GOBBO NETO; LOPES, 2007).

Os taninos estão presentes na maioria das plantas e podem variar de concentração nos tecidos vegetais, dependendo da idade, do órgão da planta

coletado, da época ou, ainda do local de coleta.

O conhecimento da produção de taninos pelas cascas em diferentes diâmetros é de suma importância, de modo a verificar a viabilidade de utilização de indivíduos oriundos de desbastes, de maneira a otimizar a exploração.

Entre as espécies produtoras de taninos se destacam as espécies de Angico, pertencentes à família Fabaceae, diversas são as espécies de angico ocorrentes no Brasil, das quais se extrai, da casca, o tanino (AFONSO, 2008). Segundo o mesmo autor, a casca de Angico é um dos principais produtos não madeireiros ocorrentes no Cerrado.

No Brasil existem várias espécies produtoras de taninos, porém, os curtumes tradicionais da Região Nordeste que utilizam os taninos vegetais, apesar da diversidade de espécies arbóreas e arbustivas de ocorrência na região empregam como fonte de taninos apenas o angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Gris..) Alts.) como sua única fonte de taninos (DINIZ et al., 2003 citado por PAES et al., 2006).

Porém, a atividade de obtenção das cascas do angico é de maneira extrativista, sem a preocupação com o manejo das áreas produtoras, assim, plantas tendem a desaparecer da paisagem do Semiárido. A exploração desordenada, a falta de práticas adequadas de manejo ou de uma política de reflorestamento que vise à reposição das árvores exploradas e, sobretudo, a falta de outras opções de matéria-prima (espécies produtoras de taninos) capazes de, em curto prazo, substituírem ou constituírem com o angico misturas para o curtimento de couros e peles, estão levando ao esgotamento da espécie florestal e à falência de pessoas que dependem dessa cadeia produtiva para o seu sustento (DINIZ et al., 2003 citado por PAES et al., 2006).

A utilização das cascas de Angico-vermelho para extração de taninos é uma alternativa economicamente viável, tendo em vista a ampla gama de utilizações possíveis dos taninos e por se tratar de uma espécie pioneira, de

rápido crescimento, o que promove uma redução nos resíduos da indústria de transformação da madeira e promove um maior valor agregado às cascas.

Após a extração de taninos, a casca pode ainda ser aproveitada para geração de energia para a própria empresa, bem como ser empregada como compostagem ou outras formas de aproveitamento.

Para a extração desses compostos são levados em consideração a padronização granulométrica da amostra, o órgão da planta colhida, as metodologias e os solventes a serem utilizados no sistema. Em algumas espécies a extração é feita utilizando-se somente a água como solvente, devido à sua alta solubilidade, em outras são utilizados solventes orgânicos (etanol, metanol e acetona), ou através de uma mistura de solventes orgânicos com a água, a fim de otimizar o processo e aumentar o lucro.

Os taninos vegetais têm sido quantificados por diversos tipos de ensaios, como precipitação de metais ou proteínas e por métodos colorimétricos, sendo esses últimos mais comuns, embora alguns ensaios colorimétricos sejam usados para quantificar grupos de taninos específicos.

Os taninos são utilizados desde a antiguidade no curtimento do couro, na indústria alimentícia, farmacêutica, e mais atualmente na substituição parcial do composto fenol (oriundo do petróleo) em resinas sintéticas de madeira fenol-formaldeído, pois com a crise do petróleo na década de 70 houve um aumento nos preços de resinas, conseqüentemente um aumento nos incentivos a descoberta de produtos substitutos.

Este trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: quantificar os teores de fenóis totais, utilizando-se duas metodologias de quantificação, bem como comparar essas metodologias, quantificar teores de taninos e determinar o rendimento gravimétrico em taninos condensados nas cascas de *Anadenanthera peregrina*, em diferentes diâmetros.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. (angico-vermelho)

O angico-vermelho pertence à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae e ao gênero *Anadenanthera*, que apresenta sete espécies, algumas delas de estreita afinidade morfológica: *A. cobi*, *A. rigida*, *A. gonoantha*, *A. colubrina*, *A. macrocarpa*, *A. peregrina* e *A. falcata* (RIZZINI, 1971).

A espécie *Anadenanthera peregrina* vegeta em matas semidecíduas e na transição para o Cerrado, sendo a sua madeira muito pesada, dura e de textura média, com ocorrência natural desde o estado do Tocantins até o estado do Rio de Janeiro (LORENZI, 1998).

As espécies de angico possuem alburno pardo-rosado, cerne pardo-avermelhado, podendo revelar tonalidade amarelada uniforme, castanho-rosado que depois se torna castanho-escuro. Apresenta superfície pouco lustrosa e lisa, sabor levemente adstringente, madeira pesada, elástica, dura e bastante durável (REITZ; KLEIN; REIS, 1983).

Afonso (2008), ao analisar as produções de casca de angico nos estados brasileiros, nos últimos 16 anos, observou que mais de 96% da produção é proveniente dos estados do Nordeste, sendo a Bahia responsável por metade da produção nacional. Segundo o mesmo autor, os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) não permitem distinguir as espécies das quais vem sendo feita a extração, contudo, a grande presença nos estados nordestinos evidencia a produção do angico-vermelho, ocorrente no semiárido. A casca de Angico é um dos principais produtos não madeireiros ocorrentes no Cerrado. A espécie *Anadenanthera peregrina* está apresentada na Figura 1.



Figura 1 *Anadenanthera peregrina* (Angico-vermelho)

2.2 Compostos fenólicos

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (LEE et al., 2005).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações ultravioleta, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Segundo Oliveira et al. (2005), os extrativos de caráter fenólico e polifenólico conferem durabilidade natural à madeira. Esses são normalmente formados durante a transformação do alburno em cerne, que se acumulam nos lumens e paredes das células, resultando, na maioria das vezes, numa coloração mais escura do cerne.

Segundo Taiz e Zeiger (2004), os fenóis vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos: alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, outros são ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis em água e há ainda, aqueles que são grandes polímeros insolúveis. Dentre eles, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos e ligninas. Esses compostos fenólicos possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais (SHAHIDI; NACZK, 1995).

2.3 Taninos

Os taninos vegetais ou naturais são, por definição, substâncias que apresentam a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos políois. Esse comportamento é a base das propriedades tanantes que eles exercem sobre o colágeno da pele dos animais ao curso de sua transformação em couro (PIZZI, 1993).

Os taninos são classificados, de acordo com sua origem biossintética, em dois grupos: a) os taninos hidrolisáveis, encontrados em dicotiledôneas lenhosas e herbáceas, que são caracterizadas por um núcleo (glucose) esterificado com ácidos gálicos (galotaninos), e ácidos elágicos (elagitaninos), formado a partir da rota metabólica do ácido chiquímico e b) os taninos condensados ou proantocianidinas, que ocorrem principalmente em gimnospermas e angiospermas e são polímeros da flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, derivados do metabolismo de fenilpropanoides (BRUNETON, 1991). A rota metabólica dos taninos condensados e hidrolisáveis pode ser visualizada na Figura 2.

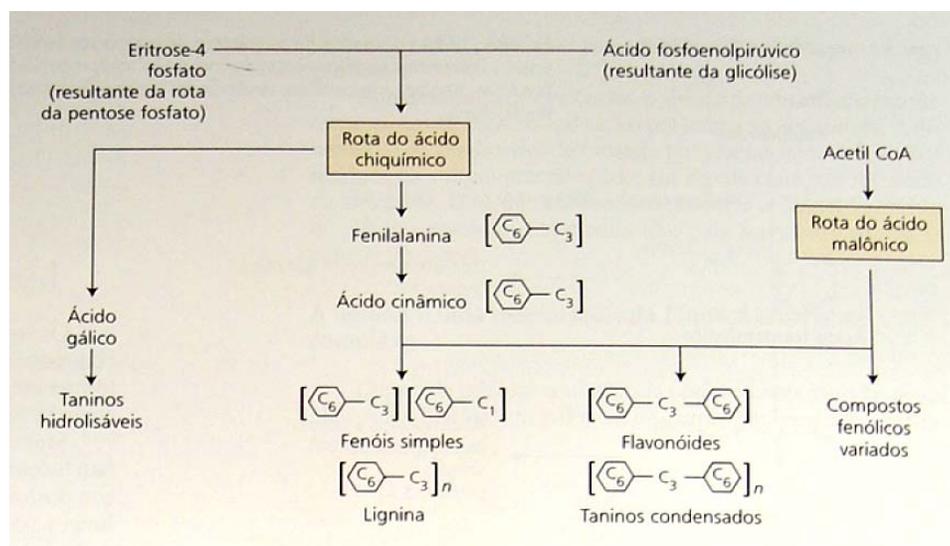


Figura 2 Rota metabólica dos taninos condensados e hidrolizáveis
 Fonte: (TAIZ; ZEIGER, 2004)

Os taninos hidrolizáveis são unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolizáveis em condições ácidas ou básicas (HAGERMAN; BUTLER, 1981). A unidade básica estrutural dos taninos hidrolizáveis é um poliálcool, usualmente D-glucose, com seus grupos hidroxilas esterificados pelo ácido gálico (galotaninos) ou pelo hexadihidroxifenólico (elagitaninos) (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004). Para serem considerados taninos é necessário que pelo menos 3 grupamentos hidroxil da molécula de glicose estejam esterificados para exibir a capacidade de se ligar e precipitar proteínas (PINTO, 2003). Os taninos hidrolizáveis de acordo com a sua estrutura, podem ser divididos em duas subclasses: galotaninos e elagitaninos. Nos galotaninos, os grupos fenólicos que esterificam o núcleo glicosídico são constituídos pelo ácido gálico, ou pelo ácido digálico. Nos elagitaninos, os grupos fenólicos utilizados são moléculas de ácido hexadihidroxifenólico que podem se desidratar espontaneamente para formar sua dilactona estável, o ácido

elágico (MELO, 2008). A Figura 3 demonstra a estrutura química de galotaninos, ácido gálico, elagitaninos e ácido elágico.

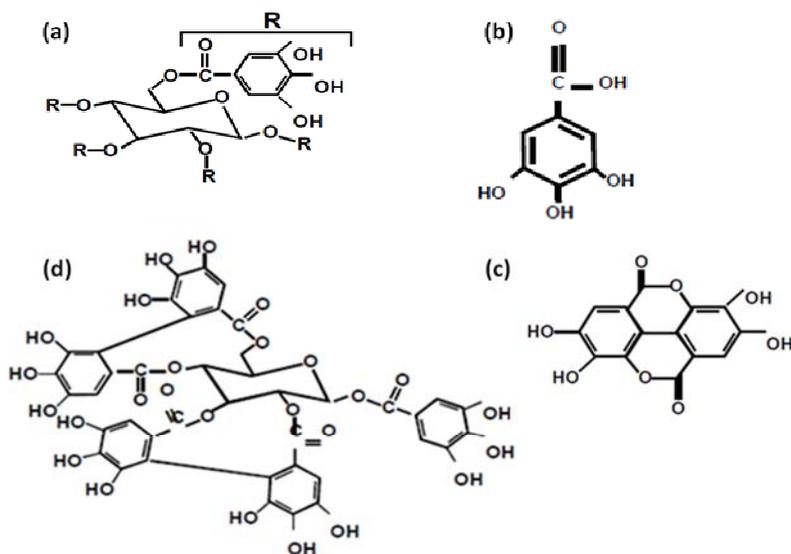


Figura 3 (a) estrutura molecular de galotaninos, (b) estrutura molecular de ácido gálico, (c) estrutura molecular de elagitaninos, e (d) estrutura molecular de ácido elágico

Fonte: (BHAT et al., 1998)

O ácido tânico (Figura, 4) é um típico tanino hidrolisável, que é quebrado por enzimas em glicose e ácido gálico (HELBIG, 2000). O mais comum dos galotaninos é o ácido tânico (PINTO, 2003).

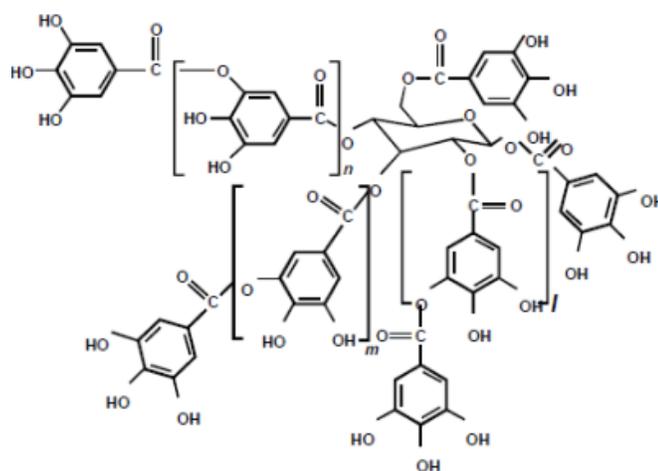


Figura 4 Ácido tânico (tanino hidrolizável)
Fonte: (NAKAMURA; TSUJI; TONOGAI, 2003)

Os taninos condensados são oligômeros e polímeros formados pela policondensação de duas ou mais unidades de flavan-3-ol (catequina) e flavan 3,4-diol (leucoantocianidina). Essa classe de taninos também é denominada como proantocianidina (FREUDENBERG; WEINGES, 1960 citado por SANTOS; MELLO, 2004). Santos e Mello (2004) citam Freudenberg e Weinges, 1958 e 1960, esclarecendo que essa classe de taninos também é denominada como proantocianidina, devido ao fato de os taninos condensados produzirem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, tais como cianidina e delphinidina, após degradação com ácido mineral diluído á quente.

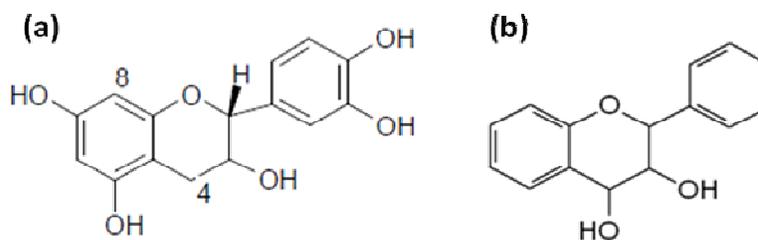


Figura 5 (a) Estrutura química catequina, e (b) estrutura química leucoantocianidina

Os taninos condensados perfazem, aproximadamente, a metade da matéria seca da casca de muitas árvores. Eles constituem a segunda fonte de polifenóis do reino vegetal, perdendo apenas para a lignina (HAGERMAN; ZHAO; JOHNSON, 1997). Os taninos condensados são encontrados em grandes quantidades nas diferentes partes das plantas seja nas folhas, frutas e cascas, mas não têm sido encontrados em monocotiledôneas. Eles podem conter de duas a cinquenta unidades flavanoides, possuem estruturação complexa e são mais resistentes à hidrólise, mas podem ser solúveis em solventes orgânicos aquosos, de acordo com sua estrutura (PIZZI, 1983).

As proantocianidinas são taninos condensados que têm como precursoras unidades monoméricas de flavan-3-óis (catequinas e epicatequinas) em união com flavan-3,4-dióis ou leucoantocianidinas (Efraim, 2004). Quando as moléculas que se condensam são catequinas ou epicatequinas, as proantocianidinas são denominadas procianidinas (WOLLGAST; ANKLAM, 2000).

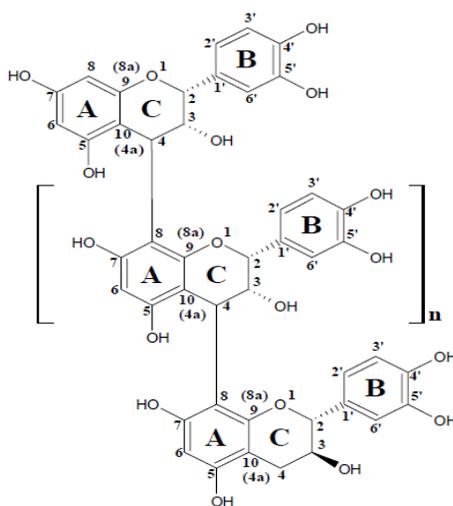


Figura 6 Procianidina (tanino condensado)
Fonte: (QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002)

2.3.1 Localização dos taninos nas plantas

Cerca de 30% das espermatófitas contêm taninos em quantidade substancial. Em algumas espécies, esses podem estar presentes em todos os órgãos da planta e, frequentemente, os taninos encontrados na madeira diferem dos encontrados nas cascas, folhagens e frutos (FARMER, 1967).

Os taninos ocorrem amplamente nos vegetais, porém, sua extração comercial é feita através da casca e/ou do cerne da madeira, locais onde são encontrados em maiores teores e também onde, costumeiramente, ocorrem os maiores problemas com injúrias e ataques de agentes xilófagos (HEMINGWAY, 1989). Geralmente, os taninos ocorrem mais abundantemente nas células do raio e no parênquima longitudinal do cerne. O alburno contém pouco ou nenhum tanino. Na casca, quase sempre ocorrem nas células corticais (BROWN et al., 1952 citado por TRUGILHO et al., 2003). Na casca de muitas espécies, os taninos podem constituir de 2 a 40 % da massa seca. Tais valores podem tornar a extração de taninos economicamente viável para a exploração industrial, considerando-se sua gama de utilizações possíveis (TRUGILHO et al., 1997).

2.3.2 Função dos taninos nas plantas e fatores que influenciam os teores de taninos

Segundo Zucker (1983), os taninos hidrolisáveis são os responsáveis pela defesa das plantas contra os herbívoros e os taninos condensados a assegurar a defesa contra microrganismos patogênicos. De acordo com Farmer (1967), os taninos possuem propriedade germicida muito forte e são responsáveis pela durabilidade natural de algumas madeiras.

Em situações de estresse o vegetal pode modificar sua rota biossintética e produzir substâncias de defesa como respostas às mudanças de seu ambiente (DICKE; HILKER, 2003).

As variações sazonais como fotoperíodo, intensidade luminosa e temperatura podem alterar significativamente os teores de vários grupos fenólicos, principalmente flavonoides, quando monitoradas em diferentes estações do ano (YAO et al., 2005).

Monteiro et al. (2006), estudando os teores de taninos de *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) (Anacardiaceae) e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (Fabaceae - Mimosoidae) observaram que a síntese de substâncias tanantes possui forte relação com a sazonalidade e, essas espécies demonstram diferentes estratégias adaptativas frente a períodos de estiagem e chuva nesse ecossistema, encontrando maiores produtividades em períodos secos, de agosto a novembro.

Áreas fragmentadas com indivíduos localizados na borda e no interior de remanescentes florestais podem apresentar comportamento diferenciado em relação à produção de metabólitos secundários, como resposta às diferentes pressões ambientais. Essas mudanças, no entanto, não são permanentes e evoluem com o tempo à medida que a borda se fecha devido ao crescimento da vegetação (PÉRRICO et al., 2005).

Cabral et al. (2010), estudando a influência de altura, diâmetro e espessura de casca nos teores de taninos em cascas de *Myracrodruon urundeuva* e *Sideroxylon obtusifolium*, verificaram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os teores de taninos observados para as diferentes classes diamétricas e de espessura da casca para ambas as espécies.

Teixeira, Soares e Scolforo (1990) avaliaram a variação do teor de taninos da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) em função de classes diamétricas. Nesse estudo não foi encontrada evidência da influência do diâmetro à altura do peito sobre o teor de taninos.

2.3.3 Espécies florestais mais utilizadas para extração de taninos

Segundo Mori (1997), as propriedades variam entre diferentes espécies ou dentro da mesma espécie, também dependendo do tecido vegetal.

Dentre as espécies tradicionalmente exploradas para a produção, destacam-se o quebracho (*Schinopsis* sp.) de ocorrência na Argentina e Paraguai, podendo conter até 25% da massa seca de sua madeira de cerne em taninos e a acácia-negra (*Acacia mollissima* e *Acacia mearnsii*) de ocorrência natural na Austrália (HASLAM, 1966).

De acordo com Silva (1999), as principais plantas taníferas encontradas no Brasil são: acácia-negra ou mimosa (*Acacia mearnsii*); barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*); aroeira (*Lithraea molleoides*); mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*); quebracho (*Schinopsis lorentzii*); goiabeira (*Psidium guajava* Raddi); murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich); pinheiro (*Araucaria angustifolia*); eucalipto (*Eucalyptus* sp.); angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) e outras.

Haslam (1966) cita como grandes produtoras o *Eucalyptus astringens* (casca contendo 40 a 50% de taninos), o mangue-vermelho *Rhizophora candelaria* e o mangue-branco *Rhizophora mangle* (casca com 20 a 30% de taninos).

No Brasil, há várias espécies produtoras de taninos, porém, os curtumes tradicionais da região Nordeste que utilizam os taninos vegetais, apesar da diversidade de espécies arbóreas e arbustivas de ocorrência na região, têm no angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. cebil) sua única fonte de taninos (DINIZ et al., 2003 citado por PAES et al., 2006).

Trugilho et al. (1997), estudando árvores de angico na região do Cerrado, encontraram teores de taninos de 18,51% nas cascas de *Anadenanthera macrocarpa* utilizando o método de Stiasny.

Para a espécie *Anadenanthera peregrina* são poucos os estudos com relação à produção de compostos fenólicos totais e taninos. Carneiro (2006) e Mariano et al. (2010), encontraram valores médios de teor de taninos condensados de 22,77% e 14,76% respectivamente.

2.3.4 Métodos de extração de taninos

Os taninos são extraídos principalmente da casca ou do cerne de algumas espécies (MORI, 1997). Devido à diversidade das famílias químicas presente na fração de extrativos da casca existe a necessidade de utilizar solventes específicos para o isolamento dos compostos fenólicos, os quais constituem a fração mais significativa, podendo atingir, às vezes, 50% da massa seca da casca. O interesse por esses derivados é grande, pois nesse grupo estão presentes os taninos, compostos fenólicos de utilização diversificada em vários setores industriais tais como: farmacêuticos, curtimento de pele, corantes, adesivos para madeira e derivados (TRUGILHO et al., 1997).

Antes de executar uma extração, deve-se levar em consideração uma série de fatores que interferem nesta operação, tais como o órgão do vegetal a ser extraído o composto, granulometria da amostra, metodologias e os solventes, que serão empregados para a extração. Na escolha de um solvente, além dos fatores relacionados à eficiência do processo extrativo devem ainda ser considerados: a toxidez e/ou os riscos que seu manuseio representa, assim como a estabilidade das substâncias extraídas, a disponibilidade e o custo do solvente (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2004).

Alguns tipos de taninos podem ser extraídos a partir de processos industriais simples, devido à solubilidade desse composto em água. A viabilidade técnica e econômica do processo de extração da casca para obtenção de taninos seria altamente favorecida, não somente pela grande disponibilidade

desse resíduo nas principais indústrias de transformação da madeira, como também por ser a água um produto integrado a vários tipos de atividade industrial. Para a maioria dos outros solventes existem obstáculos associados a problemas de custos, armazenamento, manipulação e recuperação (TRUGILHO et al., 1997).

Talvez o principal dilema enfrentado em um processo de extração é a escolha do solvente ou o sistema mais adequado para realizá-lo. Geralmente, para os compostos fenólicos, a extração é feita por meio de sua solubilização em solventes orgânicos (etanol, metanol e acetona), ou através de uma mistura de solventes orgânicos com a água, a fim de otimizar o processo e aumentar o lucro (OLIVEIRA, 2005). A temperatura de extração com água também varia de espécie para espécie (GOULART et al., 2008).

2.3.5 Métodos de determinação dos teores de taninos

Por essas moléculas apresentarem uma grande variabilidade de estruturas, tanto em taninos condensados como hidrolisáveis, alta reatividade de suas subunidades com materiais oxidativos e complexação com macromoléculas, o processo de isolamento, identificação e quantificação torna-se bastante complexo (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005).

O primeiro passo na análise é a construção de uma curva de calibração para representar a relação proporcional entre a concentração da substância na amostra e, a resposta do equipamento. Essa curva deve ter pelo menos seis determinações. Depois de uma relação visual linear do gráfico plotado, a análise estatística deve ser realizada para definir o coeficiente de determinação e equação regressão (AMORIM et al., 2008).

Os taninos vegetais têm sido quantificados por diversos tipos de ensaios, como precipitação de metais ou proteínas e por métodos colorimétricos, sendo

esses últimos mais comuns. Os métodos mais apropriados para determinação de taninos são os ensaios com precipitação de proteínas (HAGERMAN; ZHAO; JOHNSON, 1997). Um dos métodos de doseamento baseado apenas na reação de complexação de proteínas foi descrito por Hagerman (1987). No ensaio, o tanino difunde por um gel contendo proteína, e o precipitado desenvolve uma forma de disco visível, à medida que o tanino interage com a proteína. O método é simples, sensível e específico, e deve ser especialmente aplicado para estudos nos quais um grande número de amostras será analisado. Esse ensaio não pode ser usado para determinar valores relativos dos dois tipos de tanino, pois o método não é capaz de distinguir taninos condensados de taninos hidrolisáveis. Uma grande vantagem é que fenóis não tânicos como flavonoides, ácidos benzoicos, ou ácidos hidroxicinâmicos não interferem com o ensaio (HAGERMAN, 1987).

Alguns ensaios colorimétricos são usados para quantificar grupos de taninos específicos, muito embora esses métodos sejam amplamente usados para analisar taninos de uma maneira geral. Apesar dessas críticas, alguns autores afirmam que não há método ideal e reforçam que os métodos colorimétricos são os mais utilizados para a análise de taninos (SCHOFIELD; PELL; MBUGUA, 2001).

Entre os métodos colorimétricos, o de Folin-Ciocalteu é o mais utilizado na quantificação de fenóis totais, como é mais prático e menos dispendioso, apesar de ser quimicamente complexo e reagindo com fenóis (AMORIM et al., 2008). A reação baseia-se no princípio de que em meio alcalino os fenóis reduzem a mistura dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico (MONTEIRO et al., 2006) em óxidos de tungstênio e molibdênio de cor azul.

O método colorimétrico de Folin-Denis é bem reconhecido e largamente usado para a quantificação de fenóis totais, mas não faz distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido

ascórbico, formando precipitados que interferem na leitura espectrofotométrica (SCHOFIELD; PELL; MBUGUA, 2001). O Folin-Denis é uma metodologia bastante semelhante ao Folin-Ciocalteu, mas com a desvantagem da formação de um precipitado que interfere nas leituras espectrofotométricas (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999 citado por SILVA, 2007). O que difere o reagente de Folin-Denis do reagente de Folin-Ciocalteu é que este foi adicionado sulfato de lítio para evitar a formação de precipitados (FOLIN; CIOCALTEAU, 1927).

Segundo Pizzi e Mittal (1994), existem dois métodos para a determinação do rendimento gravimétrico em taninos. Um consiste em determinar qual a percentagem dos sólidos absorvidos pelo couro no processo de curtimento; e o outro é feito por Stiasny.

O método de Stiasny consiste na determinação gravimétrica dos produtos precipitados durante a reação dos taninos com o formaldeído, na presença de ácido clorídrico (HCl). O extrato tânico diluído é tratado sob refluxo em meio ácido e com excesso de formaldeído. As frações dos extrativos que são aptas a reagir com formaldeído, precipitado na solução, são então, filtradas e pesadas, e os resultados são relatados como quantidade de precipitação com formaldeído. O método de Stiasny não fornece a percentagem exata de material fenólico no extrato, entretanto esse método é amplamente utilizado, pois tem a vantagem de dar uma medida comparativa da quantidade de taninos que é capaz de reagir com formaldeído, sob condições de formação de adesivos (PIZZI, 1983).

2.3.6 Utilização dos taninos no curtimento de couro

O uso de taninos vegetais pode ser uma alternativa para reduzir os impactos ambientais dos sais e metais pesados (como por exemplo, compostos

baseados em cromo), que também são comumente usados no curtimento do couro, e que são fontes de contaminação (NAZER; AL-SA'ED; SIEBEL, 2006).

São aplicados no curtimento do couro, em função da sua capacidade de se combinar com proteínas da pele animal, ou seja, na associação dos polifenóis com a proteína do colágeno que irá inibir o processo de putrefação da pele (MELO, 2008).

No processo de curtimento do couro existem algumas patentes, tais como Processo de curtimento do couro (LEUCK, 1997), Processo de biocurtimento de couro (SUBRAMANI et al., 2004).

2.3.7 Utilização dos taninos na indústria farmacêutica

Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional como remédios para o tratamento de diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (HASLAM, 1996).

Acredita-se que as atividades farmacológicas dos taninos são devidas, pelo menos em parte, a: i) complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros); ii) atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e iii) habilidade de complexar com outras moléculas incluindo macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos (HASLAM, 1996).

Composições e métodos de tratamento de hipertensão com complexos de tanino foram protegidos em patente por Thekkumkara (2009), sendo que a composição inclui uma quantidade efetiva de um ou mais ácidos tânico dispostos em um veículo farmacologicamente aceitável. Métodos e composições para tratamento de feridas foram protegidos em patente por McAnulty, Murphy

e Abbott (2009), Antiobesidade: composição contendo derivados da casca de acácia, protegidos em patente por Nakamoto e Ono (2010).

2.3.8 Utilização dos taninos na indústria alimentícia

O conjunto de aromas da madeira, geralmente, se deve a moléculas de baixo peso molecular e transmitem importantes notas de percepção a vinhos e aguardentes. Em compensação, moléculas responsáveis pelo paladar são polimerizadas em cadeias maiores e fornecem percepções de gostos, como doce ou amargo e outras sensações, como a adstringência, causada pelos taninos (VIVAS, 1998).

Existem várias substâncias químicas conhecidas como compostos polifenólicos que afetam a cor, sabor e paladar dos vinhos. Entre eles encontramos os taninos, presentes principalmente no vinho tinto e que surgem a partir de sementes de uva, peles, e as hastes, mas também dos barris de carvalho onde o vinho é envelhecido (VERA et al., 2010).

São empregados com frequência, devido ao grande impacto gustativo causado após o envelhecimento de bebidas alcoólicas (MARQUETTE, 1999). Sua principal propriedade palatável é a adstringência e o amargor (DOUSSOT, 2000). A adstringência ao paladar é devido à precipitação das proteínas salivares, quando interagem com taninos presentes no vinho (JACKSON, 2002 citado por VERA et al., 2010).

A tanase é uma enzima extracelular, induzível, produzida na presença de ácido tânico por fungos, bactérias e leveduras (AGUILAR et al., 1999). A enzima tem vasta aplicação na indústria de alimentos, sucos, cervejaria, cosméticos, farmacêutica e indústria química (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004). A tanase é utilizada como agente clarificador em alguns sucos de frutas e em bebidas geladas a base de café, onde seu uso se concentra

na remoção de compostos fenólicos presentes no material vegetal, a fim de evitar sua complexação e precipitação (LEKHA; LONSANE, 1997).

Os taninos (ácido tânico - tanino hidrolisável) são utilizados na cerveja, com o objetivo de reduzir a concentração de proteínas, através de precipitação como complexos tanino-proteicos, que são retirados da cerveja através de sedimentação ou centrifugação/filtração (REINOLD, 1997).

Os taninos são considerados nutricionalmente indesejáveis porque precipitam proteínas, inibem enzimas digestivas e afetam a utilização de vitaminas e minerais podendo, ainda, em alta concentração, desenvolver câncer de bochecha e esôfago (SINGH; BHAT; SHARMA, 2001).

O método de remoção de proteínas de bebidas com tanino reticulado/óxidos inorgânicos e método para a classificação de vinho e café estão protegidos nas patentes (MICHOS, 1998) e (POPP et al., 2002) respectivamente.

2.3.9 Utilização dos taninos na indústria de adesivo de madeira

As indústrias utilizam adesivos sintéticos devido à sua excelente qualidade, mas no início da década de 70, com a crise do petróleo e aumento dos custos dos recursos de origem petrolífera, surgiu o interesse em substituir o constituinte sintético fenol, das resinas FF (fenol-formaldeído), por polifenóis naturais (PIZZI; MITTAL, 2003). A partir dessa data, várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de substituir, parcial ou totalmente, os adesivos comerciais convencionais, tais como ureia-formaldeído e fenol-formaldeído, e dentre as fontes naturais destacam-se os taninos vegetais, por terem capacidade de reagir com o formaldeído e, também, pela facilidade de extração (CARNEIRO et al., 2010).

As pesquisas para desenvolvimento dos adesivos tânicos são extremamente importantes por buscarem alternativas para a indústria de painéis, visto que o custo da aquisição de adesivos sintéticos representa um componente de peso no custo total do produto (CARNEIRO et al., 2009).

Nas indústrias de compensados e aglomerados, as resinas tradicionalmente utilizadas são as fenólicas e ureicas, sendo essas últimas de baixa resistência à umidade, ambas obtidas pela condensação de formaldeído com fenol ou ureia, respectivamente (GONÇALVES; LELIS; OLIVEIRA, 2008).

Os taninos obtidos da casca ou da madeira de algumas espécies florestais, a exemplo da *Acacia mearnsii* e do *Schinopsis sp*, apresentam grande potencial para substituir os adesivos sintéticos. No entanto, o tanino oriundo da casca da *A. mearnsii*, ainda é o mais utilizado e desponta como sendo o mais promissor. Indústrias na África já utilizam resinas à base de tanino na confecção de chapas aglomeradas. No Brasil, em especial no Rio Grande do Sul, também são produzidas e utilizadas resinas à base de tanino-formaldeído para a produção de aglomerados. Os adesivos à base de tanino além de serem mais baratos que os adesivos à base de fenol e formol, possuem satisfatória resistência à água. (HILLING; HASELEIN; SANTINI, 2002).

Os adesivos à base de taninos, no entanto, apresentam algumas limitações como alta reatividade com o formaldeído, elevada viscosidade, aplicabilidade e resistência à linha de cola. Os três principais fatores que prejudicam a produção desses adesivos são: a) presença de substâncias não tânicas no extrato, como açúcares e gomas; b) a forma e tamanho da molécula tânica reduzem a sua mobilidade, que vai se tornando cada vez menor à medida que prossegue a policondensação; e c) presença do anel éter na estrutura flavonoide, que é hidrofóbico e acarreta aumento na viscosidade dos adesivos. A viscosidade e a linha de cola fraca e quebradiça, no entanto, podem ser

modificadas e os problemas solucionados ou minimizados, através das reações de sulfitação e, ou, hidrólise ácida ou alcalina dos taninos e, também, pela adição dos taninos a outros adesivos sintéticos (CARNEIRO et al., 2009).

Na indústria de adesivos à base de taninos existem algumas patentes, tais como: composição de adesivo compreendendo isocianato de fenol-formaldeído e tanino, útil para fabricação de compensados para aplicação exterior, protegido em patente por Pizzi, Von e Westermeyer (1992), produção de Adesivos Naturais para Madeira, protegido em patente por Mori (2010).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os taninos são metabólitos secundários, de composição fenólica, produzidos nas cascas de muitas espécies florestais, sendo esta um resíduo do setor de transformação da madeira. A utilização das cascas de *Anadenanthera peregrina* para extração de taninos torna-se economicamente viável, tendo em vista a ampla gama de utilizações possíveis dos taninos, bem como por promover um maior valor agregado às cascas e um maior aproveitamento dos resíduos.

O angico-vermelho é uma espécie pioneira, nativa do cerrado, com potencial tanífero compatível com de outras espécies potenciais produtoras de taninos, sendo bastante utilizadas em curtumes.

O maior dilema no processo de extração de taninos é a escolha do solvente e do sistema mais adequado. Os problemas relacionados aos solventes são devidos ao custo, recuperação, armazenamento e toxidez. Em algumas espécies a extração é feita utilizando-se somente água como solvente, em outras a associação desta com solventes orgânicos, sendo etanol, metanol e acetona os mais utilizados.

No processo de quantificação de taninos são utilizados métodos de precipitação de proteínas e métodos colorimétricos/espectrofotométricos, sendo esses últimos específicos para alguns grupos de taninos e fenóis totais.

Os métodos de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu são largamente utilizados para quantificar o teor de polifenóis. Para a quantificação de taninos, esses métodos também podem ser utilizados, porém os taninos são retirados mediante adsorção com proteína, e feita a diferença entre os teores de fenóis totais e fração não adsorvida. O método de difusão radial consiste na capacidade dos taninos em formarem complexo com substrato proteico, sendo específicos na quantificação de taninos.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, S. R. **Análise sócio-econômica da produção de não-madeireiros no cerrado brasileiro e o caso da cooperativa de pequi em Japonvar, MG.** Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008. 107 p.
- AGUILAR, C. et al. A comparison of methods to determine Tannin Acyl Hydrolase Activity. *Brazilian Archives of Biology and Technology, Curitiba*, v. 42, n. 3, p. 355-361, 1999.
- AMORIM, E. L. C. et al. A Simple and accurate procedure for the determination of Tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. *Functional Ecosystems and Communities, Ikenobi*, v. 2, n. 1, p. 88-94, 2008.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, K. L.; MACEDO, A. G. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. *Alimentos e Nutrição, Araraquara*, v.15, n.1, p. 63-72, 2004.
- BHAT, T. K.; SINGH, B.; SHARMA, O. P. Microbial degradation of tannins—a current perspective. *Biodegradation, Dordrecht*, v. 9, p. 343-357, 1998.
- BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia.** Acribia: Zaragoza, 1991. 600 p.
- CABRAL, D. L. V. et al. Relationship of biometric parameters on the concentration of tannins in two medicinal plants: a case study. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Santiago*, v. 9, n. 5, p. 368-376, 2010.
- CARNEIRO, A. C. O. **Efeito da hidrólise ácida e sulfitação de taninos de *Eucalyptus grandis* w. hill ex maiden e *Anadenanthera peregrina* Speg., nas propriedades dos adesivos.** 2006. 182 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- CARNEIRO, A. C. O. et al. Determinação da massa molar de taninos vegetais através da técnica da cromatografia de permeação em gel. *Science Forestaly, Piracicaba*, v. 38, n. 87, p. 419-429, set. 2010.

CARNEIRO, A. C. O. et al. Propriedades de chapas de aglomerado fabricadas com adesivo tânico de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) e uréia-formaldeído. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 521-531, 2009.

CASTRO, A. H. F. et al. Calogênese e teores de fenóis e taninos totais em barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) coville]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 385-390, mar./abr. 2009.

DICKE, M.; HILKER, M. Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 4, p. 3-14, 2003.

DOUSSOT, F. **Variabilité des teneurs en extractibles des chênes sessile (*Quercus petraea* Liebl.) et pédoculé (*Quercus robur* L.) - influence sur l'élevage des vins en barriques**. 2000. 359 p. Thèse (Doctorat) - Université du Bordeaux II, Bordeaux, 2000.

EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate**. 2004. 114 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. D. et al. (Ed.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2004. p. 229-245.

FARMER, R. H. **Chemistry in the utilization of wood**. Oxford: Pergamon, 1967. v. 9, 132 p.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.73, p. 627, 1927.

FOLIN, O.; DENIS, W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 12, p. 239-243, 1912.

GOBBO NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, mar./abr. 2007.

GONÇALVES, F. G.; LELIS, R. C. C.; OLIVEIRA, J. T. S. Influência da composição da resina tanino-uréia-formaldeído nas propriedades físicas e mecânicas de chapas aglomeradas. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 32, n. 4, p. 715-722, 2008.

GOULART, S. L. et al. Obtenção de taninos a partir das folhas de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (mart.) Coville] em diferentes granulometrias visando a produção de adesivos. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRA E ESTRUTURAS DE MADEIRA, 11., 2008, Londrina. 2008. **Anais...** Londrina: [s. n.], 2008. 1 CD ROM.

HAGERMAN, A.; BUTLER, L. G. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 256, p. 4494-4497, 1981.

HAGERMAN, A. E; ZHAO, Y.; JOHNSON, S. Methods for determination of condensed and hydrolyzable tannins. **ACS Symposium Series**, Washington, v. 662, p. 209-222, 1997.

HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 13, n. 3, p. 437-448, 1987.

HASLAM, E. **Chemistry of vegetable tannins**. London: Academic, 1966. 170 p.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins): as drug and medicines: possible modes of action. **Journal of Natural Products**. *Lloydia*, v. 59, p. 205-215, 1996.

HELBIG, E. **Ação da maceração prévia ao cozimento do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L) nos teores de fitatos e taninos e conseqüências sobre o valor protéico**. 2000. 67 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Campinas, Campinas, 2000.

HEMINGWAY, R. W. **Chemistry and significance of condensed tannins**. New York: Plenum, 1989. 553 p.

HILLING, E.; HASELEIN, C. R.; SANTINI, E. J. Propriedades mecânicas de chapas aglomeradas estruturais fabricadas com madeiras de pinus, eucalipto e Acácia-negra. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 59-70, 2002.

LEE, S. J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LEKHA, P. K.; LONSANE, B. K. Production and application of Tannic Acyl Hydrolase: State of the art. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 44, p. 215-260, 1997.

LEUCK, A. C. **Processo de curtimento de couro**. United States Patent 902594.1997.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1998. 352 p.

MARIANO, R. et al. Determinação do teor de taninos a partir da casca de Angico, *Anadenanthera* Spp. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRAS E EM ESTRUTURAS DE MADEIRA, 12., 2010, Lavras. **Trabalhos...** Lavras: EBRAMEM, 2010.

MARQUETTE, B. Usage des tanins em enologie. **Revue Française d'Enologie**, Paris, n. 174, p. 26-28, 1999.

MCANULTY, J. F.; MURPHY, C.; ABBOTT, N. **Métodos e composições para tratamento de feridas**. United States Patent 20090263468. 2009.

MELO, A. F. **Desenvolvimento preliminar de um biossensor enzimático para determinação de taninos hidrolisáveis**. Dissertação (Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MICHOS, D. **Método de remoção de proteínas de bebidas com tanino reticulado/óxidos inorgânicos**. United States Patent 017128. 1998.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MONTEIRO, J. M. et al. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. And *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 338-344, July/Sept. 2006.

MORI, F. A. **Produção de adesivos naturais para madeira**. PI1001158-7. 2010.

MORI, F. A. **Uso de taninos da casca de *Eucalyptus grandis* para produção de adesivos de madeira**. 1997. 47 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1997.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, New York, n. 1/2, p. 95-111, 2004.

NAKAMOTO, Y.; ONO, K. **Anti-Obesidade composição contendo derivados da casca de acácia**. 20100008887. 2010.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: application to tannic acid metabolism in the rat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 331-339, 2003.

NAZER, D. W.; AL-SA'ED, R. M.; SIEBEL, M. A. Reducing the environmental impact of the unhairing eliminating process in the leather tanning industry. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 14, p. 65-74, 2006.

OLIVEIRA, J. T. S. et al. Influência dos extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 5, p. 819-826, Sept./Oct. 2005.

OLIVEIRA, M. A. **Extração de polifenóis da semente de cacau (*Theobroma cacao*)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. 72 p.

PAES, J. B. et al. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 3, p. 232-238, 2006.

PÉRICO, E. et al. Efeitos da fragmentação de habitats sobre comunidades animais: utilização de sistemas de informação geográfica e de métricas de paisagem para seleção de áreas adequadas a testes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 12., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: INPE, 2005. p. 2339-2346.

PINTO, G. A. S. **Produção de tanase por *Aspergillus niger***. 2003. 213 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

PIZZI, A.; MITTAL, K. L. **Handbook of adhesive technology**. New York: M. Dekker, 1994. 680 p.

PIZZI, A.; MITTAL, K. L. **Handbook of adhesive technology**. 2nd. ed. New York: M. Dekker, 2003. 720 p.

PIZZI, A. Tanin-Based adhesives. In: PIZZI, A. (Ed.). **Wood adhesives: chemistry and technology**. New York: M. Dekker, 1993. p. 177-246.

PIZZI, A.; VON, L. E.; WESTERMEYER, C. **Composição de adesivo compreendendo isocianato de fenol-formaldeído e tanino, útil para fabricação de compensados para aplicação exterior**. United States Patent 976357. 1992.

PIZZI, A. **Wood adhesives: chemistry and technology**. New York: M. Dekker, 1983. 364 p.

POPP, M. A. et al. **Método para a classificação de vinho e café**. United States Patent 10479064. 2002.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da Aroeira-Preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

REINOLD, R. M. Produtos utilizados para melhorar a estabilidade físico-química da cerveja. **Engarrafador Moderno**, São Paulo, v. 52, p. 56-58, jul./ago. 1997.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. **Sellowia**, Itajaí, n. 34, p. 525, 1983.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira**. São Paulo: E. Blucher, 1971. 295 p.

SANTOS, S. C.; MELLO J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Florianópolis: UFSC, 2004. p. 615-656.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 21-40, 2001.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics**: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic, 1995.

SILVA, C. H. T. P. **Validação de metodologia analítica para matéria-prima e produto acabado contendo *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville**. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

SILVA, T. S. S. **Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e esgoto**. 1999. 88 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, São Paulo, 1999.

SINGH, B.; BHAT, T. K.; SHARMA, O. P. Biodegradation of tannic acid in an in vitro ruminal system. **Livestock Production Science**, India, v. 68, p. 259-262, 2001.

SUBRAMANI, S. et al. **Processo de bio-curtimento de couro**. United States Patent 11021567. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TEIXEIRA, M. L.; SOARES, A. R.; SCOLFORO, J. R. S. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em 10 locais de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 14, n. 2, p. 229-232, 1990.

THEKKUMKARA, T. J. **Composições e métodos de tratamento de hipertensão com complexos tanino**. United States Patent 20090118202. 2009.

TRUGILHO, P. F. et al. Avaliação do conteúdo em taninos condensados de algumas espécies típicas do cerrado mineiro. **Revista Cerne**, Lavras, v. 3, n. 1, p. 1-13, 1997.

TRUGILHO, P. F. et al. Determinação do teor de taninos na casca de *Eucalyptus* spp. **Revista Cerne**, Lavras, v. 9, n. 2, p. 246-254, jul./dez. 2003.

VERA, L. et al. Application of an electronic tongue based on FT-MIR to emulate the gustative mouthfeel "tannin amount" in red wines. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 397, p. 3043-3049, 2010.

VIVAS, N. **Manuel de tonnellerie**. Paris: Féret, 1998. 155 p.

WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Review in polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, Essex, n. 33, p. 423-447, 2000.

YAO, L. et al. Seasonal variations of phenolic compounds in Australia-grown tea (*Camellia sinensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 6477-6483, 2005.

ZUCKER, W. V. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. **The American Naturalist**, Lancaster, v. 121 n. 3, p. 335-365, 1983.

**CAPÍTULO 2 Teores de fenóis e taninos totais nas cascas de angico-
vermelho (*Anadenanthera peregrina*)**

RESUMO

O Angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) é uma espécie pioneira, sua casca é um dos principais produtos não madeireiros ocorrentes no Cerrado, destinados à extração de compostos fenólicos. O objetivo deste trabalho foi a quantificação de fenóis totais por meio de duas metodologias, bem como a comparação entre estas e a quantificação de taninos nas cascas de Angico-vermelho em diferentes classes de diâmetro. Para a realização deste trabalho foram utilizadas cascas de *Anadenanthera peregrina* (Angico-vermelho), coletadas a 1,30m do solo, em trinta e cinco árvores distribuídas em sete classes diamétricas. As mesmas foram secas ao ar livre, trituradas em moinho martelo e suas partículas padronizadas numa granulometria de 60 mesh. A extração foi realizada conforme metodologia de Castro et al. (2009). O doseamento de fenóis totais foi realizado conforme metodologias de Folin e Denis (1912) e de Folin & Ciocalteu modificados, e para o doseamento de taninos foi utilizado o método de difusão radial segundo Hagerman (1987). Não foi encontrada diferença estatística significativa entre as metodologias de quantificação de fenóis totais empregadas. O diâmetro a altura do peito se relacionou de maneira positiva e linear com valores de fenóis totais e taninos.

Palavras-chave: Angico-vermelho. Metodologias de quantificação de fenóis. Polifenóis. Taninos. Difusão radial. Casca.

ABSTRACT

The red-angico (*Anadenanthera peregrina*) is a pioneer species, its barks being a major non-timber products from the Cerrado, destined the extraction of phenolic compounds. The objective of this study was the total phenols quantification by using two methodologies, as well as the comparison between these and the tannins quantification in the barks of red-angico in different diameter classes. For this work were used barks of *Anadenanthera peregrina* (red-angico), collected at 1.30m of the ground, in thirty-five trees distributed in seven diameter classes. The samples were air dried, crushed in hammer mill and its standardized particles of 60 mesh. The extraction was performed according to the methodology described by Castro et al. (2009). The dosage determination of total phenols was performed according to the methodology of Folin & Denis (1912) and Folin & Ciocalteu modified, and for tannins dosage was used the diffusion radial method according to Hagerman (1987). There was no statistically significant difference between the quantification methodologies of total phenols used. The diameter at breast height was related positively and linearly with values of total phenols and tannins.

Keywords: Red-angico. Methodologies quantification phenols. Polyphenols. Tannins. Radial diffusion. Bark.

1 INTRODUÇÃO

Comumente conhecida como angico, angico-vermelho, *Anadenanthera peregrina* é uma espécie pioneira, pertencente à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, que possui ampla distribuição geográfica. Ocorre em Florestas Semidecíduas e na transição com o Cerrado, nos Estados do Tocantins, Goiás, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 1998).

Diversas são as espécies de angico ocorrentes no Brasil, das quais se extrai, da casca, o tanino (AFONSO, 2008). Segundo o mesmo autor, a casca de Angico é um dos principais produtos não madeireiros ocorrentes no Cerrado, sendo fonte natural de compostos fenólicos. A utilização dessas cascas promove um aproveitamento de resíduos e um maior valor agregado a elas, tendo em vista a ampla gama de utilização dos compostos fenólicos.

O consumo de cascas de angico-vermelho pelos curtumes localizados no município de Cabaceiras-PB é de, aproximadamente 200 toneladas/ano. Considerando que uma árvore de angico aos 8 anos de idade (ciclo de rotação) pode produzir até 25 kg de cascas, seriam necessárias cerca de 8.000 árvores para suprir essa demanda (MARINHO, 2004).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis (HARBONE, 1989). Segundo Taiz e Zeiger (2004), os fenóis vegetais que constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos. Dentre eles, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos e ligninas. Esses compostos fenólicos possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais (SHAHIDI; NACZK, 1995). São originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em

condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Os taninos vegetais ou naturais são por definição substâncias que apresentam a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos poliois. Esse comportamento é a base das propriedades tanantes que eles exercem sobre o colágeno da pele dos animais ao curso de sua transformação em couro (PIZZI, 1993). Os taninos ocorrem amplamente nos vegetais, porém, sua extração comercial é feita através da casca e/ou do cerne da madeira, locais onde são encontrados em maiores teores (HEMINGWAY, 1989). Esses compostos fenólicos são responsáveis pela defesa das plantas contra os herbívoros e doenças patogênicas (HARBONE; PALO; ROBBINS, 1991).

Os taninos são divididos e classificados de acordo com a sua origem biossintética em taninos hidrolisáveis, formado a partir da rota metabólica do ácido chiquímico e taninos condensados ou proantocianidinas, derivados do metabolismo de fenilpropanoides. Os taninos condensados constituem a segunda fonte de polifenóis do reino vegetal, ficando atrás somente da lignina, e o quarto constituinte mais abundante nos vegetais, sendo superado pela celulose, hemiceluloses e lignina.

Em situações de estresse o vegetal pode modificar sua rota biossintética e produzir substâncias de defesa como respostas às mudanças de seu ambiente (DICKE; HILKER, 2003).

Os taninos estão presentes na maioria das plantas e podem variar de concentração nos tecidos vegetais, dependendo da idade, do órgão da planta coletado, da época, ou ainda do local de coleta.

São poucos os estudos de quantificação de fenóis e taninos nas cascas em diferentes diâmetros, tal estudo é de suma importância, pois verifica a viabilidade de utilização de indivíduos oriundos de desbaste florestal, promovendo um maior valor agregado às cascas.

Teixeira, Soares e Scolforo (1990) avaliaram a variação do teor de taninos da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) em função de classes diamétricas. Nesse estudo não foi encontrada evidência da influência do diâmetro à altura do peito em relação ao teor de taninos.

Entre os métodos de quantificação de fenóis totais destacam as metodologias colorimétricas/espectrofotométricas de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu, porém essas metodologias não são específicas para taninos. O método Folin-Ciocalteu é o responsável pela coloração azul formada após reação com o ácido tânico. Segundo Amorim et al. (2008), a reação baseia-se no princípio de que em meio alcalino os fenóis reduzem a mistura dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico em óxidos de tungstênio e molibdênio de cor azul.

O método de Folin-Denis é bem reconhecido e largamente usado, mas não faz distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido ascórbico, formando precipitados que interferem na leitura espectrofotométrica (SCHOFIELD; PELL; MBUGUA, 2001).

Um dos métodos de doseamento baseado apenas na reação de complexação de proteínas foi descrito por Hagerman (1987). No ensaio, o tanino difunde por um gel contendo proteína, e o precipitado desenvolve uma forma de disco visível à medida que o tanino interage com a proteína. O método é simples, sensível e específico, e deve ser especialmente aplicado para estudos nos quais um grande número de amostras será analisado. Esse ensaio não pode ser usado para determinar valores relativos dos dois tipos de tanino, pois o método não é capaz de distinguir taninos condensados de taninos hidrolisáveis. Uma grande vantagem é que fenóis não tânicos como flavonoides, ácidos benzoicos, ou ácidos hidroxicinâmicos não interferem com o ensaio (HAGERMAN, 1987).

O objetivo deste trabalho foi quantificar os teores de fenóis totais e taninos nas cascas de *Anadenanthera peregrina* em diferentes diâmetros, de modo a verificar a influência deste parâmetro biométrico nos teores, bem como verificar a semelhança entre duas metodologias de quantificação de fenóis totais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área de estudo

O plantio de Angico pertence a uma área experimental do Campus da Universidade Federal de Lavras (Lavras-MG). A cidade de Lavras localiza-se na região Sul do Estado de Minas Gerais, à latitude de 21° 14' sul e longitude 45°00' oeste, a uma altitude média de 900 m. Segundo a classificação de Köppen, o clima é Cwa. A temperatura média anual do ar é de 19,4 °C e o total anual de precipitação pluvial de 1530 mm (BRASIL, 1992).

2.2 Coleta e preparo do material

Coletou-se cascas externas de *Anadenanthera peregrina* na altura de 1,30 m do solo (DAP) tomando-se cuidado para não atingir o câmbio vascular. A coleta foi realizada com o auxílio de facão, retirando-se lascas de aproximadamente 10 cm de comprimento por 3 cm de largura, de maneira intercalada ao longo do perímetro do fuste, de maneira a evitar o contorno total do mesmo. Foram coletadas amostras de cinco árvores por classe diamétrica, conforme pode ser visto na Tabela 1. Os indivíduos coletados não pertenciam à borda do fragmento. O período de coleta foi em julho de 2011.

Tabela 1 Características diamétricas do plantio de *Anadenanthera peregrina* e dos indivíduos utilizados na etapa experimental

Intervalo das classes diamétricas (cm)	Valor central das classes diamétricas (cm)	Diâmetro médio das amostras (cm)	Altura média das amostras (m)
5 a 9,99	7,5	7,3 (9,52%)	8,0 (14,43%)
10 a 14,99	12,5	11,99 (8,22%)	10,9 (14,65%)
15 a 19,99	17,5	16,8 (2,47%)	14,0 (12,44%)
20 a 24,99	22,5	22,7 (4,26%)	14,6 (7,92%)
25 a 29,99	27,5	27,6 (5,35%)	15,8 (13,18%)
30 a 34,99	32,5	31,1 (3,44%)	17,0 (12,25%)
35 a 39,99	37,5	37,4 (2,70%)	18,3 (5,26%)

Os valores entre parênteses correspondem ao coeficiente de variação de diâmetro e altura entre os 5 indivíduos coletados de cada classe diamétrica.

As cascas foram secas ao ar livre, moídas em moinho martelo e peneiradas, utilizando-se um conjunto de peneiras na granulometria de 40 e 60 mesh, utilizando-se neste trabalho o material retido na peneira de 60 mesh. Após a moagem e classificação da granulometria, as amostras foram armazenadas em sacos de papel abertos e mantidas em sala de climatização com temperatura de 20 °C (\pm 2 °C) e umidade relativa do ar de 60% (\pm 5%), até obterem massa constante, para a determinação da umidade na base seca pelo método da estufa.

2.3 Preparo dos extratos

Foram utilizados o correspondente a 200 mg de casca seca e moída, a qual foi extraída em 10mL de metanol a 50% (v/v), em maceração a frio e agitação constante por um período de 4 horas, segundo metodologia descrita por Castro et al. (2009). O extrato foi filtrado em papel filtro e o volume completado para 10 mL.

2.4 Doseamento de fenóis totais pelo método de Folin-Denis

As análises de fenóis totais foram realizadas no laboratório de Farmacobotânica e plantas medicinais, no Departamento de Farmácia da Universidade Federal de São João Del Rey, UFSJ – Campus de Divinópolis-MG.

A curva de calibração foi preparada a partir das medidas de absorbância da solução padrão de ácido tânico (100mg/1000mL), Sigma-Aldrich, em alíquotas de 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 e 0,7 mL em tubos de ensaio. A esses volumes foram adicionados água destilada em quantidade decrescente 3,45; 3,4; 3,3; 3,2; 3,1; 3,0; 2,9 e 2,8 mL respectivamente, 0,25 mL da solução de Folin-Denis (ANEXO A), 0,5 mL da solução de carbonato de sódio saturado (Na_2CO_3) (ANEXO B), sendo adicionado ao final 0,75 mL de água. Totalizando 5 mL por tubo. Esperou-se 30 minutos para reação, e foram realizadas as leituras no espectrofotômetro a 760 nm.

As amostras foram processadas em duplicata. Para a quantificação de fenóis totais foram transferidos 0,05 mL do extrato bruto para um tubo de ensaio, 3,45 mL de água destilada, 0,25 mL de reagente Folin-Denis, 0,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio e 0,75 mL de água, formando uma mistura de cor azul (Figura 1). Após 30 minutos foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 760 nm, modelo uv-vis, Quimis.

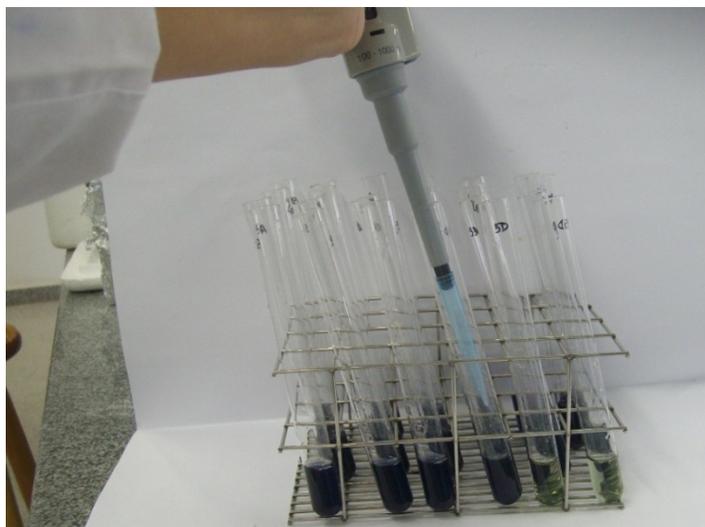


Figura 1 Doseamento de fenóis totais por Folin-Denis

2.5 Doseamento de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu

As análises de fenóis totais por Folin-Ciocalteu foram realizadas no Laboratório de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

Utilizou-se metodologia de Waterhouse (2002), com algumas modificações. Para preparo da curva padrão foi utilizada solução alcoólica de ácido tânico 100mg/50mL (Solução mãe 1). Retirou-se dessa solução 5 mL e completou-se o volume para 50 mL de etanol absoluto (Solução intermediária). Retirou-se alíquotas de 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 e 1,1 ml da solução intermediária, sendo o volume completado para 2 ml (Solução mãe 2). Dessas soluções foram retirados 0,5 ml acrescidos de 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) a 10% (v/v) e 2,0 mL da solução de Carbonato de sódio a 4% (m/v), sendo essa mistura protegida da luz e após 30 minutos foi medida a absorbância em espectrofotômetro Varian, Cary 50 Probe em 760 nm.

Para a quantificação de fenóis nas amostras, foram retirados 0,5 mL de cada extrato, acrescidos de 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu a 10% (v/v) e 2,0 mL da solução de Carbonato de sódio a 4% (m/v), sendo protegidos da luz e após 30 minutos foi medida a absorbância em espectrofotômetro em 760 nm.

2.6 Doseamento de taninos totais através do método de difusão radial

As análises de taninos foram realizadas no laboratório de Farmacobotânica e plantas medicinais, no Departamento de Farmácia da Universidade Federal de São João Del Rey, UFSJ – Campus de Divinópolis-MG.

Utilizou-se o método de difusão radial segundo Hagerman (1987). Uma solução de 50 mM de ácido acético e 60 μ M de ácido ascórbico foi preparada, sendo o pH ajustado para 5,0 pela adição de NaOH. O gel foi preparado utilizando agarose (tipo I) (Sigma-Aldrich) 1% (p/v) na solução descrita previamente. A mistura foi aquecida sob agitação até entrar em ebulição para a completa homogeneização da agarose e resfriada até a temperatura de 45°C, sendo adicionada posteriormente albumina sérica bovina (BSA) fração V livre de ácidos graxos (Sigma-Aldrich) na concentração de 0,1% (p/v). Aliquotas de 15,1 mL da solução foram distribuídas em placas de Petri com 13,5 cm de diâmetro e deixadas em bancadas niveladas para obter camadas uniformes de gel até solidificação total. Utilizando um perfurador de 4,5 mm de diâmetro foram feitas cavidades, distando 2 cm um do outro e das bordas das placas.

Para a obtenção da curva padrão preparou-se uma solução aquosa de ácido tânico com concentração de 25 mg/mL. Aliquotas de 1; 4; 8; 12; 16; 20 e 24 μ L foram colocadas nos poços em triplicata e os diâmetros dos halos medidos após 72 horas.

Para o preparo das amostras foram retirados 5 mL dos extratos previamente preparados, os quais foram concentrados em chapa a 50°C e posteriormente ressuspensos com 0,5 mL de metanol a 50% (v/v). Para a dosagem de taninos nas amostras foram utilizados 15 µL de cada extrato aplicados aos poços em triplicata, conforme Figura 2, e esperadas 72 horas para reação.



Figura 2 Placa de doseamento de taninos

O ensaio descrito se baseia na propriedade que os taninos possuem de formarem complexos estáveis com proteínas, formando um anel claramente visível cuja área é linearmente proporcional a quantidade de tanino que foi colocada no poço, os diâmetros foram medidos em dois pontos com o auxílio de régua e tiradas as médias.

2.7 Análise estatística

Foi realizado o Teste de Bartlett a 5% para verificar a homogeneidade de variâncias e também o teste Shapiro-Wilk a 5% para verificar a normalidade dos resíduos. Na avaliação do experimento considerou delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, sendo 2 metodologias distintas para quantificação de fenóis totais em 7 classes de diâmetro, considerando-se o valor central de cada classe diamétrica. Para o fator quantitativo (Centro de classe) foi utilizada a análise de regressão por polinômios ortogonais, considerando-se o nível de significância de 5%.

Considerou delineamento inteiramente casualizado para analisar a influência do fator diâmetro nos valores de fenóis totais e taninos.

Foram feitas correlações lineares de Pearson entre metodologias de fenóis totais, e entre cada metodologia e teores de taninos, e análise de regressão e ajustes dos modelos lineares, considerando teste F a 5% de significância. As análises foram feitas utilizando o *software* estatístico R versão 2.11.0 (THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios de fenóis totais obtidos empregando-se as metodologias de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu, bem como valores médios taninos por classe diamétrica. Os valores entre parênteses correspondem aos coeficientes de variação (%) dentro das classes de diâmetro.

Tabela 2 Valores médios de Fenóis e taninos totais

VCD (cm)	Fenol total Folin-Denis (%)	Fenol total Folin-Ciocalteu (%)	Taninos Totais Difusão Radial (%)
7,5	10,91 (13,14)	9,94 (10,26)	7,52 (10,01)
12,5	11,43 (13,62)	10,83 (13,64)	8,12 (9,68)
17,5	11,50 (9,21)	11,22 (9,07)	9,03 (7,10)
22,5	12,45 (17,20)	11,77 (14,48)	9,13 (11,11)
27,5	12,23 (8,13)	12,30 (7,90)	10,08 (15,46)
32,5	13,01 (12,17)	12,33 (13,95)	11,79 (15,58)
37,5	14,09 (7,64)	13,71 (7,75)	12,05 (10,12)
Média	12,23	11,73	9,67
CV	8,85%	10,37%	17,93%

* VCD: Valor central da classe diamétrica. Os valores entre parênteses correspondem aos coeficientes de variação dentro da classe diamétrica.

Verifica-se que os maiores coeficientes de variação de fenóis para ambas as metodologias são encontrados na classe correspondente ao valor central de 22,5 cm, sendo de 17,20% para Folin-Denis e 14,48% para Folin-Ciocalteu, e os menores valores foram encontrados na classe correspondente ao valor central de 37,5 cm, sendo de 7,64% para Folin-Denis e de 7,75% para Folin-Ciocalteu, o que confirma que a variação dentro das classes é devido aos diferentes indivíduos coletados, mostrando a semelhança do comportamento dos métodos. Mesmo se tratando de indivíduos de mesma espécie são encontradas variações nos teores de compostos fenólicos dentro das classes de diâmetro, devido ao fato das árvores serem constituídas de material muito heterogêneo.

Os valores médios de fenóis totais foram de 12,23 e 11,73% para as metodologias de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu respectivamente. Apesar dos valores de fenóis totais por Folin-Denis terem sido, na maioria das amostras, maiores que os valores de fenóis por Folin-Ciocalteu não foi encontrada diferença estatística significativa entre as metodologias de quantificação de fenóis totais, bem como interação entre as metodologias e as classes diamétricas. Encontrou-se diferença significativa apenas para a fonte de variação classe diamétrica. A Análise de variância está apresentada no ANEXO C.

A produção média de taninos totais por difusão radial foi de 9,67%, a Figura 3 representa os halos formados na placa de petri após 72 horas de reação tanino-proteína.

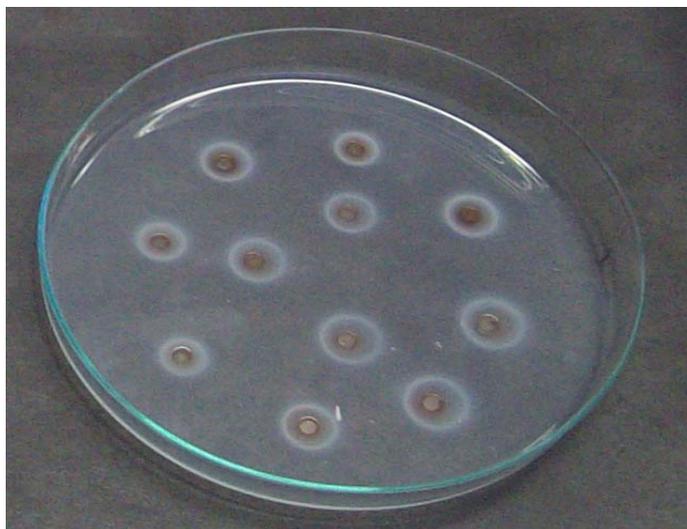


Figura 3 Formação dos halos na reação tanino-proteína

Mariano et al. (2010) encontraram valores médios de teor de taninos condensados 14,76% para casca de *Anadenanthera peregrina*, resultado maior que ao encontrado neste estudo pelo método de difusão radial, que foi de 9,67%. Tais resultados maiores encontrados podem ser devido ao fato de a metodologia de Stiasny levar em consideração a mensuração de compostos fenólicos não

tânicos, superestimando os valores em taninos. Segundo Hagerman (1987), uma grande vantagem da metodologia de difusão radial é que fenóis não tânicos como flavonoides, ácidos benzoicos, ou ácidos hidroxicinâmicos não interferem no ensaio.

Observou-se pela Análise de Variância (ANEXO D) que para a variável teor de taninos totais, a fonte de variação valor central da classe diamétrica apresentou diferença estatística significativa.

A maior produção de fenóis totais e taninos foi encontrada na classe correspondente ao valor central de 37,5cm, e menores valores na classe correspondente ao valor central de 7,5 cm. Nas Figuras 3 e 4 estão apresentados os gráficos de regressão linear simples, modelos de regressão de primeiro grau e seus coeficientes de determinação, entre valores de fenol total com valor central da classe ($R^2 = 0,952$) e valores de taninos com valor central da classe ($R^2 = 0,955$), respectivamente. Nota-se aumento nos teores de fenóis totais e taninos com aumento do diâmetro do fuste das árvores, se relacionaram de forma linear. Pelo gráfico pode-se ver a influência do diâmetro e idade na produção desses compostos.

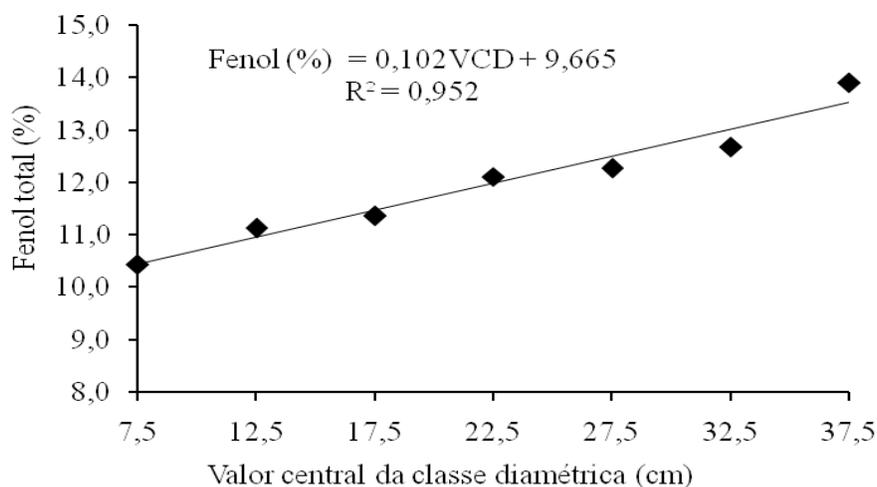


Figura 3 Regressão linear entre fenóis totais e valor central da classe

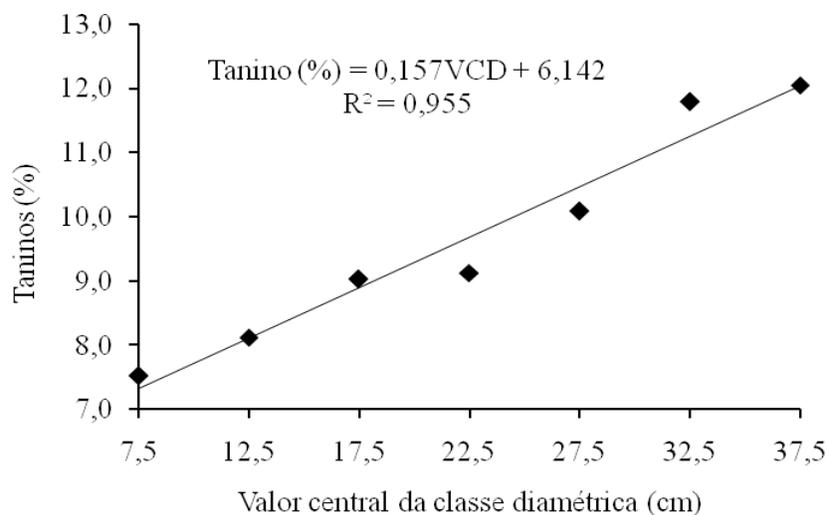


Figura 4 Regressão linear entre Taninos e valor central da classe

Cabral et al. (2010), estudando a influência de altura, diâmetro e espessura de casca nos teores de taninos e fenóis totais em cascas de *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira – *Anacardiaceae*) e *Sideroxylon obtusifolium* (Quixabeira – *Sapotaceae*), verificou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os teores de taninos observados para as diferentes classes diamétricas e de espessura da casca para ambas as espécies ($p > 0,05$). Neste estudo, as classes diamétricas foram divididas de 3,00 a 4,99; 5,00 a 6,99; 7,00 a 8,99; 9,00 a 10,99 e 11,00 a 12,99 cm para a espécie *Myracrodruon urundeuva* e de 0 a 1,99; de 2 a 3,99 e de 4 a 5,99 cm para *Sideroxylon obtusifolium* respectivamente.

Teixeira et al (1990) avaliaram a variação do teor de taninos da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão – *Fabaceae*) em função de classes diamétricas. Essa separação foi feita em grupos de indivíduos com caules de diâmetro de 5-10 cm, 10-15 cm e 15-20 cm. Neste estudo não foi encontrada evidência da influência do diâmetro à altura do peito sobre o teor de taninos.

A Figura 5 representa a regressão linear e correlação entre as metodologias de quantificação de fenóis totais, por Folin Denis e Folin-Ciocalteu e modelo de regressão, verificando um elevado coeficiente de determinação e correlação de Pearson, considerando-se teste t a 5% de significância ($R^2 = 0,997$; $r = 0,92$). O coeficiente de correlação de 92% confirma a semelhança encontrada entre as metodologias de quantificação de fenóis. Verifica-se que os valores de fenóis por Folin-Denis são em sua maioria maiores que os valores de fenóis por Folin-Ciocalteu, devido ao fato de o método de Folin-Denis não fazer distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido ascórbico, formando precipitados que interferem na leitura espectrofotométrica (SCHOFIELD; PELL; MBUGUA, 2001), porém as metodologias são estatisticamente iguais.

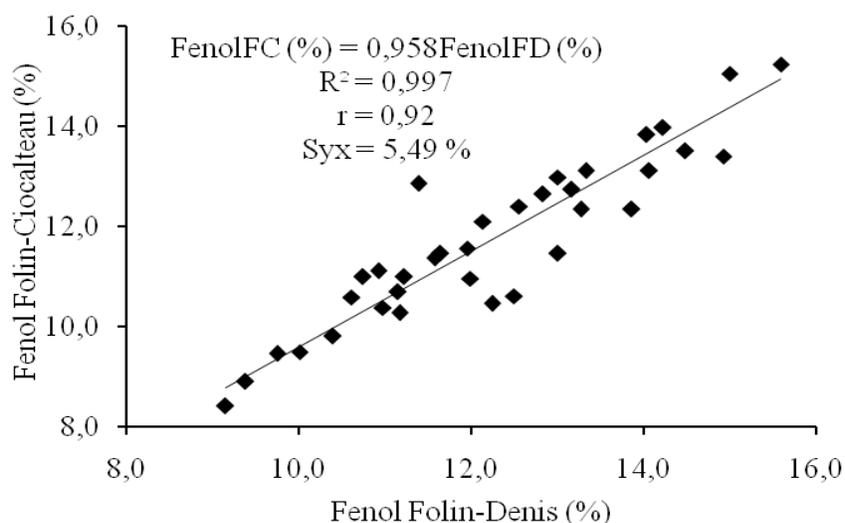


Figura 5 Regressão linear entre as metodologias de quantificação de fenóis totais

As Figuras 6 e 7 representam a regressão linear entre o teor de taninos e as metodologias de quantificação Folin-Ciocalteu e Folin-Denis respectivamente. Nota-se uma maior correlação para a metodologia de Folin-Ciocalteu ($r = 0,77$) e um menor erro padrão da média ($Syx = 13\%$), tais

resultados são obtidos devido aos menores valores de fenóis encontrados para esta metodologia na grande maioria das amostras analisadas, quando comparada com a metodologia de Folin-Denis, verificando assim uma maior proximidade entre os valores de fenóis totais por Folin-Ciocalteu e taninos. A diferença entre os fenóis totais e taninos correspondem a outros compostos de natureza fenólica presente nos vegetais, como os flavonoides e seus derivados, ácidos fenólicos, cumarinas, estilbenos, lignanas, entre outros.

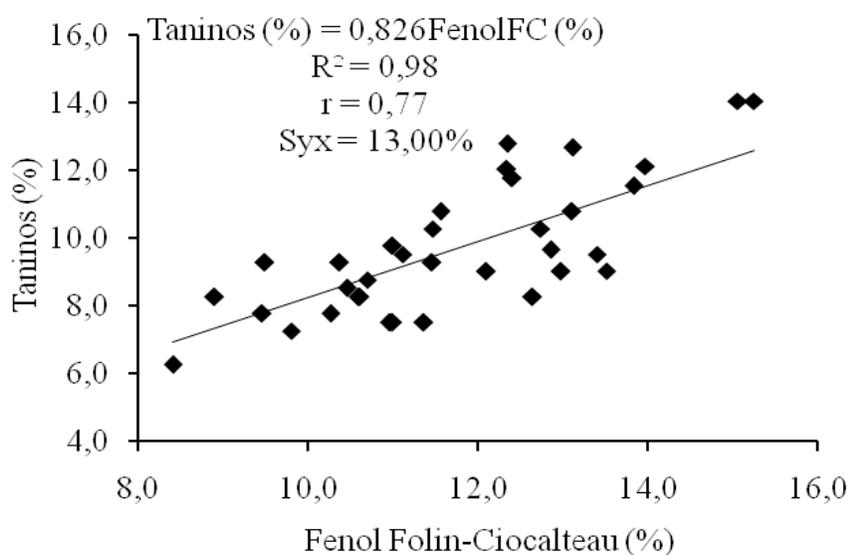


Figura 6 Regressão linear entre teores de taninos e teores de fenóis totais por Folin-Ciocalteu

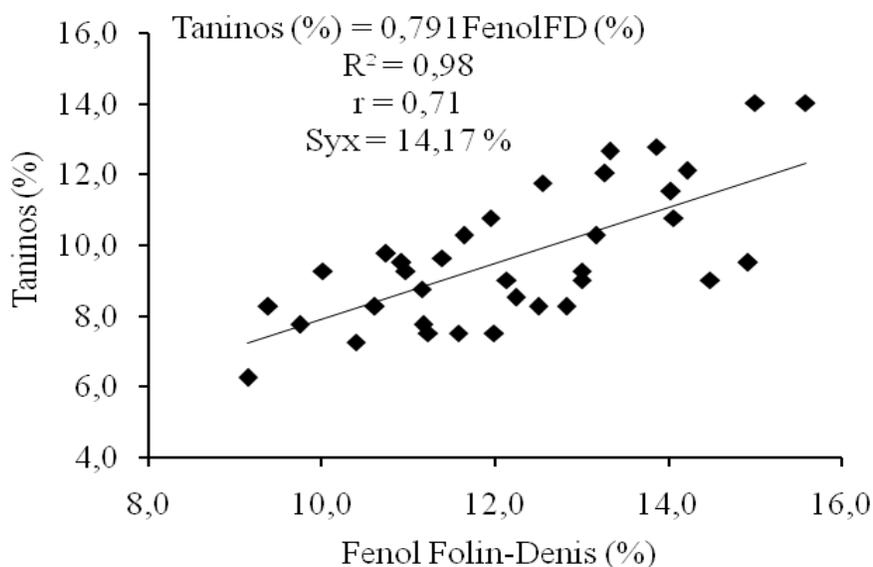


Figura 7 Regressão linear entre teores de taninos e teores de fenóis totais por Folin-Denis

Esse comportamento é devido ao fato de nem todos os compostos fenólicos serem taninos, existindo nas cascas de *Anadenanthera peregrina* outros extrativos de natureza fenólica, comprovando a eficiência da metodologia de difusão radial.

O teor de taninos pelo método de Difusão Radial e teores de fenóis totais por Folin-Ciocalteu e Folin-Denis se relacionaram de forma linear, sendo que os teores absolutos do ensaio de Difusão Radial são menores do que os teores obtidos pelo ensaio de Folin-Ciocalteu e Folin Denis. Esse comportamento foi encontrado devido ao fato de as metodologias serem baseadas em diferentes propriedades químicas dos taninos. No ensaio de difusão radial os taninos contidos na amostra reagem com a proteína contida no gel formando complexos insolúveis, estáveis e claramente visíveis a olho nu, sem necessidade de adição de corante (HAGERMAN, 1987). Já nos ensaios de Folin-Ciocalteu e Folin-Denis, os fenóis presentes na amostra, em meio alcalino, reagem com os ácidos

fosfotungístico e fosfomolibdico contidos nos reagentes, formando compostos de coloração azul que são quantificados por meio de leitura espectrofotométrica (AMORIM et al., 2008). Os menores valores de taninos são devido ao fato de todos os taninos serem compostos fenólicos, porém nem todos os compostos fenólicos são taninos. A diferença entre os fenóis totais e taninos correspondem aos outros extrativos de natureza fenólica presentes nas cascas de *Anadenanthera peregrina*.

4 CONCLUSÕES

Os valores médios encontrados de fenóis totais foram de 12,23% e 11,73% para as metodologias de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu respectivamente. O valor médio de taninos totais foi de 9,67%.

Não foi encontrada diferença entre as metodologias de quantificação de fenóis totais. Indica-se então a metodologia de Folin-Denis, tendo em vista que a mesma utiliza uma menor quantidade de reagente.

O parâmetro, diâmetro à altura do peito relacionou positivamente de maneira linear nos teores de fenóis totais e taninos na espécie estudada.

Esse comportamento positivo e linear dificulta a utilização de indivíduos provenientes de desbaste florestal, tendo em vista que os menores indivíduos possuem menores produções em fenóis e taninos totais.

O método de difusão radial pode ser utilizado com segurança já que este se apresentou eficaz, sendo os valores encontrados para taninos menores que os de fenóis totais, não necessitando de equipamentos sofisticados, sendo de fácil execução e possuindo baixo custo, portanto ideal para estudos que utilizam grande número de amostras.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, S. R. **Análise sócio-econômica da produção de não-madeireiros no cerrado brasileiro e o caso da cooperativa de pequi em Japonvar, MG.** Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008. 107 p.
- AMORIM, E. L. C. et al. Simple and accurate procedure for the determination of Tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. **Functional Ecosystems and Communities**, Ikenobi, v. 2, n. 1, p. 88-94, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais climatológicas (1961-1990)**. Brasília, 1992. 84 p.
- CABRAL, D. L. V. et al. Relationship of biometric parameters on the concentration of tannins in two medicinal plants: a case study. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, Santiago, v. 9, n. 5, p. 368-376, 2010.
- CASTRO, A. H. F. et al. Calogênese e teores de fenóis e taninos totais em barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) coville]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 385-390, mar./abr. 2009.
- DICKE, M.; HILKER, M. Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 4, p. 3-14, 2003.
- FOLIN, O.; DENIS, W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 12, p. 239-243, 1912.
- HARBONE, J. B. General procedures and measurement of total phenolics. In: **Methods in plant biochemistry**: plant phenolics. London: Academic, 1989. p. 1-28, v. 1.
- HARBONE, J. B.; PALO, R. T.; ROBBINS, C. T. **Plant defenses against mammalian herbivore**. London: C R C, 1991. 192 p.

HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 13, n. 3, p. 437-448, 1987.

HEMINGWAY, R. W. **Chemistry and significance of condensed tannins**. New York: Plenum, 1989. 553 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1998. 352 p.

MARIANO, R. et al. Determinação do teor de taninos a partir da casca de Angico, *Anadenanthera* Spp. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRAS E EM ESTRUTURAS DE MADEIRA, 12., 2010, Lavras. **Trabalhos...** Lavras: EBRAMEM, 2010.

MARINHO, I. V. **Avaliação do potencial tanífero das cascas do angico vermelho (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *colubrina* (Vell.) Brenan) e do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.) em diferentes reagentes**. 2004. 36 f. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. **Extraction and analysis of phenolics in food** **Journal of chromatography A**, New York, v. 1/2, p. 95-111, 2004.

PIZZI, A. Tanin-Based adhesives. In: PIZZI, A. (Ed.). **Wood adhesives: chemistry and technology**, New York: M. Dekker, 1993. p. 177-246.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 21-40, 2001.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TEIXEIRA, M. L.; SOARES, A. R.; SCOLFORO, J. R. S. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em 10 locais de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 14, n. 2, p. 229-232, 1990.

THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R** : alanguage and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2010. 1706 p. Disponível em: <<http://cran.r-project.org/doc/manuals/refman.pdf>>. Acesso em: 22 nov. 2011.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. **Currente protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley , 2002. Cap. 11.1.

CAPÍTULO 3 Rendimento gravimétrico em taninos condensados nas cascas
de *Anadenanthera peregrina*

RESUMO

Diversas são as espécies de angico ocorrentes no Brasil, das quais se extrai, da casca, o tanino, entre as espécies encontra-se o Angico-vermelho. Os taninos são metabólitos secundários de natureza fenólica, produzidos pelos vegetais. O objetivo deste trabalho foi determinar o rendimento gravimétrico em taninos condensados na casca de *Anadenanthera peregrina* em diferentes classes diamétricas. Coletou-se amostras de cinquenta e nove árvores de *Anadenanthera peregrina*, a 1,30 m do solo (DAP), distribuídas em sete classes diamétricas. As cascas foram secas ao ar livre e trituradas em moinho martelo. Foram feitas amostragem composta, misturando os indivíduos de cada classe para o preparo do extrato. A extração foi feita utilizando-se água, na relação 15:1 (v/p), adicionados 3% de sulfito de sódio (p/p) em banho-maria a 70°C por um período de 4 horas. O material foi filtrado empregando-se coador de pano fino e concentrado em chapa de aquecimento a aproximadamente 150 mL. Foi determinada a massa do extrato e retirada 10 g para a determinação do teor de sólidos e 20g para a determinação do índice de Stiasny, conforme metodologia utilizada por Guangcheng, Yunlu e Yazaki (1991), com algumas modificações (MORI, 2000). Os valores médios de teor de sólidos totais, índice de Stiasny, teor de tanino condensado e teor de compostos não tânicos foram de 11,34; 75,79; 12,76 e 4,07% respectivamente. O teor de sólidos, índice de Stiasny, teor de compostos não tânicos apresentaram diferenças significativas entre as classes diamétricas a 5% de significância. Já para a produção de taninos condensados, o parâmetro classe diamétrica não influenciou significativamente.

Palavras-chave: Taninos. *Anadenanthera peregrina*. Cascas.

ABSTRACT

There are several species of angico occurring in Brazil, which is extracted from the bark, tannin, between species is the red-angico. Tannins are secondary metabolites from phenolic nature, produced by plants. The objective of this study was to determine the gravimetric yield of condensed tannins in the bark of *Anadenanthera peregrina* in different diameter classes. Fifty-nine trees samples were collected of *Anadenanthera peregrina*, at 1.30m of the ground (DBH), distributed in seven diameter classes. The barks were air dried and crushed in hammer mill. Composite sample was made by mixing individuals from each class to prepare the extract. The extraction was done using water in the ratio 15:1 (v/w), added 3% sodium sulfite (w/w) in water-bath at 70°C for a period of 4 hours. The material was filtered using fine cloth strainer and concentrated on a heating plate at approximately 150 mL. It was determined the extract mass and removed 10 g for determining solids content and 20g for determining the Stiasny index according to the methodology used by Guangcheng; Yunlu and Yazaki (1991) with some modifications (MORI, 2000). The average values of total solids content, Stiasny index, condensed tannin content and the compound content non-tannin were 11.34; 75.79; 12.76 and 4.07% respectively. The content solids, Stiasny index, compound content non-tannin show significant differences between diameter classes at 5% significance level. As for the condensed tannins production, the diameter class parameter there was no significant influence.

Keywords: Tannins. *Anadenanthera peregrina*. Bark.

1 INTRODUÇÃO

Comumente conhecida como angico, angico-vermelho, *Anadenanthera peregrina* é uma espécie pioneira, pertencente à família Leguminosae-Mimosoideae (Mimosaceae), possuindo ampla distribuição geográfica. Ocorre em Florestas Semidecíduas e na transição com o Cerrado, nos Estados do Tocantins, Goiás, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 1998).

Entre as espécies produtoras de taninos se destacam as espécies de Angico, pertencentes à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae. Diversas são as espécies de angico ocorrentes no Brasil, das quais se extrai, da casca, o tanino (AFONSO, 2008). Segundo o mesmo autor, a casca de Angico é um dos principais produtos não madeireiros ocorrentes no Cerrado.

A utilização das cascas de Angico-vermelho para extração de taninos é uma alternativa economicamente viável, tendo em vista a ampla gama de utilizações possíveis dos taninos e por se tratar de uma espécie pioneira, de rápido crescimento, o que promove uma redução nos resíduos da indústria de transformação da madeira e promove um maior valor agregado às cascas.

Os taninos vegetais ou naturais são por definição substâncias que apresentam a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos políeis. Esse comportamento é a base das propriedades tanantes que eles exercem sobre o colágeno da pele dos animais ao curso de sua transformação em couro (PIZZI, 1993). São encontrados em todos os órgãos dos vegetais, como folha, fruto, semente, casca e madeira, sendo na casca encontrado em maiores percentuais, pois desempenha função de proteção ao vegetal.

Os taninos estão presentes na maioria das plantas e podem variar de concentração nos tecidos vegetais, dependendo da idade, do órgão da planta coletado, da época ou, ainda do local de coleta.

Os taninos são classificados, de acordo com sua origem biossintética, em dois grupos: a) os taninos hidrolisáveis, encontrados em dicotiledôneas lenhosas e herbáceas, que são caracterizadas por um núcleo (glicose) esterificado com ácidos gálicos (galotaninos), ou ácidos elágicos (elagitaninos), formado a partir da rota metabólica do ácido chiquímico e b) os taninos condensados ou proantocianidinas, que ocorrem principalmente em gimnospermas e angiospermas e são polímeros da flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, derivados do metabolismo de fenilpropanoides (BRUNETON, 1991).

Além das funções biológicas desempenhadas, os taninos são utilizados no curtimento do couro, na indústria farmacêutica, alimentícia, produção de tintas, purificação de águas residuais e indústrias de adesivos naturais para madeira.

As indústrias de painéis de madeira utilizam adesivos sintéticos devido a sua excelente qualidade, porém a crise do petróleo, na década de 70, promoveu um aumento no preço dos produtos de origem petrolífera, surgindo assim o interesse de alternativas mais rentáveis e de fontes renováveis. A partir dessa data, várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de substituir, parcial ou totalmente, os adesivos comerciais convencionais, tais como ureia-formaldeído e fenol-formaldeído, e dentre as fontes naturais destacam-se os taninos vegetais, por terem capacidade de reagir com o formaldeído e, também, pela facilidade de extração (CARNEIRO et al., 2010).

Adesivos à base de taninos são obtidos reagindo-se flavonoides poliméricos de origem natural, ou seja, taninos condensados, com um aldeído, normalmente o formaldeído, como agente ligante (PIZZI, 1994). Para a produção dos adesivos à base de taninos, são utilizados os taninos condensados, pois são quimicamente mais estáveis e economicamente mais viáveis. Esses taninos são constituídos de uma mistura de flavonoides polimerizados, de pesos moleculares variados, chamados genericamente de proantocianidinas

(CARNEIRO et al., 2009). Os taninos condensados constituem mais de 95% da produção mundial de taninos comerciais (GUANGCHENG; YUNLU; YAZAKI, 1991).

Os taninos hidrolisáveis podem ser utilizados como substitutos parciais do fenol na produção de resinas e adesivos à base de fenolformaldeído. Apesar de apresentarem comportamento químico semelhante aos fenóis substituídos, os taninos hidrolisáveis possuem certas propriedades indesejáveis, como baixa reatividade, com formaldeído e baixo caráter nucleofílico. Essas características químicas, associadas à limitada produção mundial, impede que eles sejam efetivamente utilizados para a produção de adesivos fenólicos (PIZZI; MITTAL, 2003).

O método de Stiasny não fornece a percentagem exata de material fenólico no extrato, entretanto esse método é amplamente utilizado, pois tem a vantagem de fornecer uma medida comparativa da quantidade de taninos que é capaz de reagir com formaldeído, sob condições de formação de adesivos (PIZZI, 1983).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo, determinar o rendimento gravimétrico em taninos condensados nas cascas coletadas de plantas com diferentes diâmetros, a fim de determinar a influência desse parâmetro na produção de taninos, bem como o teor de sólidos, nos índices de Stiasny e nos teores de compostos não tânico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área de estudo

O plantio de Angico pertence a uma área experimental do Campus da Universidade Federal de Lavras (Lavras-MG). A cidade de Lavras localiza-se na região Sul do Estado de Minas Gerais, à latitude de 21° 14' sul e longitude 45°00' oeste, a uma altitude média de 900 m. Segundo a classificação de Köppen, o clima é Cwa. A temperatura média anual do ar é de 19,4 °C e o total anual de precipitação pluvial de 1530 mm (BRASIL, 1992).

2.2 Coleta e preparo do material

Coletou-se cascas externas de *Anadenanthera peregrina* na altura de 1,30 m do solo (DAP) tomando-se cuidado para não atingir o cambio vascular. A coleta foi realizada com o auxílio de facão, retirando-se lascas de aproximadamente 10 cm de comprimento por 3 cm de largura, de maneira intercalada ao longo do perímetro do fuste, de maneira a evitar o contorno total do mesmo. Foram coletadas, amostras de cinquenta e nove árvores, distribuídas em sete classes diamétricas, conforme pode ser visto na Tabela 1. Os indivíduos coletados não pertenciam à borda do fragmento. O período de coletada foi em julho de 2011.

Tabela 1 Características diamétrica do plantio de *Anadenanthera peregrina* e dos indivíduos utilizados na etapa experimental

Intervalo das classes (cm)	VCD (cm)	Diâmetro médio das amostras (cm)	Altura média das amostras (m)	Número de árvores amostradas
5 a 9,99	7,5	7,15 (11,90%)	8,0 (15,11%)	14
10 a 14,99	12,5	12,04 (10,63%)	10,94 (17,76%)	9
15 a 19,99	17,5	16,54 (3,58%)	14,0 (17,90%)	8
20 a 24,99	22,5	22,27 (4,83%)	14,61(16,40%)	9
25 a 29,99	27,5	27,23 (4,90%)	15,86 (14,53%)	7
30 a 34,99	32,5	31.17 (3,11%)	17,0 (15,22%)	6
35 a 39,99	37,5	37,25 (2,62%)	18,33(10,15%)	6

VCD: Valor central da classe diamétrica; Os valores em parênteses correspondem aos coeficientes de variação dentro das classes diamétricas.

As cascas foram secas ao ar livre e moídas em moinho martelo. Após a moagem, as amostras foram armazenadas em sacos de papel abertos e mantidas em sala de climatização com temperatura e umidade relativa do ar constantes (20 ± 2 °C e $60 \pm 5\%$) até massa constante. Posteriormente, foi determinada a umidade na base seca pelo método da estufa.

2.3 Preparo dos extratos e quantificação de taninos

Foram realizadas análises compostas para cada classe, sendo a classe 1 analisada em um único extrato, e as demais classes em duplicata. Utilizou-se na extração o correspondente a 100g de casca moída, adicionados 3g de sulfito de sódio Na_2SO_3 e 1.500 mL de água destilada, em béquer de 2000 mL, relação de 15:1 (v/p), levados em banho-maria à temperatura de 70°C, à pressão atmosférica durante quatro horas. Após a extração, o material foi filtrado empregando-se um coador de pano fino conforme Figura 1.



Figura 1 Filtragem do extrato utilizando-se tecido de flanela

O filtrado foi concentrado por evaporação até um volume de aproximadamente 150 mL, utilizando-se uma chapa de aquecimento e capela de refluxo de ar. A massa do extrato foi determinada e foram retiradas duas amostras de 10 g para a determinação do teor de sólidos e duas amostras de 20 g para determinação do índice de Stiasny. Para a determinação do teor de sólidos (%), as amostras foram levadas à estufa, a uma temperatura de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante, sendo então obtido pela relação da massa seca com a massa úmida (inicial) da amostra, multiplicando por 100, conforme Equação 1.

$$\text{TST (\%)} = \frac{\text{MS}}{\text{MU}} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

TST é o teor de sólidos totais, em porcentagem;

MS é a massa da alíquota seca;

MU é a massa inicial da alíquota.

O índice de Stiasny foi determinado empregando-se o procedimento adotado por Mori (2000) adaptado de Guangcheng, Yunlu e Yazaki, (1991), com algumas modificações. A cada amostra de 20 g que foi retirada do extrato concentrado, adicionaram-se 10 g de água destilada, 4 ml de formaldeído (37% m/m) e 2 mL de HCl 10 N. Essa mistura foi aquecida durante 35 minutos sob refluxo (Figura, 2).



Figura 2 Chapa de aquecimento sob refluxo

Após o término da reação, o extrato foi filtrado em filtro de vidro sinterizado de porosidade nº 2 (Figura 3) e colocado em estufa à temperatura de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante.



Figura 3 Bomba de vácuo para filtração do material precipitado com formaldeído

Após obter a massa seca do precipitado, calculou-se o índice de Stiasny conforme Equação 2:

$$IS (\%) = \frac{M_2}{M_1} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

IS: Índice de Stiasny (%)

M1: Massa total de sólidos em 20 g de extrato (g)

M2: Massa seca do precipitado tanino-formaldeído (g)

O rendimento em sólidos foi obtido multiplicando-se o teor de sólidos (g) pela massa de cada extrato. Para se obter o rendimento gravimétrico em taninos (%), foi multiplicado o rendimento em sólidos pelo respectivo índice de

Stiasny de cada extrato. O rendimento em componentes não tânicos foi obtido pela diferença entre o rendimento em sólidos e o rendimento em taninos.

2.4 Análise estatística

Foi realizado o Teste de Bartlett a 5% para verificar a homogeneidade de variâncias e também o teste Shapiro-Wilk a 5% para verificar a normalidade dos resíduos.

Na avaliação do experimento considerou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), tendo como fator de variação o valor central da classe. Os dados foram submetidos a análises de variância a 5% de significância e quando verificada diferenças estatísticas significativas foi realizada a análise de regressão linear simples.

Foram feitas análises de correlação linear de Pearson a 5% de significância, entre índice de Stiasny e teor de compostos não tânicos. As análises foram feitas utilizando o *software* estatístico R versão 2.11.0 (THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de teor de sólidos totais (TST %), índice de Stiasny (IS %), teor de taninos condensado (TTC%) e teor de compostos não tânicos (TNT %) estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 Valores médios pelo método de Stiasny

VCD (cm)	TST (%)	IS (%)	TTC (%)	TNT (%)
7,5	11,89	71,54	12,76	5,08
12,5	11,23	71,61	12,07	4,77
17,5	12,97	77,33	14,10	4,12
22,5	10,75	77,86	12,55	3,56
27,5	11,03	77,63	12,86	3,69
32,5	10,38	78,78	12,26	3,30
37,5	11,16	75,75	12,74	4,00
Média	11,34	75,79	12,76	4,07
CV (%)	7,53	3,98	5,12	15,85

VCD: Valor central da classe diamétrica (cm); TST: Teor de sólidos totais; IS: Índice de Stiasny; TTC: Teor de tanino condensado; TNT: Teor de compostos não tânicos; CV: Coeficiente de variação.

O teor de sólidos totais, o qual expressa a quantidade de extrativos totais presentes nas amostras analisadas, foi em média de 11,34%. O índice de Stiasny, quantidade de substâncias do extrato total que reagiu com o formaldeído em meio ácido, foi em média de 75,79%. O teor de taninos condensados, que indica a proporção de taninos presente nos materiais analisados, foi em média de 12,76%. O teor de compostos não tânicos médio foi de 4,07%. Para a produção de adesivos naturais para madeira são desejáveis maiores Índices de Stiasny e menores teores de compostos não tânicos.

Carneiro (2006), utilizando-se 3% de sulfíto de sódio, encontrou valores médios de teor de sólidos, índice de Stiasny, teor de taninos condensados e teor de compostos não tânicos de 28,75%, 82,2%, 22,77% e 5,98% respectivamente para *Anadenanthera peregrina*. Esse maior desempenho pode ter sido obtido

pelo fato da extração ter sido feita em autoclave (70°C) e granulometria padronizada entre 40 e 60 mesh, sendo que quanto menor a granulometria da amostra maior será a eficiência de extração, pois maior será a superfície de contato entre a amostra e o solvente.

Mariano et al. (2010) encontraram valores médios de teor de sólidos, índice de Stiasny, teor de taninos condensados e teor de compostos não tânico de 12,29%, 79,33%, 14,76% e 3,86% respectivamente para casca de *Anadenanthera peregrina*, utilizando-se 3% de sulfito de sódio, 70°C de extração por 3 horas, sendo as cascas moídas em moinho Willey, sendo obtidas partículas mais finas.

O efeito do valor central da classe diamétrica foi significativo para o teor de sólidos totais, índice de Stiasny e teor de compostos não tânico, não havendo diferença significativa para teor de taninos condensados pelo teste F a 5% de significância (ANEXO E). O teor de tanino condensado não foi influenciado pelo fator valor central da classe diamétrica, sendo seus valores iguais estatisticamente na medida em que se aumenta o diâmetro a altura do peito (Tabela 2).

A Figura, 4 representa a regressão linear simples entre teor de sólidos totais e o valor central da classe diamétrica. Verifica-se que teor de sólidos totais apresentou tendência de diminuição com o aumento do valor central da classe diamétrica, porém o modelo de regressão em nível de 5% de significância foi não significativo. O modelo da regressão foi significativo em nível de 6% de significância, porém apresentou baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,274$).

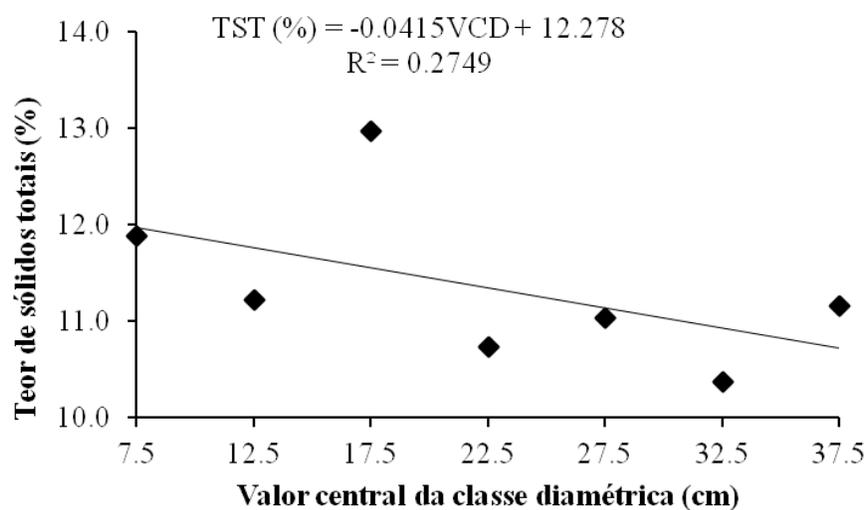


Figura 4 Regressão linear entre o valor central da classe e o teor de sólidos totais

O modelo de regressão linear entre teor de sólidos totais e valor central da classe diamétrica foi pouco significativo.

A figura 5 representa a regressão de segundo grau, modelo parabólico entre o valor central da classe e o Índice de Stiasny. Verifica-se um aumento nos índices de Stiasny até aproximadamente a classe correspondente ao valor central de 22,5 cm, tendendo a estabilização e posterior redução do índice de Stiasny com o aumento do valor central da classe diamétrica.

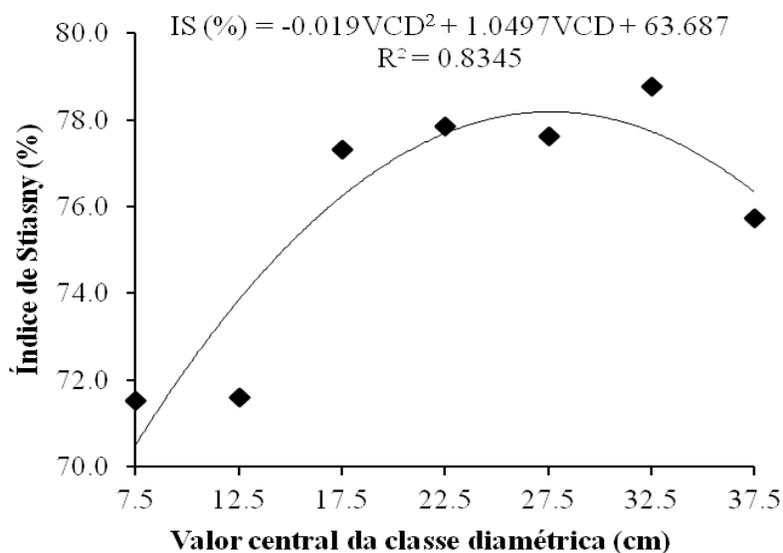


Figura 5 Regressão parabólica entre o valor central da classe e o índice de Stiasny

As árvores mais novas sintetizam compostos fenólicos mais simples, ou seja, os fenóis simples e ácidos fenólicos, e, à medida que aumenta sua idade aumenta a polimerização desses compostos formando os polímeros, que são os taninos e a lignina. Essa polimerização tende a se estabilizar e diminuir ao longo da idade da árvore.

Esse comportamento dificulta a utilização de indivíduos provenientes de desbaste para a produção de adesivos de madeira, pois nota-se que a produção nos indivíduos na classe de 7,5 cm foi em média de aproximadamente 71% e nos indivíduos da classe de diâmetro de 27,5 cm foi de aproximadamente 78%. Indica-se então, para a produção de adesivos para madeira que o diâmetro dos indivíduos esteja na faixa de 22,5 até 32,5 cm, pois a partir desse ponto o índice de Stiasny tendeu a diminuição, conforme Figura 5.

Derivando-se o modelo ajustado observa-se que o maior valor para o índice de Stiasny (aproximadamente 78%) está compreendido para as árvores com diâmetro a altura do peito médio de 27,60 cm.

A Figura 6 representa a regressão de segundo grau, modelo parabólico entre o teor de compostos não tânico e o valor central da classe a 5% de significância. Verifica-se uma redução nos teores de compostos não tânico na medida em que se aumenta o valor central da classe diamétrica.

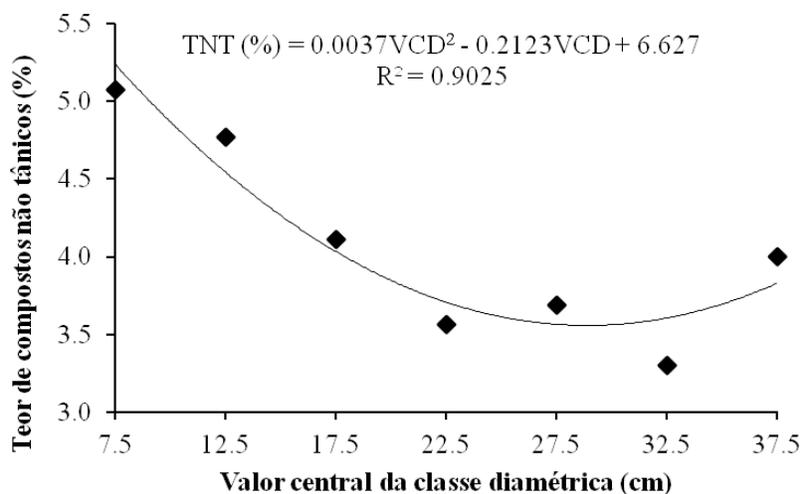


Figura 6 Regressão parabólica entre o teor de compostos não tânico e o valor central da classe

Esse comportamento pode ser explicado da mesma maneira que para o índice de Stiasny. As árvores mais novas sintetizam compostos fenólicos mais simples, e à medida que aumenta sua idade aumenta a polimerização desses compostos formando os polímeros, que são os taninos, reduzindo assim a quantidade de compostos não tânico no material. A partir da classe correspondente ao valor central de 22,5 cm a quantidade de compostos não tânico tende a estabilizar e a partir da classe correspondente ao valor central de 32,5 tende a aumentar.

Para a produção de adesivos para madeira, indica-se a utilização de indivíduos com menores percentuais em compostos não tânico, ou seja, aqueles que apresentam diâmetro a altura do peito médio na faixa de 22,5 cm a 32,5 cm,

o que inviabiliza a utilização de indivíduos com diâmetros menores que 22,5 cm. As classes que apresentaram menores valores de compostos não tânicos foram as mesmas que apresentaram maiores índices de Stiasny, sendo então as indicadas para a produção de adesivos de madeira.

A partir da derivada do modelo encontra-se para qual valor de diâmetro é encontrado o menor teor de compostos não tânicos, que foi de 28,70 cm.

A curva de regressão entre teor de compostos não tânicos e valor central da classe diamétrica apresentou comportamento inverso ao observado para o índice de Stiasny e valor central da classe diamétrica. A correlação entre o índice de Stiasny e teor de compostos não tânicos foi de -0,88, conforme apresentado na Figura 7.

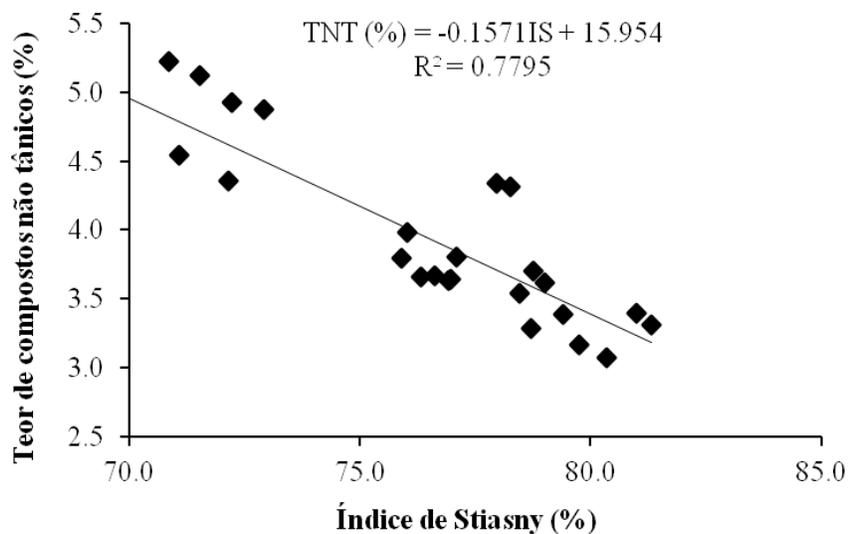


Figura 7 Regressão linear entre o teor de compostos não tânicos e o índice de Stiasny

4 CONCLUSÃO

Os valores de diâmetro a altura do peito não influenciaram no rendimento em taninos condensados para a espécie estudada.

A produção de sólidos tendeu a diminuir com o aumento da classe diamétrica.

A regressão entre índice de Stiasny e valor central da classe diamétrica resultou em um modelo parabólico, o máximo índice de Stiasny é encontrado em árvores correspondentes ao centro de classe de 27,5 cm.

A regressão entre teor de compostos não tânicos e valor central da classe diamétrica resultou em um modelo parabólico, o valor mínimo de teor de compostos não tânicos é encontrado em árvores correspondentes ao centro de classe de 27,5 cm.

A utilização de indivíduos com diâmetros menores que 22,5 cm é dificultada, pois estes apresentaram menores Índices de Stiasny e maiores teores de compostos não tânicos.

Recomenda-se para a produção de adesivos naturais para madeira a utilização de indivíduos com diâmetros na faixa de 22,5 cm a 32,5 cm.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, S. R. **Análise sócio-econômica da produção de não-madeireiros no cerrado brasileiro e o caso da cooperativa de pequi em Japonvar, MG.** Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008. 107 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais climatológicas (1961-1990).** Brasília, 1992. 84 p.
- BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia.** Acribia: Zaragoza, 1991. 600 p.
- CARNEIRO, A. C. O. **Efeito da hidrólise ácida e sulfitação de taninos de *Eucalyptus grandis* w. hill ex maiden e *Anadenanthera peregrina* spg., nas propriedades dos adesivos.** 2006. 182 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- CARNEIRO, A. C. O. et al. Determinação da massa molar de taninos vegetais através da técnica da cromatografia de permeação em gel. **Science Forestaly**, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 419-429, set. 2010.
- CARNEIRO, A. C. O. et al. Propriedades de chapas de aglomerado fabricadas com adesivo tânico de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*) e uréia-formaldeído. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 521-531, 2009.
- GUANGCHENG, Z.; YUNLU, L; YAZAKI, Y. Extractive yields, Stiasny values and polyflavonoid contents in barks from six acacia species in Australia. **Australian Forestry**, Queen Victoria, v. 54, p.154 -156, 1991.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.** 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1998. 352 p.
- MARIANO, R. et al. Determinação do teor de taninos a partir da casca de Angico, *Anadenanthera* Spp. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRAS E EM ESTRUTURAS DE MADEIRA, 12., 2010, Lavras. **Trabalhos...** Lavras: EBRAMEM, 2010.
- MORI, F. A. **Caracterização parcial dos taninos da casca e dos adesivos produzidos de três espécies de Eucaliptos.** 2000. 73 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

PIZZI, A. **Advanced wood adhesives technology**. New York: M. Dekker, 1994. 289 p.

PIZZI, A.; MITTAL, K. L. **Handbook of adhesive technology**. 2nd ed. New York: M. Dekker, 2003. 720 p.

PIZZI, A. Tanin-Based adhesives. In: PIZZI, A. (Ed.). **Wood adhesives: chemistry and technology**. New York: M. Dekker, 1993. p. 177-246.

PIZZI, A. **Wood adhesives: chemistry and technology**. New York: M. Dekker, 1983. 364 p.

THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2008. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 23 dez. 2011.

ANEXOS

ANEXO A

Reagente Folin Denis

Wolframato de sódio dihidratado $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,

ácido fosfomolibdico,

ácido fosfórico concentrado H_3PO_4 ,

Para cada 750 mL de água adicionar 100 g de Wolframato de sódio, 20 g de ácido fosfomolibdico, 50 ml de ácido fosfórico. Refluxar por 2 horas (100°C). Espera-se resfriar e completa no dia seguinte para 1 litro.

ANEXO B

Solução de carbonato de sódio saturado

Para cada 100 mL de água adicionar:

35 g de Na_2CO_3 anidro (dissolver a 70-80°C e deixar esfriar até o dia seguinte).

Adicionar solução supersaturada de cristal $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ e após cristalização filtrar.

ANEXO C

Tabela 1C Análise de Variância em relação às metodologias de quantificação de fenóis totais do delineamento inteiramente casualizado em fatorial

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio
VCD	6	12,97*
Metodologia de fenóis	1	4,42 ^{ns}
VCD x Metodologia	6	0,29 ^{ns}
CVe (%)		11,60

VCD: Valor central da classe diamétrica (cm); GL: Graus de liberdade; CVe: Coeficiente de variação experimental; *: Significativo a 5% pelo teste F; ^{ns} : Não significativo a 5% pelo teste F.

ANEXO D

Tabela 1D Análise de Variância em relação aos teores de taninos em delineamento inteiramente casualizado

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio
VCD	6	15,043*
Erro	28	1,416
CVe (%)		12,3

VCD: Valor central da classe diamétrica (cm); GL: Graus de liberdade; CVe: Coeficiente de variação experimental; * Significativo a 5% pelo teste F.

ANEXO E

Tabela 1E Análise de variância para teor de sólidos totais, índice de Stiasny, teor de tanino condensado e teor de compostos não tânicos

Fonte de variação	QM				
	GL	TST	IS	TTC	TNT
VCD	6	2,812*	29,876*	1,706 ^{ns}	1,309*
Erro	19	1,057	7,787	1,413	0,132
CVe (%)		9,10	3,67	9,31	9,08

QM: Quadrado médio; GL: graus de liberdade; TST: Teor de sólidos totais; IS: Índice de Stiasny; TTC: Teor de tanino condensado; TNT: Teor de compostos não tânicos; VCD: Valor central da classe (cm); CVe: Coeficiente de variação experimental; *: Significativo a 5% pelo teste F; ^{ns}: Não significativo a 5% pelo teste F.