

QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS POR ESPECTROFOTOMETRIA PELO MÉTODO BUTANOL-HCl DAS FOLHAS E CASCAS DO CAULE DA *SPONDIAS PURPÚREA* L.

Jaqueline Barbosa Teixeira¹, Maria Regilane de Sousa Rodrigues¹ e Francisco Adilson Matos Sales¹

1. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará- Campus Iguatu, Rodovia Iguatu/ Várzea Alegre, km 05, s/n, Vila Cajazeiras, CEP: 63503-790- Iguatu, Ceará.
E-mail: jaquelinebarbosaifce@hotmail.com

RESUMO:

Spondias purpúrea L., conhecida popularmente como seriguela, é uma árvore frutífera tropical, que apesar de não ser nativa do Brasil é bastante comum no Nordeste do país. Na medicina tradicional o infuso de suas folhas e cascas do caule é utilizado como antifúngico antiviral e cicatrizante, entretanto suas propriedades fitoterápicas ainda não foram comprovadas quimicamente. Os taninos são compostos fenólicos e polifenólicos, classificados como hidrolisáveis e condensados na qual estão associados ao combate a queimaduras, melhora na cicatrização de cortes epiteliais, hipertensão arterial, diarreia, problemas estomacais, renais e do sistema urinário. Esse estudo teve como objetivo determinar semi-quantitativamente os taninos condensados presentes nas folhas e cascas do caule da *Spondias purpúrea* L. O método utilizado para a quantificação foi o Butanol-ácido, e se dividiu em duas situações para ambos os extratos: extrato aquoso e sólido. Os resultados foram comparados às concentrações de taninos pertencentes a uma curva de calibração padrão para cianidina, retirada da literatura. Os valores aferidos demonstram que para as cascas do caule, houve uma maior quantidade de taninos condensados (Cianidina) com um valor de 23,84 mg.g⁻¹, provavelmente por possuir uma maior superfície de contato permitindo uma maior reação com o butanol - HCl. Já para os extratos das provenientes das folhas, os valores foram menores sendo de 7,08 mg.g⁻¹. O extrato sólido de ambas as amostras apresentou menor concentração em relação ao extrato aquoso. Por sua vez, em virtude do extrato sólido possuir uma superfície de contato menor, o método butanol - HCl não foi capaz de determinar grande quantidade de taninos ligados ele. Entretanto, concluiu-se que por meio do método butanol-HCl foi possível quantificar taninos condensados nas folhas e cascas do caule da *Spondias purpúrea* L.

PALAVRAS-CHAVE: Butanol-ácido, Espectrofotometria, *Spondias purpúrea* L., Taninos, Quantificação.

INTRODUÇÃO

A *Spondias purpúrea* L. também conhecida como Seriguela, é uma árvore frutífera tropical, pertencente à família Anacardiaceae, originária no México ou América Central, entretanto bastante comum no nordeste do Brasil, por sua grande capacidade de se adaptar em condições

endofoclimáticas. A família Anacardiaceae compreende cerca de 60-75 gêneros distribuídos em aproximadamente 870 espécies encontradas em regiões subtropicais, tropicais e de clima temperado (SILVA et al., 2014). A principal característica fitoquímica dessa família é a presença de fenóis e ácidos fenólicos em suas espécies (SOUSA et al., 2011; CUNHA et al., 2010).

Os taninos são compostos fenólicos e polifenólicos, classificados como taninos hidrolisáveis e taninos condensados, com peso molecular razoavelmente elevado (500- 3000 Da), solúveis em água e que formam complexos fortes com proteínas e outros polímeros. São provenientes do metabolismo secundário das plantas e geralmente encontrados em espécies gimnospermas e angiospermas em suas raízes, cascas, folhas, frutos, sementes e em sua seiva (DIAS et al., 2011; BELLEN et al., 2003).

É denominado hidrolisável pelo fato de suas ligações ésteres serem passíveis de sofrer hidrólise por ácidos ou enzimas e em solução desenvolvem coloração azul com cloreto férrico, assim como o ácido gálico. Os taninos condensados são compostos por unidades monoméricas interligadas, sendo as principais a catequina e a epicatequina, suas moléculas são mais resistentes à fragmentação e em solução desenvolvem a coloração esverdeada com cloreto férrico, assim como o catecol (ALGOSTINI-COSTA, 2003). Eles são muito reativos quimicamente, formando pontes de hidrogênio intra e intermoleculares, o que permite uma grande afinidade de ligação com proteínas, além de serem capazes de se ligar a aminoácidos e polissacarídeos (MELO et al., 2010).

Os taninos atualmente vêm sendo alvo de diversos estudos, a qual a maioria está relacionada às interações ecológicas entre vegetais e herbívoros, visto que estudos mostraram que os teores de taninos podem diminuir a predação dessas espécies vegetais por sua característica adstringente afetando diretamente em sua palatabilidade, afastando assim seus predadores naturais. Além de suas propriedades adstringentes, pesquisas sobre sua atividade biológica evidenciaram importante ação contra determinados microrganismos, como agentes carcinogênicos e causadores de toxicidade hepática (MONTEIRO, 2005; CABRAL et al., 2010).

Desta maneira o trabalho descrito tem como principal objetivo quantificar os teores tanínicos presentes nos extratos das folhas e das cascas do caule da *Spondias purpurea* L., visto a grande importância de taninos em pesquisas atuais e contribuir para posteriores estudos e sua caracterização química como um fitoterápico.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação do material vegetal

A área experimental de coleta localiza-se no município de Iguatu, Ceará, Brasil, pertencente ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Campus Iguatu (Figura 1). O material vegetal foi coletado em janeiro de 2016 onde foram utilizadas as folhas e as cascas retiradas do caule da planta *Spondias purpúrea* L. (Seriguela).

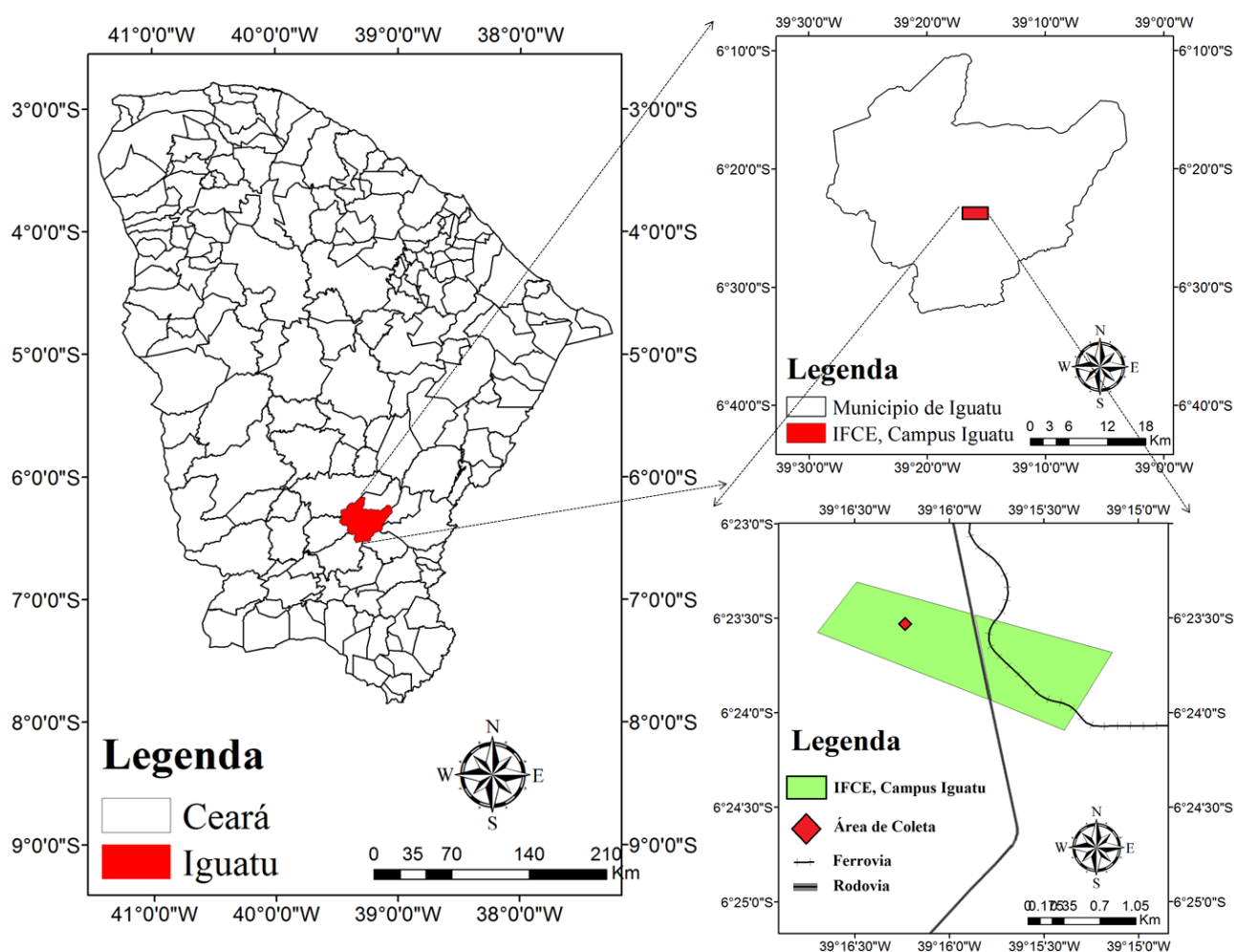


Figura 1. Localização da área de coleta no Instituto Federal do Ceará, Campus Iguatu, no município de Iguatu, Ceará.

O clima da região é do tipo BSw'h' (Semiárido quente), de acordo com a classificação climática de Köppen, com temperatura média sempre superior a 18 °C no mês mais frio. O Índice de Aridez elaborado por Thornthwaite (1948) é de 0,44, classificando-se como semiárido. A evapotranspiração potencial média é de 1.900 mm ano⁻¹, a precipitação média histórica no município de Iguatu é de 900 mm ano⁻¹.

Preparações dos extratos da *Spondias purpúrea* L.

O desenvolvimento do estudo fitoquímico das folhas e cascas do caule da *Spondias purpúrea* L. foi realizado no Laboratório de Química e no Laboratório de Bromatologia localizado no Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Ceará- *Campus* Iguatu (IFCE).

Após a coleta do material, as folhas e as cascas do caule da *Spondias purpúrea* L. foram secas em uma incubadora a 36°C por um período de 10 dias, no qual posteriormente foram pesadas, trituradas e submetidas ao processo de extração, utilizando o método da maceração com etanol como solvente, a qual se utilizou 300 ml do solvente para 279 g de folhas e 300 ml de etanol para 256 g de caule.

Posteriormente os extratos etanólicos foram protegidos da luz e armazenados por um período de 7 dias. Em seguida foram filtrados e submetidos ao processo de evaporação com auxílio de evaporador rotativo a vácuo, para a realização dos testes da triagem fitoquímica.

Quantificação de Taninos Condensados pelo método Butanol-HCl

Após a extração, uma alíquota de 1 ml do extrato foi retirada, e posteriormente diluída com água destilada. Após a diluição a amostra foi centrifugada a 4000 rpm por 20 minutos para separação do resíduo sólido. Adicionou-se, em sequencia, 4,8 ml de solução de butanol-HCl a 5% em 0,3 ml do extrato sobrenadante, levando a mistura a banho-maria a 95°C por 70 minutos. Após este período a solução alterou sua coloração de verde para vermelho e as absorbâncias foram medidas no espectrofotômetro em um comprimento de onda de 550 nm.

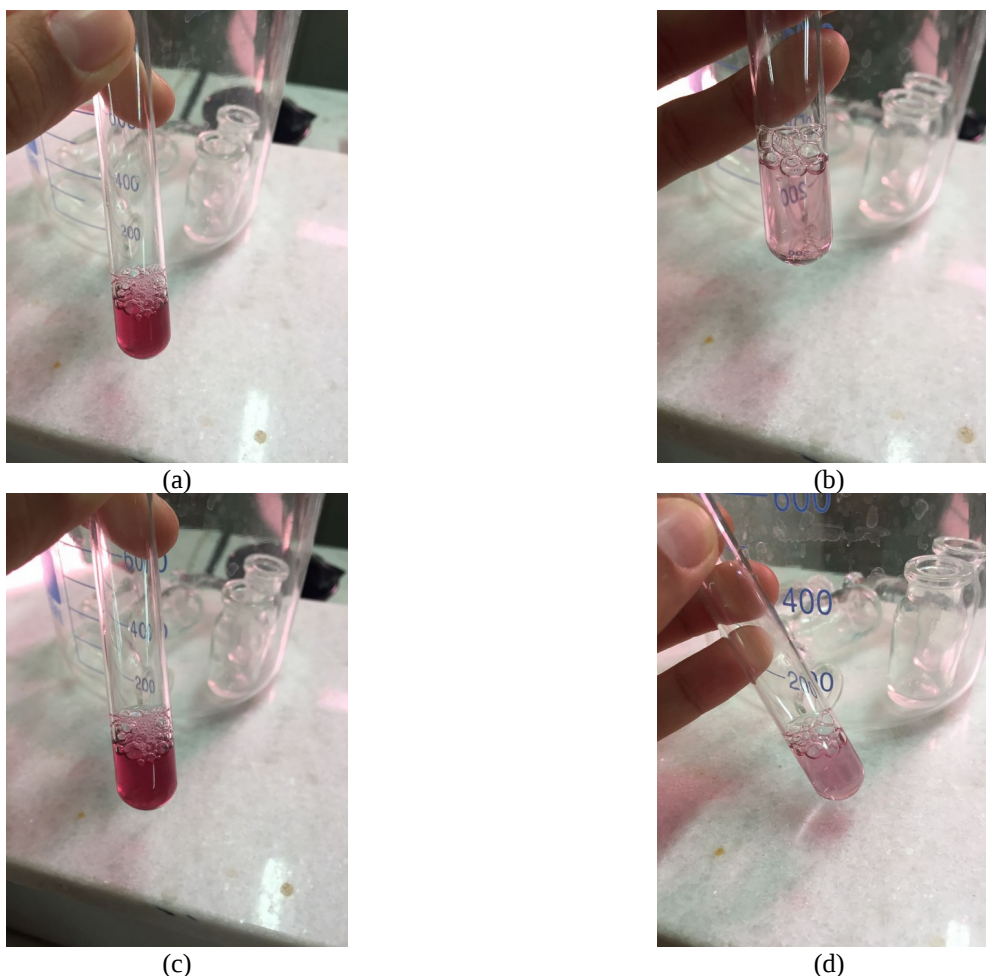
Para a quantificação na fase sólida, no resíduo sólido obtido após a centrifugação, foi adicionado 0,7 ml de água destilada e 4,2 de solução butanol-HCl a 5%, e realizou-se o mesmo procedimento descrito anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a adição da solução de Butanol-HCl a 5% nos extratos sólidos e líquidas de ambas as partes da seriguela e a mesma deixada em repouso, houve a alteração de coloração de verde para vermelho (Figura 2). Pode-se notar que a concentração da coloração dos extratos aquosos de ambas

as amostras folhas e caule (Figura 2a e 2c) são bem fortes, em comparação com os extratos sólidos (Figura 2b e 2d), indicando uma maior concentração de taninos.

Figura 2. (a) Extrato aquoso e (b) extrato sólido das folhas após a reação com a solução de Butanol-HCl e (c) Extrato aquoso e (d) extrato sólido do caule após a reação com a solução de Butanol-HCl.



Após a leitura das absorbâncias (Tabela 1), que apresentaram valores médios variando entre 0,726 e 1,009 para os extratos da folha e entre 1,004 e 5,004 para os extratos da casca do caule, os valores de concentração (m/v) de taninos foram obtidos pela curva de calibração padrão determinada por Schofield; Mbugua; Pell (2001). A concentração total de taninos condensados será a soma das frações solúveis e os ligados ao resíduo. A partir da curva de calibração padrão para cianidina, foram calculados as concentrações aproximadas de taninos condensados totais no extrato das folhas e das cascas do caule da *Spondias purpúrea* L. e seus resultados estão expostos na Tabela 1.

Tabela 1. Dados de absorvância em 550 nm do extrato aquoso e extrato sólido das folhas e cascas do caule da *Spondias purpúrea* L. e suas respectivas concentrações de taninos condensados.

Extrato etanólico de <i>Spondias purpúrea</i> L.	Valores médio de absorvância	Concentração aproximada de taninos condensados (mg.mL ⁻¹)	Concentração mássica de taninos (mg.g ⁻¹)
Extrato das Folhas	Aquoso	1,009±0,009	9,06
	Sólido	0,726±0,005	6,59
	Total		15,65 a
Extrato da Casca do caule	Aquoso	5,004±0,006	44,03
	Sólido	1,004±0,005	8,80
	Total		52,83 b

A maior concentração de taninos foi encontrada no pó da casca do caule seriguela, com concentração de 44,03 mg.mL⁻¹, podendo ser indicativo de uma maior superfície de contato reagindo com o butanol-HCl, fazendo com que uma maior quantidade de taninos se quebre em cianidina e possa ter sua absorvância lida no espectrofotômetro.

Pode-se observar que o extrato sólido de ambas as amostras, extratos das folhas e da casca do caule, obtiveram menores concentração de taninos, respectivamente 6,59 e 8,80 mg.mL⁻¹, justificado por sua menor superfície de contato dificultando assim a reação do butanol – HCl com os taninos ainda presentes. Segundo metodologias propostas por Silva et al. (2009) o próprio método butanol – HCl orienta o extrato ser seco, moído e peneirado em malha de 1 cm para melhorar assim seu contato com a solução.

Os valores em massa encontrados para o extrato aquoso e sólido das folhas secas foram de 7,06 mg.g⁻¹, já o resultado encontrado nas cascas do caule foram de 23,94 mg.g⁻¹, valor 239% maior de concentração mássica de taninos no caule. Concentrações mássicas elevadas de taninos foram observadas por Almeida (2014) no pó da casca da banana com valores de 40,25 mg.g⁻¹.

Os resultados de ambos os extratos demonstrando-se acentuados, tornando-se importante na fitoterapia cultural. As folhas e as cascas do caule da *Spondias purpúrea* L. são utilizadas na medicina natural através da decocção para diferentes enfermidades, entre as quais a principal é a cicatrização de ferimentos, pela lavagem do local lesionado e como chás para o tratamento de doenças virais como gripe.

CONCLUSÕES

Por meio deste estudo, foi possível quantificar os teores tanínicos presentes nas folhas e cascas do caule de *Spondias purpúrea* L. podendo assim contribuir e adquirir um maior conhecimento a respeito das propriedades fitoterápicas. Foi possível estudar os métodos quantitativos utilizados na determinação de taninos e semi-quantificar os taninos condensados presentes nos extratos das folhas e caule da seriguela por meio do método butanol – ácido.

Os resultados encontrados permitiram uma percepção sobre a quantidade de taninos presentes no material analisado, uma vez que aproximações foram realizadas em uma curva de calibração padrão retirada da literatura. A casca do caule obteve uma maior concentração de taninos condensados com um valor de 23,94 mg.g⁻¹ quando comparada aos extratos sólido e aquoso das folhas.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal do Ceará - FCE-Iguatu pelo apoio, ao Grupo Nanociência Aplicado a Sistemas avançados - NASA-IFCE Iguatu de pesquisa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de Tanino em Pedúnculo de Caju: Método da Vanilina versus Método do Butanol Ácido. **Química Nova**, vol. 26, n.5, 763-765, 2003.
- ANDRADE, A. P. de; COSTA, R. G da; SANTOS, E. M. et al. Produção animal no semi-árido: o desafio de disponibilizar forragem, em quantidade e com qualidade, na estação seca. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.4, n.4, p.01-14, 2010.
- BEELEN, P. M. G.; BERCHIELLI, T. T.; BEELEN, R. N. et al. Taninos condensado das espécies jurema preta (*Mimosa hostilis*), sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*) e mororó (*Bauhinia cheilantha*), em três fases do ciclo fenológico. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1, 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2003.
- CABRAL, D.L.V.; PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. 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**, v.9, n.5, p.368-376, 2010.

CUNHA, A. P.; SALGUEIRO, L.; ROQUE, O. R. METILXANTINAS. In: Cunha, A. P. (Org). **Farmacognosia e Fitoquímica**. 3. ed. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 2010.

DIAS, R.A.L.; SOUZA, P.S.; ALSINA, O.L.S. Secagem e extração de Taninos totais da Hortelã (*Mentha x vilosa* Hudson). **Revista Agrarian.**, v.4, n.12, p.123-133, 2011.

MELO, J.G.; ARAÚJO, T.A.S.; ALMEIDA E CASTRO, V.T.N.; CABRAL, D.L.V.; RODRIGUES, M.D.; NASCIMENTO, S.C.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. **Molecules**, v.15, p.8534-8542, 2010.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAUJO, E.L. Taninos: Uma abordagem química a ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p.892-896, 2005.

OLIVEIRA, L. M. B. de; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M. de. et al. Plantas taniníferas e o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes.

Ciência Rural, v.41, n.11, p. 1967-1974, 2011.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L; MACMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiser climate classification. **Hidrology and Earth System Sciences**, v. 11, 44 p. 1633-1644, 2007.

PRADO, D. E. da. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2003. Cap.1, p.3-74.

SCHOFIELD, P; MBUGUA, D.M; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**. New York, v.9, p. 21-40, 2001

SILVA, G.A.; BRITO, N.J.N.; SANTOS, E.C.G.; LOPES, J.A.; ALMEIDA, M.G. Gênero *Spondias*: Aspectos Botânicos, composição Química e Potencial Farmacológico. **BIOFARM**. v.10, n.1, p.124-132, 2014.

SILVA, J. M. et. al. Caracterização dos taninos condensados da maniçoba e de duas espécies afins. In: Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica, 4, 2009,



Belém. **Anais**. Belém: Pesquisa e inovação da rede norte e nordeste de educação tecnológica, p.6, 2009.

SIQUEIRA, C.F.Q.; CABRAL, D.L.V.; PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; AMORIM, E.L.C.; MELO, J.G.; ARAÚJO, T.A.S.; ALBUQUERQUE, U.P. Level of Tannins and Flavonoids in Medicinal Plants: Evaluating Bioprospecting Strategies. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2012, n.2012, 2011.

SOUSA, S. A.; ALVES, S. F.; PAULA, J. A. M. DE; FIUZA, T. S.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Determinação de taninos e metilxantinas no guaraná em pó (*Paullinia cupana* Kunth, Sapindaceae) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20, n. 6, p.124-136, 2010.

VERZA S. G. Avaliação das variáveis analíticas dos métodos de determinação do teor de taninos totais baseados na formação de complexos com substâncias protéicas e derivados da polivinilpirrolidona. **Mestrado (Dissertação em Ciências Farmacêuticas)**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

