



Ajustes de metodologias para quantificações de tânicos em extrato vegetal

Victor Gabriel de Andrade Santos^{1*}, Leandro Calegari¹

RESUMO: Este estudo apresentou como objetivo avaliar o uso do pó de pele bovino alternativo, em substituição ao pó de pele comercial, para a determinação de tânicos em extrato vegetal oriundo da casca de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). A metodologia baseou-se em adaptações de normas técnicas nacionais e internacionais relacionadas ao assunto. Foram avaliadas duas condições do pó de pele (levemente cromado e não cromado), combinados a três tempos de contato deste com a solução analítica (10; 40; e 960 minutos). Testes qualitativos foram realizados para visualizar a eficiência da detanização através de reações colorimétricas. O tempo de contato de 10 minutos da solução analítica com o pó de pele mostrou-se suficiente, especialmente quando utilizado pó de pele levemente cromado, sendo a detanização confirmada pelas reações colorimétricas. O aumento do tempo de contato proporcionou o aumento da absorção de substâncias não tânicas e, devido a isso, é desaconselhável. Portanto, o uso do pó de pele alternativo mostrou-se eficiente na quantificação do extrato tânico em pó, podendo ser utilizado como substituto do pó de pele comercial, o qual trata-se de um insumo padronizado, de alto custo e de difícil obtenção.

Palavras-chave: bioextrato, método gravimétrico, produto não madeireiro.

Methodology adjustments for quantifications of tannins in vegetable extract

ABSTRACT: This study aimed at evaluating the use of alternative bovine skin powder, in substitution to commercial skin powder, for the determination of tannins in plant extract from barks of *Acacia mearnsii* De Wild. Methodology was based on adaptations of national and international technical standards related to the issue. Two conditions of skin powder (a lightly chromed one and a non-chromed one) were evaluated, combined with three contact times of this with the analytical solution (10; 40; and 960 minutes). Qualitative tests were carried out to visualize the efficiency of detanization through colorimetric reactions. The contact time of 10 minutes of analytical solution with the skin powder proved to be enough, especially when lightly chromed skin powder was used, so that the detanization was confirmed by the colorimetric reactions. The increase of contact time provided an increase in the absorption of non-tannic substances, and, due to this, it is not recommended. Therefore, the use of alternative skin powder proved to be efficient in the quantification of powdered tannic extract, so that it can be used as a substitute for commercial skin powder, which is a standardized, high-cost, and difficult-to-obtain input.

Keywords: bioextractus; gravimetric method; non-timber product.

INTRODUÇÃO

Na busca por produtos ecologicamente corretos, os taninos vegetais ou naturais vêm se mostrando promissor. Neste sentido, já existem diversas utilizações industriais dessas substâncias polifenólicas, assim como estudos intensivos para o desenvolvimento de novos produtos. Sendo compostos quimicamente complexos, os taninos vegetais podem ser analisados por diversos métodos, sendo que cada um dos métodos apresenta vantagens e desvantagens.

Um desses métodos corresponde a determinação do teor de tanantes baseado em método gravimétrico e baseando-se no uso de pó de pele comercial. Existem diversas normas técnicas, provenientes de distintos organismos normatizadores, porém com divergências metodológicas, incluindo a necessidade de utilização de equipamentos específicos e de pó de

pele padronizado. A vantagem dos métodos gravimétricos quando comparado aos métodos espectrofotométricos deve-se ao fato dos últimos medir os taninos em relação a padrões (por exemplo, ácido tânico e ácido gálico), não em termos absolutos. Devido a isso, sugere-se a utilização de variados métodos para a determinação das substâncias tânicas (MAKKAR, 2003).

Métodos gravimétricos baseados no uso do pó de pele como agente detanizador são reconhecidos para a quantificação de substâncias tânicas, e padronizadas por importantes organismos normatizadores (*American Society for Testing and Materials* - ASTM, *Indian Standards Institution* - ISI, Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT e *International Organization for Standardization* - ISO). Comparando-se os métodos oficiais descritos

por tais organizações, observam-se algumas divergências metodológicas, além de determinadas fases com execução complexas e caras, incluindo a necessidade de equipamentos específicos e a utilização do pó de pele comercial (padronizado), insumo de difícil obtenção e alto custo (CALEGARI et al., 2016). As referidas normas técnicas ainda padronizam o uso do pó de pele levemente cromado, a fim de ativá-lo.

No entanto, a presença do cromo no pó de pele pode gerar reações químicas indesejáveis, uma vez que, dependendo do processo de produção do extrato tânico, este poderá conter outras substâncias, além das diversas classes de extrativos. Considerando-se que em estudo anterior constatou-se que o pó de pele produzido em laboratório mostrou-se eficiente para a análise de tânicos, é imprescindível o desenvolvimento de uma metodologia que ajuste àquelas sugeridas pelas normas técnicas relativas ao assunto, possibilitando a realização de uma análise confiável, de fácil execução e de baixo custo (CALEGARI et al., 2016).

Nesse sentido, este estudo apresentou como objetivo avaliar o tempo de contato necessário para que o pó de pele bovino alternativo promovesse a total detanização da solução analítica, assim como avaliou-se o efeito da condição do pó de pele (levemente cromado e não cromado). Busca-se, assim, adaptar as metodologias destinadas à quantificação de extratos tânicos sugeridos por normas técnicas internacionais e nacional através do uso do pó de pele não comercial

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada no presente estudo baseou-se em adaptações, descritas a seguir, de normas técnicas e de métodos descritos na literatura relacionados a análises de extratos tânicos vegetais: IS 5466 (ISI, 2001); NBR 11131 (ABNT, 2008a); NBR 14362 (ABNT, 2008c); ISO 14088 (ISO, 2012); D6401 (ASTM, 2016); Chupin et al. (2013); Saad et al. (2014); Marchini (2015) e Calegari et al. (2016).

Materiais utilizados

Foi utilizado extrato vegetal em pó oriundo da casca de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.), cuja extração foi realizada em autoclaves utilizando apenas água como solvente de extração.

O agente detanizante foi produzido a partir de uma pele bovina adquirida do Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR) de Campina Grande/PB, previamente submetida às fases normais de processamento de peles que antecede a fase de curtimento propriamente dita (lavagem, remolho, depilação, calcificação, descarte e descalcificação).

Essa pele foi fragmentada e submetida ao moinho Wiley, sendo utilizada a fração que passou pela

peneira de 40 *mesh* (425 μ m) e ficou retida na peneira de 60 *mesh* (250 μ m). Realizou-se a caracterização desse pó de pele baseando-se na umidade, pH, teor de cinzas e valor em branco (ASTM, 2016).

Preparo da solução analítica bruta

Foi inicialmente utilizada 6g de extrato tânico em pó seco o ar, sendo posteriormente essa quantidade corrigida a fim de ajustar a concentração da solução para 0,4% (0,375 a 0,425%) de taninos condensados puros, usando uma balança semi-analítica (sensibilidade de 0,001 g). Foi aquecida 800 mL de água destilada à 80°C em manta de aquecimento e, com auxílio de um funil, foi transferida a água, juntamente com o extrato, por arraste, para balão volumétrico de 1000 mL. A mistura foi agitada vigorosamente para dissolver ao máximo as partículas, e resfriada a temperatura ambiente, de forma gradual, evitando choques de temperatura. Após 16 \pm 2h, o volume do balão volumétrico foi completado até 1000 mL com água destilada (ISO, 2012).

Determinação dos teores de sólidos totais e umidade

Simultaneamente a retirada da amostra do extrato tânico para o preparo da solução analítica, em uma placa de petri foi depositado cerca de 4g de extrato tânico seco ao ar, anotando sua massa exata. O conjunto foi transferido para estufa (105 \pm 2°C) e mantido durante 16 \pm 2h, esfriado em dessecador até temperatura ambiente e obtido a massa anidra do resíduo (ISO, 2012). As variáveis foram calculadas conforme Equações 1 e 2.

$$ST\% = (Ma / Mes) \cdot 100 \quad (\text{Equação 1})$$

$$U\% = 100\% - ST\% \quad (\text{Equação 2})$$

em que: ST% = sólidos totais do extrato em pó seco ao ar, em %; Ma = massa do extrato em pó após secagem, em g; Mes = massa do extrato em pó seco ao ar, em g; U% = umidade do extrato tânico em pó seco ao ar, em %.

Determinação dos teores de sólidos solúveis e insolúveis

Após ser agitada vigorosamente, submeteu-se 150 mL de solução analítica bruta a filtração em papel-filtro quantitativo nº 40 (faixa branca, filtração média, retenção de partículas de 8 μ m), disposto em funil analítico raiado de 10 cm de diâmetro. Do filtrado, pipetou-se uma alíquota de 100 mL do filtrado, que foi transferido para um béquer seco e tarado. O conjunto foi transferido para estufa à 105 \pm 2°C durante 16 \pm 2h, esfriado no dessecador e obtido a massa anidra do resíduo conforme NBR 14362 (ABNT, 2008c). As variáveis foram calculadas conforme Equações 3 e 4.

$$SS\% = (Mrs / Mas) \cdot 100 \quad (\text{Equação 3})$$

$$SI\% = ST\% - SS\% \quad (\text{Equação 4})$$

Em que: SS% = sólidos solúveis do extrato tânico em pó seco ao ar, em %; Mrs = massa anidra do resíduo após filtrações, extrapolado para o volume da solução, em g; Msa = massa seca ao ar do extrato em pó utilizado para preparar a solução analítica em g; SI% = sólidos insolúveis do extrato tânico em pó seco ao ar, em %; ST% = sólidos totais do extrato tânico em pó seco ao ar, em %.

Teores de taninos condensados e não tânicos

Após ser agitada vigorosamente, pipetou-se 100 mL da solução analítica bruta para ser submetida à reação de Stiasny. Para isso, aos 100 mL de solução foi adicionada 4 mL de formaldeído (37%) e 1 mL de ácido clorídrico, que foi mantida uma fervura branda (100°C), sob refluxo e agitação, durante 30 minutos. A solução contendo o precipitado foi submetida ao mesmo sistema de filtração utilizada para a determinação dos sólidos solúveis. Após a filtração, o precipitado, juntamente com o béquer e o papel-filtro, foi transferido para estufa (105±2°C), durante 16±2h, e esfriado no dessecador para obtenção da massa anidra total. Conhecendo-se inicialmente a massa anidra do conjunto (béquer contendo o papel-filtro) foi obtida, por diferença, a massa anidra do precipitado tanino-formaldeído (CHUPIN et al., 2013; SAAD et al., 2014). As variáveis foram calculadas conforme Equações 5 e 6.

$$TTc\% = (Mrpp / Mas) \cdot 100 \quad (\text{Equação 5})$$

$$TnTc\% = SS\% - TTc\% \quad (\text{Equação 6})$$

Em que: TTc% = teor de taninos condensados contido no extrato em pó seco ao ar, em %; Mrpp = massa anidra do precipitado, extrapolado para o volume da solução, em g; Msa = massa seca ao ar do extrato em pó utilizado para preparar a solução analítica, em g; TnTc% = teor de não tânicos do extrato em pó seco ao ar, em %; SS% = sólidos solúveis do extrato seco ao ar, em %.

Quantidade de extrato tânico seco ao ar para o preparo da solução analítica

A partir da quantidade de taninos condensados presente na alíquota da solução analítica bruta, foi determinado a sua concentração e, a partir desta, calculada a quantidade adequada de extrato tânico seco ao ar para gerar uma solução de concentração de 0,4±0,025% (0,375 a 0,425 por 100mL) de taninos condensados puros (Equações 7 e 8).

$$C_{tc} = (M_{atc} \cdot 100) / V_{aa} \quad (\text{Equação 7})$$

$$M_{esa} = (M_{eu} \cdot 0,4) / C_t \quad (\text{Equação 8})$$

Em que: Ctc = concentração de taninos condensados puros na solução, em %; Matc = massa anidra de taninos condensados puros obtida na alíquota, em g; Vaa = volume da alíquota amostrada, em mL; Mesa = massa de extrato seco ao ar para 0,4% de taninos condensados puros, em g; Meu = massa de extrato seco ao ar utilizado na solução, em g.

Determinação dos teores de não tânicos e taninos totais

Preparação do pó de pele

A 45g de pó de pele seco ao ar foi adicionada 450 mL de água destilada na temperatura ambiental, sendo agitadas quatro vezes durante o período de 30 minutos. Então foi adicionado 45 mL de solução a 3% de óxido de cromo, e a mistura agitada a cada 15 minutos durante 2 horas (ASTM, 2016). No caso dos tratamentos que não envolviam o uso do pó de pele cromado, foram adicionados 45 mL de água destilada pura (sem óxido de cromo).

A mistura foi mantida em repouso durante 16±2 horas, depositada em peneira de 150 mesh (105 µm) e lavada em água corrente durante 5 minutos. Na peneira, o pó de pele úmido foi pressionado manualmente a fim de retirar o excesso de água contido no mesmo e manualmente desfragmentado.

Fracionamento do pó de pele úmido

A partir da quantidade total de pó de pele úmido foi separada 20g, sendo o restante dividido em duas partes de mesma massa. Esses 20g foram utilizados para determinar a umidade (base úmida), massa de água contida no pó de pele úmido (Equação 9) e o fator de diluição (Equação 10). Já a primeira fração do pó de pele restante foi misturada a 200 mL de solução analítica bruta, e a segunda fração foi misturada a 200 mL de água destilada (teste em branco), conforme D6401 (ASTM, 2016).

$$M_{\text{água}} = M_u \cdot (U_{bu}\% / 100) \quad (\text{Equação 9})$$

$$F = (V + M_{\text{água}}) / V \quad (\text{Equação 10})$$

Em que: Mágua = massa de água contida no pó de pele úmido misturada ao volume de solução analítica e à água destilada, em g; Mu = massa do pó de pele úmido misturado às soluções analítica e à água destilada, em g; Ubu% = umidade do pó de pele úmido, em %; F = fator de diluição; V = volume de solução analítica ou água destilada misturado ao pó de pele saturado (200 mL).

Mistura do pó de pele com a solução analítica

O contato do pó de pele (tanto o levemente cromado quanto o não cromado) com a solução analítica bruta e com água destilada foram realizados separadamente e simultaneamente. Após serem agitadas, as misturas foram mantidas em repouso em

distintos tempos (em função dos tratamentos a serem avaliados: 10; 40 e 960 min.), e submetidas ao mesmo sistema de filtragem utilizado para a determinação dos sólidos solúveis. Dos filtrados (detanizado e não detanizado) foram pipetados 100 mL cada, dispostos em béquer e transferidos para estufa para obtenção das massas anidras dos resíduos (ASTM, 2016). As variáveis foram calculadas conforme Equações 11 e 12.

$$TnTt\% = F \cdot ((Md / Mas) \cdot 100) \quad (\text{Equação 11})$$

$$TTt\% = SS\% - TnTt\% \quad (\text{Equação 12})$$

Em que: TnTt% = teor de não tânicos do extrato em pó seco ao ar, em %; F = Fator de diluição; Md = massa anidra do resíduo detanizado, subtraído do valor em branco, e extrapolado para o volume total da solução, em g; Msa = massa seca ao ar do extrato em pó utilizado para preparar a solução analítica, em g; TTt% = teor de taninos totais do extrato em pó, em %; SS% = sólidos solúveis do extrato tânico em pó seco ao ar, em %.

Correções dos parâmetros

Calculou-se a massa anidra do extrato utilizado no preparo da solução e a massa desse extrato na condição anidra (0% de umidade). Para isso, a variável Msa (Equações 03; 05; e 11) foi substituída pela massa desse extrato na condição anidra, e as demais Equações relacionadas (Equações 04; 06; e 12) foram recalculadas.

Identificação qualitativa dos taninos

Após obtenção dos 100 mL do filtrado detanizado pelo pó de pele (destinado ao teor de tânicos totais), o restante deste filtrado foi utilizado para testes de identificação (reações qualitativas) a fim de verificar a presença/ausência de tanantes. Para fins de comparação, também foi utilizada solução não detanizada, proveniente do filtrado dos sólidos solúveis. As seguintes reações colorimétricas foram testadas:

Testemunha (T): Teste em branco, onde foram colocados, em tubos de ensaio, 5 mL de soluções puras (não detanizada e detanizada, respectivamente), apenas para fins de comparação;

Teste de identificação A: Em tubos de ensaio contendo 5 mL de soluções (não detanizada e detanizada, separadamente), foram adicionados 0,4 mL de formaldeído e 0,1 mL de ácido clorídrico concentrado. As misturas foram mantidas em repouso durante dez horas e, quando presentes, os taninos condensados originaram um precipitado vermelho (CHUPIN et al., 2013; SAAD et al., 2014);

Teste de identificação B: Em tubos de ensaio contendo 5 mL de soluções (não detanizada e detanizada, separadamente), foram adicionadas quatro gotas de solução de cloreto férrico à 5%. A

presença de tanantes foi indicada por uma coloração escura conforme NBR 11131 (ABNT, 2008a);

Teste de identificação C: Em tubos de ensaio contendo 5 mL de soluções (não detanizada e detanizada, separadamente), foram adicionadas quatro gotas de solução de cloreto férrico a 1% em metanol. A fim de identificar a classe dos taninos, a coloração verde-preto identifica taninos condensados, já uma coloração azul-preto caracteriza os taninos hidrolisáveis (MARCHINI, 2015);

Teste de identificação D: Em tubos de ensaio contendo 5 mL de soluções (não detanizada e detanizada, separadamente) foram adicionadas quatro gotas de solução contendo 1% de gelatina incolor e 10% de cloreto de sódio. A presença de tanantes é indicada por um turvamento da solução quando utilizada esse teste de identificação (ABNT, 2008a; ISO, 2012).

Análise dos resultados

Foram realizadas três repetições (litros de solução analítica) a fim de ajustar a quantidade de extrato tânico em pó para a concentração de $0,4 \pm 0,025\%$ de taninos condensados puros. Os parâmetros para caracterização do pó de pele alternativo também foram realizados em triplicata.

Já para avaliar o efeito do tempo de contato do pó de pele com a solução analítica (10; 40 e 960 minutos), combinado com a condição do pó de pele (levemente cromado e não cromado), as análises foram realizadas em duplicatas para cada tratamento em função da quantidade reduzida de pó de pele gerada na granulometria estabelecida (40 a 60 *mesh*). Uma vez que as soluções analíticas sempre eram analisadas pelo método do formaldeído para cada uma das combinações dos tratamentos, o teor de taninos condensados (assim como os sólidos totais, umidade, sólidos solúveis e insolúveis) foi proveniente da média de 12 repetições.

Realizou-se uma análise descritiva dos dados, sendo que as caracterizações das reações qualitativas (testes de identificação) se basearam na análise visual, sendo registradas através de fotografias e organizadas em tabelas, em função dos tratamentos testados.

Pelo uso de análise de regressão, considerando-se 5% de probabilidade, verificou-se o efeito dos tempos de 10 e 40 minutos sobre o teor de tanantes (determinado pelo método do pó de pele), independente da condição do pó de pele utilizado (devido ao reduzido número de repetições). O tempo de 960 minutos foi desconsiderado da análise de regressão por ter sido considerado tecnicamente inviável.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com relação às especificações do pó de pele, é recomendado que o mesmo seja finamente moído (sem dimensões especificadas), textura uniforme e ausência de aglomerados. Quando seco ao ar, é recomendável possuir teor de umidade (base úmida) entre 12 e 15%; teor de cinzas menor de 0,3%; pH com valores entre 5,0 e 5,4; umidade quando saturado (imediatamente antes do contato com a solução

analítica) entre 71 e 74%; e valor em branco (quantidade de partículas de pele lixiviada) que não deve exceder 0,004g (ASTM, 2016).

Com relação ao pó de pele utilizado no presente estudo, o pH apresentou-se conforme recomendação técnica (ASTM, 2016). No entanto, os demais parâmetros apresentaram-se divergentes aos recomendados (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização do pó de pele alternativo utilizado no estudo.

Repetição	Upp _{sa} (%)	Cinzas (%)	pH	Upp _{sat} (%)	Branco (g)
1	10,32	2,33	5,36	87,82	0,005
2	10,63	2,26	5,19	88,20	0,052
3	10,93	2,20	5,16	89,38	0,026
Média	10,63	2,26	5,24	88,47	0,027
(CV%)	(2,87%)	(2,87%)	(2,06%)	(0,92%)	(84,56%)

Em que: Upp_{sa} = umidade do pó de pele seco ao ar; pH = potencial hidrogeniônico, determinado a 28,4°C; Upp_{sat} = umidade do pó de pele saturado; CV% = coeficiente de variação.

No caso da umidade do pó de pele quando seco ao ar, as condições ambientais do local de estudo podem ter contribuído para a baixa umidade de equilíbrio.

No caso da umidade quando saturado, o problema poderia ser resolvido através uma prensagem mecânica (e não manual) do pó de pele úmido. Já com relação ao valor em branco, o uso de papel filtro de menor granulometria (ex.: papel-filtro quantitativo nº 42, faixa azul, filtração lenta, retenção de partículas de 2 µm) poderia resolver o problema, reduzindo a lixiviação de partículas de pó de pele durante a filtração.

No caso do alto teor de cinzas, provavelmente

trata-se de uma característica diretamente relacionada a própria pele bovina adquirida, sendo reflexo das fases de processamento de peles que antecederam a este estudo (lavagem, remolho, depilação, calcificação, descarnar e descalcificação).

Caracterização do extrato tânico

A fim de obter uma solução analítica contendo 0,4±0,025% de taninos condensados puros foram necessários 5,632g do extrato tânico em pó (seco ao ar). Alguns dos parâmetros de qualidade desse extrato são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios dos sólidos totais, umidade, sólidos solúveis e insolúveis de extrato tânico em pó de *Acacia mearnsii* De Wild.

Parâmetro	Extrato seco ao ar	Extrato anidro
Sólidos totais (%)	90,24 (0,46%)	100,00 (0,00%)
Umidade (%)	9,76 (4,24%)	0,00 (0,00%)
Sólidos solúveis (%)	85,36 (2,93%)	94,59 (2,81%)
Sólidos insolúveis (%)	4,88 (49,24%)	5,41 (49,20%)

Em que: Coeficientes de variação são apresentados entre parênteses. Valores médios de 12 repetições.

Não existem divergências entre as normas técnicas (ISI, 2001; ABNT, 2008a; ISO, 2012; ASTM, 2016) com relação a concentração da solução analítica, uma vez que é padronizada em 0,4±0,025% (0,375 a 0,425 g/L) de taninos puros. Justifica-se pelo fato de a solubilização dos extratos serem influenciadas pela concentração e, além disso, possibilita fixar a quantidade de insumos necessários nas análises.

Ao referir-se ao extrato tânico em pó de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.), espécie mundialmente utilizada para extração comercial de tânicos a partir da casca, a Norma Indiana IS 6199 (BIS, 2001) padroniza uma umidade máxima de 6,0%

(sólidos totais mínimos de 94%). Considerando o extrato completamente seco (0% de umidade), essa norma estabelece teor de sólidos insolúveis máximo de 2,5% (sólidos solúveis mínimos de 97,5%).

Assim, observa-se que o extrato tânico em pó de pele utilizado neste estudo (tabela 2) deve ser mais bem armazenado a fim de reduzir sua umidade de equilíbrio, o que proporcionaria aumento dos sólidos totais.

Os teores de sólidos solúveis e insolúveis também se apresentaram inferior e superior, respectivamente, ao recomendado pela Norma Indiana IS 6199 (BIS, 2001), podendo indicar a necessidade de utilização de

papel-filtro de menor granulometria.

Uma das Normas Brasileiras Regulamentadora (NBR) estabelece o uso de papel filtro para a determinação dos sólidos solúveis (ABNT, 2008c) através do método por gravidade, enquanto uma segunda permite o uso de membrana filtrante (ABNT, 2008b) pelo método a vácuo. De maneira semelhante, a ISO (2012) estabelece o uso de membrana filtrante (método a vácuo), enquanto a D6402 (ASTM, 2004)

cita o uso de um filtro especial de caulim para a determinação deste parâmetro (método por gravidade).

Na Tabela 3 são apresentados os sólidos solúveis não tânicos e tânicos a partir das mesmas soluções analíticas utilizadas na Tabela 2, porém analisados sob distintos métodos e tempos de contato com o pó de pele com a solução analítica.

Tabela 3. Teor de sólidos solúveis não tânicos e tânicos do extrato de *Acacia mearnsii* analisados por distintos métodos e tempos de contato com o pó de pele com a solução

Método	Tempo (minutos)	N	SSnt (%)	SSt (%)	SSntc (%)	SStc (%)
Formaldeído	—	12	13,83	71,53	15,32	79,27
			-17,74%	-0,71%	-17,62%	-0,66%
Pó de pele cromado	10	2	19,71	63,8	21,91	70,95
			-7,64%	-2,07%	-7,46%	-1,89%
Pó de pele cromado	40	2	18,27	66,62	20,28	74
			-12,43%	-2,06%	-11,61%	-1,25%
Pó de pele cromado	960	2	16,39	71	18,14	78,63
			-3,58%	-1,35%	-2,80%	-0,57%
Pó de pele não cromado	10	2	23,24	60,3	25,66	66,57
			-7,73%	-3,89%	-8,11%	-4,28%
Pó de pele não cromado	40	2	20,3	65,9	22,45	72,87
			-2,37%	-1,67%	-2,31%	-1,73%
Pó de pele não cromado	960	2	18,82	67,83	20,87	75,21
			-0,75%	-1,32%	-1,00%	-1,07%

Em que: N = Número de repetições; SSnt = sólidos solúveis não tânicos do extrato seco ao ar; SSt = sólidos solúveis tânicos do extrato seco ao ar; SSntc = sólidos solúveis não tânicos corrigidos para umidade de 0%; SStc = sólidos solúveis tânicos corrigidos para umidade de 0%; Coeficientes de variação são apresentados entre parênteses.

Ao referir-se ao extrato tânico em pó de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.), a Norma Indiana IS 6199 (BIS, 2001) padroniza um teor de sólidos solúveis tânicos mínimos de 72,0%, e um teor de sólidos solúveis não tânicos máximo de 27,0%, valores que devem corresponder ao extrato completamente seco (anidro). Nesse sentido, com exceção de quando a análise foi realizada com o pó de pele não cromado no tempo de 10 minutos, todos os demais valores corrigidos para umidade de 0% apresentados na Tabela 3 satisfizeram essas recomendações da referida norma técnica. Destaca-se ainda que os valores estabelecidos pela IS 6199 (BIS, 2001) são provenientes do método do filtro (ISI, 2001), o qual apesar de também utilizar pó de pele, apresenta diferenças metodológicas quanto comparado ao método norte-americano (método *shake*) utilizado neste estudo (ASTM, 2016).

Tanto para o uso do pó de pele cromado quanto para o não cromado, houve uma redução do teor de não tânicos com o aumento do tempo de contato do pó de pele com a solução analítica. Estando inversamente relacionado com o teor de não tânicos, o teor de taninos totais apresentou aumento com o aumento do tempo de contato do pó de pele com a solução analítica, indicando que mais substâncias

(tânicas e não tânicas) foram absorvidas pelo pó de pele.

Com relação ao tempo de contato entre o pó de pele e a solução analítica, a norma norte-americana D6401 (ASTM, 2016), assim como a norma indiana IS 5466 (ISI, 2001) estabelecem um período de 13 a 15 minutos, devendo a agitação corresponder a exatamente 10 minutos. No entanto, essas referências são válidas para o pó de pele comercial levemente cromado (0,5 a 0,7% de óxido de cromo em base seca), não havendo informações para qualquer pó de pele alternativo. A pré-cromagem do pó de pele teria a função de promover sua ativação, a fim de melhorar as propriedades de absorção de tânicos.

Observa-se, portanto, que o tempo de 10 minutos, conforme recomendado pela norma D6401 (ASTM, 2016) quando do uso do pó de pele comercial, poderia não se aplicar no caso do uso do pó de pele alternativo, uma vez que o maior tempo (960 min.) apresentou resultados mais próximos ao obtido quando do uso do formaldeído. No entanto, altos valores podem significar que outras substâncias, além dos tânicos, tenham sido absorvidas pelo pó de pele. Já com relação ao alto valor de taninos condensados (quase 80%), esse fato comprova sua alta reatividade ao formaldeído, motivo pelo qual é utilizado em

formulações de adesivos para madeiras (CHUPIN et al., 2013; SAAD et al., 2014).

As normas NBR 11131 (ABNT, 2008a), ISO (2012) e D6401 (ASTM, 2016) estabelecem o uso de pó de pele padronizado à determinação dos taninos, sendo que o uso do formaldeído na determinação deste parâmetro não é padronizado, porém citado e utilizado em diversos estudos científicos, a exemplo de CHUPIN et al. (2013) e SAAD et al. (2014).

O método do formaldeído é indicado quando os extratos se destinam a produção de adesivos para madeira (CHUPIN et al. 2013; SAAD et al., 2014). Já a determinação dos taninos através do uso do pó de pele trata-se de um método reconhecido por diversas normas técnicas, e tende a determinar os taninos totais, ou seja, tanto os taninos condensados quanto os hidrolisáveis. Neste sentido, teoricamente, os teores de taninos obtidos pelo uso do pó de pele deveriam apresentar valores superiores quando comparado ao método baseado no uso do formaldeído, o que não foi observado no presente estudo.

Com relação aos testes de identificação qualitativa dos taninos, foi possível observar que as alíquotas não detanizadas se destacaram pelas suas reações colorimétricas, enquanto as alíquotas detanizadas mantiveram seu aspecto transparente, indicando não

haver substâncias tânicas para provocar reação (Tabela 4)

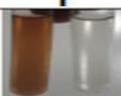
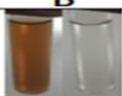
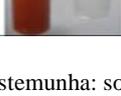
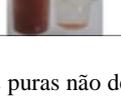
Nas alíquotas utilizadas como testemunhas (Coluna T; Tabelas 4 e 5), observa-se o aspecto transparente da alíquota que foi detanizada pelo pó de pele (tubo de ensaio à direita), diferindo-se visualmente da alíquota não detanizada (tubo de ensaio à esquerda), a qual apresentou uma coloração avermelhada, típica das substâncias tânicas.

A adição do formaldeído e ácido clorídrico para a alíquota (Coluna A; Tabelas 4 e 5) apresentou-se bastante promissor, uma vez que gerou a formação de um precipitado bem característico quando da presença de substâncias tânicas (tubo de ensaio à esquerda).

A adição do cloreto férrico, tanto em água (Coluna B; Tabelas 4 e 5) quanto em metanol (Coluna C; Tabelas 4 e 5), também proporcionou reações. No entanto, melhor resultado visual foi observado quando a solução de cloreto férrico foi dissolvida em água (Coluna B), ao invés do metanol (Coluna C).

Quando testado com gelatina incolor e cloreto de sódio (Coluna D; Tabelas 4 e 5), as alíquotas não apresentaram bons resultados visuais. Destaca-se, no entanto, que esses produtos possuíam procedência doméstica e, portanto, podem não possuir qualidade adequada para gerar as reações.

Tabela 4. Testes de identificação de presença/ausência de tanantes, comparando soluções detanizadas (mais claras) e não detanizada (coloridas), para as distintas reações qualitativa (A, B, C e D) quando da utilização do pó de pele levemente.

Tempo	R	T	A	B	C	D
10 min.	1					
	2					
40 min.	1					
	2					
960 min.	1					
	2					

Em que: R = Repetição; T = testemunha: soluções puras não detanizada (escura) e detanizada (clara), respectivamente; A= Adição de 0,4 mL de formaldeído e 0,1 mL de ácido clorídrico; B= Adição de algumas gotas de cloreto férrico à 5% em água; C= Adição de algumas gotas de cloreto férrico 1% em metanol; D= Adição de algumas gotas de solução contendo 1% de gelatina incolor e 10% de cloreto de sódio.

Tabela 5 - Testes de identificação de presença/ausência de tanantes, comparando soluções detanizadas (mais claras) e não detanizada (coloridas), para as distintas reações qualitativa (A, B, C e D) quando da utilização do pó de pele não cromado.



Em que: R = Repetição; T = testemunha: soluções puras não detanizada (escura) e detanizada (clara), respectivamente; A= Adição de 0,4 mL de formaldeído e 0,1 mL de ácido clorídrico; B= Adição de algumas gotas de cloreto férrico à 5% em água; C= Adição de algumas gotas de cloreto férrico 1% em metanol; D= Adição de algumas gotas de solução contendo 1% de gelatina incolor e 10% de cloreto de sódio.

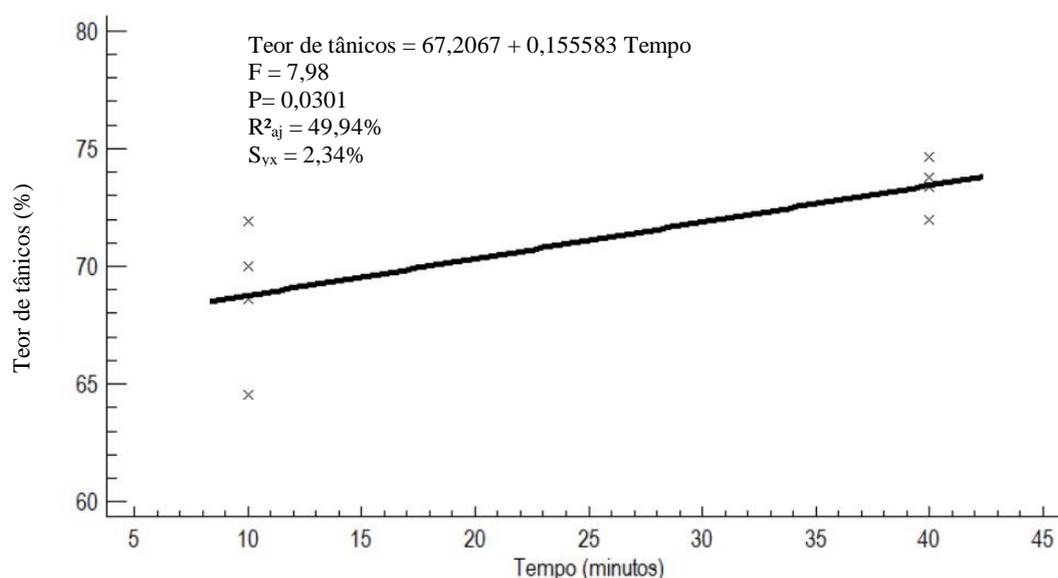


Figura 1 - Teor de tânico em função do tempo de contato do pó de pele alternativo com a solução analítica.

Em que: F = valor F; P = valor p ; R^2_{aj} = coeficiente de determinação ajustado; S_{vx} = erro padrão da estimativa.

De maneira geral, observa-se que o tempo de 10 minutos já foi suficiente para detanizar a solução analítica, uma vez que não proporcionou qualquer reação colorimétrica quando testada visualmente (Tabelas 4 e 5).

No entanto, do ponto de vista quantitativo, o tempo de 10 minutos foi o que apresentou o menor valor de tânico quando comparado aos demais (72,8% quando do uso do pó de pele cromado e 68,8% para o pó de pele não cromado, conforme Tabela 3). Confirmando que o aumento do teor de tânico em

função do aumento do tempo ocorreu pela absorção de substâncias não tânicas.

Apesar de o formaldeído ter gerado o maior valor (79,3%, conforme Tabela 3), trata-se de um método não normatizado, indicando que o teor de tânico obtido através desse pode não corresponder a realidade.

Com relação ao efeito tempo de contato do pó de pele alternativo com a solução analítica (Figura 1), a análise de regressão indicou haver uma relação

diretamente relacionada e estatisticamente significativa ($F = 7,98$; $P = 0,0301$).

Apesar do aumento do tempo de contato do com a solução analítica ter proporcionado aumento de substância absorvidas pelo pó de pele, esse aumento não ocorreu pela absorção de substâncias tânicas, uma vez que as reações qualitativas indicaram não haver tânicos a partir dos 10 minutos de contato (Tabelas 4 e 5).

Portanto, assim como no uso de pó de pele padronizado, o tempo de contato do pó de pele alternativo utilizado neste estudo com a solução analítica não deve ser superior a 10 minutos.

Deve ainda destacar que, durante a filtração, o pó de pele ainda está em contato com a solução analítica. Portanto, existe um tempo adicional de contato, além dos 10 minutos, que deve ser considerado.

Os distintos resultados obtidos em função das alterações metodológicas utilizadas no presente estudo confirmam a dificuldade de isolamento e quantificação dos taninos vegetais, o que se deve a sua complexa estrutura química.

CONCLUSÃO

O tempo de 10 minutos de contato do pó de pele com a solução analítica apresentou-se suficiente para a total detanização da alíquota, o que foi confirmado por reações colorimétricas, especialmente quando utilizado o pó de pele levemente cromado.

Apesar da qualidade do pó de pele alternativo utilizado neste estudo não ter correspondido às exigências formuladas pelas normas técnicas, seu uso mostrou-se eficiente na quantificação do extrato tânico, podendo ser utilizado como substituto do pó de pele padronizado (comercial), favorecendo para a realização de análise confiável e de custo reduzido.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC/CNPq-UFCG pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 11131**: Insumos - Tanantes - Determinação do teor de constituintes não-tanantes e tanantes. Rio de Janeiro: ABNT, 2008a. 5p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 14361**: Insumos - Tanantes - Determinação do teor de sólidos solúveis e insolúveis - método a vácuo. Rio de Janeiro: ABNT, 2008b. 3p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 14362**: Tanantes - Determinação do teor de sólidos solúveis e insolúveis - método por gravidade. Rio de Janeiro: ABNT, 2008c. 3p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **D6401-99**: Standard test method for determining non-tannins and tannin in extracts of vegetable tanning materials. Pennsylvania: ASTM, 2016. 4p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **D6402-99**: Standard test method for determining soluble solids and insolubles in extracts of vegetable tanning materials. Pennsylvania: ASTM, 2014. 3p.
- BUREAU OF INDIAN STANDARDS (BIS). **IS 6199-1971**: Specification for wattle extract. New Delhi: BIS, 2001. 6p. Disponível em: Acesso em: 02 de maio de 2019.
- CALEGARI, L. et al. Quantificação de taninos nas cascas de jurema-preta e acácia-negra. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 85, p. 61-69, 2016. DOI: 10.4336/2016.pfb.36.85.986
- CHUPIN, L. et al. Characterization of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 897-903, 2013. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.06.045
- INDIAN STANDARDS INSTITUTION (ISI). **IS 5466**: Methods of test for vegetable tanning materials. New Delhi, 1969. Reaprovada em 2001. 19 p.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **ISO 14088**: Leather - Chemical tests - Quantitative analysis of tanning agents by filter method. Geneva: ISO, 2012. 10p.
- MAKKAR, H. P. S. **Quantification of tannins in tree and shrub foliage**: a laboratory manual. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, 2003. 102p.
- MARCHINI, H. R. **Extração dos taninos da espécie *Pinus taeda* no município de Curitiba - SC e sua avaliação para aplicação industrial como adesivo modificado**. 2015. 117f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.
- SAAD, H. et al. Characterization of tunisian aleppo pine tannins for a potential use in wood adhesive formulation. **Industrial Crops and Products**, v.61, p. 517-525, 2014. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.07.035