

## Extração, quantificação e caracterização de taninos condensados da casca de *Protium tenuifolium* proveniente da Amazônia Brasileira

Laise de J. dos Santos<sup>1</sup>, Elesandra da S.A.<sup>2</sup>, Sabrina B.V.<sup>3</sup>, Agust Sales<sup>3</sup>, Marco A. Siviero<sup>3</sup>, Fabio A. Mori<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, <sup>2</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia, <sup>3</sup>Grupo Arboris

E-mail: [Laise\\_jesus@hotmail.com](mailto:Laise_jesus@hotmail.com)

**Resumo:** Taninos condensados são extremamente interessantes para a indústria devido a sua diversidade de utilizações e aplicações tecnológicas. Dessa maneira, o objetivo do trabalho foi extrair, quantificar e caracterizar por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) os taninos da casca de *Protium tenuifolium* advinda de uma área de manejo sustentável da Amazônia Brasileira. Amostras de casca de 6 árvores foram coletadas, moídas, extraídas com solução de 3% de sulfito de sódio, determinando os remédios de extração. A partir dos extratos foram determinados o Rendimento total de sólidos (RTS), o Índice de Stiasny (IS), Rendimento de taninos condensados (RTC), rendimento de compostos não tânicos (RCNT). A análise FTIR-ATR foi realizada utilizando um espectrômetro. Índice de Stiasny quantificados na extração foi de 71,2%, o teor de sólidos quantificado foi de 11,6%. A análise de ATR-FTIR permitiu identificar bandas específicas que são características das diferentes moléculas hidroxil-aromáticas encontradas em taninos.

**Palavras-chave:** Polifenóis, FTIR, caracterização química

**Abstract:** Condensed tannins are extremely interesting for industry due to their diversity of uses and technological applications. The aim of this study was to extract, quantify and characterize the tannins in the bark of *Protium tenuifolium* from a sustainable management area in the Brazilian Amazon using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Samples of bark from 6 trees were collected, ground, extracted with a 3% sodium sulphite solution and the extraction remedies determined. The total solids yield (TSY), the Stiasny Index (SI), the condensed tannin yield (CTY) and the yield of non-tannic compounds (NTC) were determined from the extracts. FTIR-ATR analysis was carried out using a spectrometer. The Stiasny index quantified in the extraction was 71.2%, and the solids content quantified was 11.6%. The ATR-FTIR analysis identified specific bands that are characteristic of the different hydroxyl-aromatic molecules found in tannins.

**Keywords:** Polyphenols, FTIR, chemical characterization

### Extraction, quantification and characterization of condensed tannins from the bark of *Protium tenuifolium* from the Brazilian Amazon

**Keywords:**

#### 1. INTRODUÇÃO

Os taninos condensados, ou procianidinas - proantocianidinas e prodelfinidinas - são compostos complexos (Pizzi, 1993) Seus monômeros

básicos são (+)-catequina e (-)-epicatequina, geralmente compostos por um grupo resorcinol (anel A), um grupo catecol (anel B) e um grupo heterocíclico pirano (anel C) (Ricci et al., 2015). Na maioria das espécies, as concentrações mais elevadas estão na casca da árvore, o que faz com que essa parte seja a mais utilizada para a produção industrial de taninos (Das et al., 2020).

Como os taninos de reagir com colágeno para produzir couro, eles têm sido utilizados há séculos no curtimento de peles animais (SHIRMOHAMMADLI et al., 2018). Devido à sua capacidade de reagir com formaldeído, os taninos estão sendo cada vez mais empregados na fabricação de adesivos para colagem de madeira (Zhao e Umemura, 2014; Araújo et al., 2021). Além disso, os taninos são amplamente utilizados como floculantes no tratamento de água potável, também é usado no ramo alimentício para clarificação de vinho, cerveja e sucos e como ingredientes em solventes orgânicos nas indústrias farmacêutica e cosmética (Pizzi, 1993; Carneiro et al., 2010; Hoque et al., 2024).

A extração de taninos da casca de árvores pode ser realizada através de diversos métodos, e a eficácia de cada técnica está diretamente relacionada à seletividade da água e dos solventes utilizados (Mori et al., 2003; Jahanshahi and Tabarsa, 2012; Sartori et al., 2018; Muhayyidin et al., 2019). A ampla gama de aplicações dos taninos na indústria exige métodos rápidos, confiáveis e não destrutivos para caracterizar esses compostos, permitindo o monitoramento das rotinas de fabricação e a determinação de suas propriedades.

*Protium tenuifolium* é uma espécie amazônica com potencial de utilização dos polifenóis das cascas, entretanto ainda são limitados os estudos da casca dessa espécie o que impede a utilização desse material e conseqüentemente a geração de renda (Santos et al., 2023). Diante do aumento do desmatamento e a da fronteira agrícola do Bioma Amazônia a busca de novas biomassas para serem exploradas de forma sustentável é imprescindível (Bastos e Palme, 2024). Dessa maneira, o objetivo desse estudo foi a extração e caracterização dos taninos condensados de *Protium tenuifolium* visando aplicação dos mesmos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta e amostragem do material

Foram coletadas as cascas da espécie *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl, em floresta nativa em uma área de manejo sustentável na região amazônica,

localizada no município de Dom Eliseu, no sudeste do Estado do Pará, Brasil. No mês de abril de 2021. Foram retiradas cascas do tronco de oito indivíduos com um diâmetro médio a altura do peito (DAP) de 33,00 cm. Foi coletado material botânico de todos os indivíduos e realizado a identificação por comparação com a coleção do Herbário da Embrapa Amazônia Oriental (IAN), Belém (PA). Todo o material foi coletado com técnicas que visasse o menor impacto possível nos vegetais, inclusive após a remoção da casca foi aplicada calda bordalesa (sulfato de cobre e cal virgem) para colaborar na regeneração das cascas desses indivíduos arbóreos.

## 2.2 Extração de taninos

As cascas secas de oito indivíduos foram reduzidas em moinho de martelo para obtenção de um material homogêneo. Os taninos foram extraídos em triplicado em um banho-maria a 70 °C durante 3 horas. Foram utilizados 100 g de casca (base seca) e 1500 ml de água, relação 15:1 (volume: massa), com adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> em relação à massa seca da casca. As frações sólidas foram removidas por filtração utilizando uma peneira de 200 mesh e depois em um funil de vidro sinterizado com porosidade 1 em condições de vácuo.

## 2.3 Determinação do rendimento do tanino condensado

O rendimento de taninos condensados foi determinado pelo índice Stiasny. Primeiro uma extração foi concentrada a 70 °C até atingir o volume de aproximadamente 150 ml. Além da massa do extrato concentrado, o conteúdo de sólidos, em triplicata, foi determinado a 103 ± 2 °C durante 24 horas. O teor de sólidos (TS) foi calculado de acordo com a Equação 1. A percentagem do rendimento total de sólidos (RTS) foi determinada de acordo com a Equação 2.

(1)

$$TS = \left( \frac{\text{massa seca do extrato}}{\text{massa umida do extrato}} \right) * 100$$

(2)

$$RTS = \left( \frac{TS\% * \text{massa total do concentrado}}{100} \right) * 100$$

O índice de Stiasny foi determinado em triplicatas. Para isso, foram colocados em um balão volumétrico 20 g de extrato concentrado, 10 ml de água deionizada, 2 ml de HCl 10 mol L<sup>-1</sup> e 4 ml de formaldeído 37 % sucessivamente e colocados sob aquecimento em sistema de refluxo por 35 minutos. A contagem

dos minutos foi iniciada após a fervura. O precipitado foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado com porosidade 2 e seco em estufa de ar quente a  $103 \pm 3^\circ\text{C}$  até massa constante. O índice de Stiasny foi calculado de acordo com a Equação 3. O rendimento gravimétrico de taninos condensados (RGTC) foi determinado pela Equação 4. O rendimento de componentes não tânicos (RCNT) foi obtido pela diferença entre RCNT e RGTC.

(3)

$$\text{Índice de Stiasny} = \left( \frac{\text{massa seca do precipitado}}{\text{massa seca de 20g do extrato}} \right) * 100$$

(4)

$$RGTC = \frac{IS\% * RCNT}{100}$$

#### **2.4 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) com refletância total atenuada (ATR) dos taninos de *P. tenuifolium***

A análise FTIR-ATR foi realizada utilizando um espectrômetro FTIR Varian 600-IR Series equipado com um GladiATR (Pike Technologies) para medições ATR-FTIR. Alguns miligramas de tanino moído foram depositados no cristal. O comprimento de onda de varrimento do infravermelho foi de  $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$  com 32 varreduras médias para cada espectro a uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ , a fim de verificar as interações intermoleculares presentes no tanino.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Taninos condensados da casca de *Protium tenuifolium***

Os valores médios de extração de tanino com solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  da casca de *Protium tenuifolium* são apresentados na Tabela 1

**Tabela 1:** Valores médios do rendimento total de sólidos (RTS), índice Stiasny (IS), Rendimento de taninos condensados (RTC), rendimento de compostos não tânicos (RCNT) dos taninos extraídos em água com e a adição de 3% de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

Extração	$\text{Na}_2\text{SO}_3$
----------	--------------------------

<b>RTS (%)</b>	11,6 (1.3)
<b>IS (%)</b>	71,1 (22.2)
<b>RTC (%)</b>	8,1 (1.9)
<b>RCNT (%)</b>	3,66 (1.8)

Os valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão de 6 amostras.

Pesquisas informam o aumento dos rendimentos em taninos condensados quando extraídos em solução de sulfito de sódio. Santos et al. (2023) trabalhando com *Protium tenuifolium* observou um aumento de 3% no rendimento de tanino condensado extraindo sulfito de sódio em comparação com a extração apenas com água.

O índice de Stiasny é um dos métodos mais utilizados para quantificação de taninos. A metodologia em questão baseia em uma reação química que ocorre a precipitação dos taninos classificados como flavanol através da condensação com formaldeído em ácido. Esses produtos apresentam alto peso molecular e são de difícil dissolução, de forma que quanto mais elevado for o índice de Stiasny, menor será a quantidade de outras substâncias (Guangcheng et al., 1991). Em *P.tenuifolium* o índice de Stiasny quantificados na extração foi de 71,2%, respectivamente, sendo considerado índice elevado. Esse índice pode ajudar a determinar se os extratos podem utilizados como adesivos (Chupin et al. 2013). De acordo Yazaki e Collins (1994) é preciso para um adesivo de alta qualidade um índice de Stiasny de pelo o menos 65%.

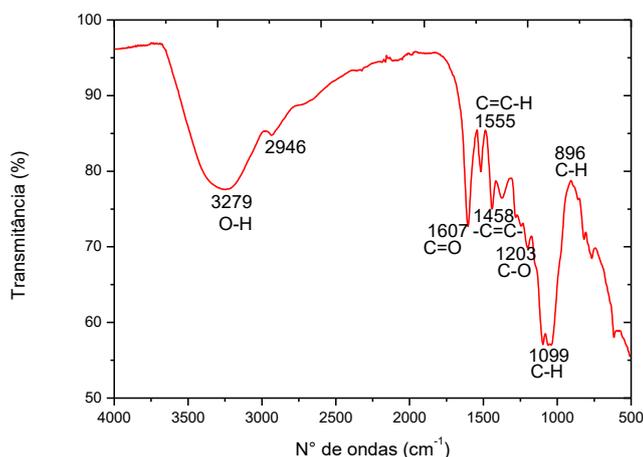
O teor de sólidos totais se equivale da totalidade de extrativos em forma de pó presente nas amostras analisadas (Medeiros et al. 2018). Em *P.tenuifolium* o teor de sólidos quantificado foi de 11,6%. Sousa et al. (2019) observaram 9,8 % de sólidos em *M. caealpinifolia*. O rendimento de taninos condensados foi de 8,1% com adição de 3% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, valor semelhante foi encontrado Santos et al. (2023). Hoong et al. (2009) utilizando Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> na extração de taninos da casca *Acacia mangium* obteve um rendimento entre 15% e 25% de taninos na base seca, ressaltando que essa espécie é utilizada comercialmente para extração de taninos condensados.

### 3.2 Análise de FTIR dos taninos de *Protium tenuifolium*

A espectroscopia FTIR tem sido amplamente aplicada em muitos campos para caracterizar uma ampla gama de materiais, incluindo taninos

condensados (Feria-reyes et al., 2023). Os espectros de ATR-FTIR obtidos na faixa espectral de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$  permitiram identificar bandas específicas que são características das diferentes moléculas hidroxil-aromáticas encontradas em taninos (Tondi e Petutschnigg, 2015).

**Figura 1.** Espectro ATR-FTIR dos taninos de *P.tenuifolium*



Fonte: Autor

Como pode ser observado na Fig 2, o espectro de FTIR da amostra de taninos de *Protium tenuifolium* se confirma, por meio da identificação dos módulos de vibração ligações químicas características do composto fenólicos. As bandas fenólicas com intensidade máxima em 1607 (C=O), 1458 (-C=C-), 1203(C-O), 1099 (C-H), 896 (C-H)  $\text{cm}^{-1}$  são tipos de anéis aromáticos de compostos fenólicos, já os picos entre 3500 e 3000  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídos ao alongamento da vibração O-H em estruturas fenólicas e alifáticas (Ricci et al., 2015).

#### 4. CONCLUSÃO

Pode concluir-se com a realização deste trabalho que:

- O índice de Stiasny demonstrou que os taninos condensados de *Protium tenuifolium* podem ser usados para confeccionar adesivos;
- Análise de ATR-FTIR permitiu identificar bandas específicas de moléculas hidroxil-aromáticas encontradas em taninos;
- Dessa maneira esse estudo demonstra que é possível a utilização desse tanino para gerar um produto e conseqüentemente valoriza as cascas dessa espécie que não valorizadas até então.

## 5. REFERÊNCIAS

ARAUJO, E.S. LORENÇO, M.S.; ZIDANES, U.L.; et al. Quantification of the bark *Myrcia eximia* DC tannins from the Amazon rainforest and its application in the formulation of natural adhesives for wood. **Journal of Cleaner Production**, v. 280, p. 124324, 2021.

BASTOS, L. M. G.; PALME, U. The bioeconomy–biodiversity nexus: enhancing or undermining nature’s contributions to people?. **Conservation**, v. 2, n. 1, p. 7-25, 2021.

CHUPIN, L.; MOTILLON, C.; BOUHTOURY, F.; et al. Characterisation of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. **Ind. Crops and Prod.** V.49, p.897-903, 2013

DAS, A. K.; ISLAM, N.; FARUK, O.; et al.; Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 58-70, 2020.

FERIA-REYES, R. RAMIRES-CRUZ, S.O.; RUIZ-AQUINO, F.; et al. Pine bark as a potential source of condensed tannin: Analysis through fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), and energy dispersive X-ray (EDX). **Forests**, v. 14, n. 7, p. 1433, 2023.

GUANGCHENG, Z.; YUNLU, L.; YAZAKI, Y.; et al. Extractive yields, Stiasny values and polyflavonoid contents in barks form six acacia species in Australia. **Australian Forestry**, v.554, n.2, p.154-156, 1991.

HOONG, Y.B.; PARIDHAHA, M.T.; LUQMAN, C.A. et al. Fortification of sulfited tannin from the bark of *Acacia mangium* with phenoleformaldehyde for use as plywood adhesive. **Ind. Crop. Prod.** v.30, 2009.

HOQUE, M. B.; TANJILA, M.J.; HOSEN, I.; et al.; A comprehensive review of the health effects, origins, uses, and safety of tannins. **Plant and Soil**, p. 1-20, 2024.

JAHANSHAEI. S.; TABARSA.; T. Resina de formaldeído de tanino-fenol ecologicamente correta para produção de compósitos de madeira. **Pigment & Resin Technology**. v.41 n.5, p.296-301, 2012.

MEDEIROS, J.X.; CALEGARI, L.; SILVA, G.H.; et al. Measurement of tannic substances in forest species. **Floresta e Ambiente**, v.25, n.3, p.1-8, 2018.

Mori, F.A.; Mori, C.L.S.O.; Mendes, L.M. et al. Influence of sulfite and sodium hydroxide on the quantification in tannins of the bark of barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). **Floresta e Ambiente**, v.10, p.86-92, 2003.

MUHAYYIDIN, A.H.M.; BAKAR, N.F.A.; GHAZALI, N.A.; et al.; Caracterização de taninos de casca de *Rhizophora mucronate* em pó extrativos usando diferentes métodos de secagem. **International Journal of Engineering and Advanced Technology**, v.9, n.1, 2019.

PIZZI, A. Tannin-Based adhesives. In: Pizzi A. (Ed.). **Wood adhesives : chemistry and technology**. New York: Marcel Dekker, 1993.

RICCI, A.; OLEJAR, K.J.; PARPINELLO, G.P. et al. Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in the characterization of tannins. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 50, n. 5, p. 407-442, 2015.

SANTOS L.J.; ARAUJO, E.S. LORENÇO, M.S.; et al. Characterization of the bark of *Protium tenuifolium* Engl. From the Amazonian biome as a source of natural antioxidants. **Holzforschung**, 2023.

Sartori, C.J.; Mota, G.S.; Miranda, I. et al. Extração de tanino e caracterização de extratos polares das cascas de dois híbridos de *Eucalyptus urophylla*. **BioResources**, v.13, n.3, p.4820-4831, 2018.

TONDI, G.; PETUTSCHNIGG, A. Middle infrared (ATR FT-MIR) characterization of industrial tannin extracts. **Ind. Crop. Prod.** 2015.

SHIRMOHAMMADLI, Y.; PIZZI, E.D. Antonio. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. **Industrial crops and products**, v. 126, p. 316-332, 2018.

SOUZA, D.G.; CAMPOS, D.B.P.; UCELLA FILHO J.G.M.; et al.; Quantificação de taninos presentes na casca da Mimosa caealpinifolia Benth. e sua utilização no tratamento de efluentes. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**, v.7, n.6, p.789-793, 2019.

YAZAKI, Y.; COLLINS, P.J Wood adhesive from high yields *Pinus radiata* bark extracts treated by a simple viscosity reduction process. **Holzforschung**, v.48, n.3, p.241-243, 1994.

ZHAO, Z.; UMEMURA, K. Investigation of a new natural particleboard adhesive composed of tannin and sucrose. **Journal of Wood Science**, v. 60, p. 269-277, 2014.