

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

**ALINE POYER
LETICIA SCHAEFER**

**OBTENÇÃO DE TANINOS A PARTIR DE EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DE FOLHAS E FLORES DE LIPPICIA ALBA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2014

**ALINE POYER
LETICIA SCHAEFER**

**OBTENÇÃO DE TANINOS A PARTIR DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DE FOLHAS E FLORES DE *Lippia alba***

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sirlei Dias Teixeira

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Raquel Dalla Costa da Rocha.

FOLHA DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **Obtenção de taninos a partir do extrato hidroalcoólico de folhas e flores de *Lippia alba*** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° **2.1.2014-B** de 2014.

Fizeram parte da banca os professores.

Orientadora: Prof^a.Dr^a Sirlei Dias Teixeira

Prof.Dr. Davi Silva

Co-orientadora:Prof^a.Dr^a Raquel Dalla Costa da Rocha

DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho aos nossos pais Jaquelina Colli e Vilmar Poyer (Aline) e Tania Maria Schaefer e Romarcos Osmar Schaefer (Leticia), com todo o amor e gratidão, por tudo que nos proporcionaram ao longo de nossas vidas. Desejamos poder ter sido merecedoras do esforço dedicado por vocês em todos os aspectos, especialmente quanto a nossa formação.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo agradecemos à Deus, que sempre nos protegeu e proporcionou forças para lutar e superar todas as nossas dificuldades.

À Professora Dr^a. Sirlei Dias Teixeira, por sua orientação, dedicação, gentileza e ensinamentos durante a realização deste trabalho.

À Professora Dr^a. Raquel Dalla Costa, por sua co-orientação e contribuição durante todas as etapas desta pesquisa.

A todos os professores que fizeram parte da nossa vida acadêmica, por nos auxiliar na construção do conhecimento em cada área ministrada.

A todos os funcionários e estagiários do laboratório, pelo espaço cedido, ajuda e amizade.

A todos os amigos que conquistamos durante os quatro anos de trajetória, obrigada pela amizade, atenção e companheirismo, em especial a Camila Diedrich que mesmo estando longe nos apoiou e ajudou em momentos difíceis.

E por fim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

EPÍGRAFE

"A força realizadora mora dentro de cada um de nós, os sonhos, objetivos e metas são pontos de apoio para nos vermos no futuro, mas somente acreditando naquilo que somos é que poderemos transformar sonhos em realidade."

Luis Alves

RESUMO

POYER, Aline; SCHAEFER, Leticia. Obtenção de taninos a partir do extrato hidroalcoólico de folhas e flores de *Lippia alba*. 2014. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2014.

A planta *Lippia alba* é um arbusto aromático comumente conhecida como erva-cidreira ou melissa, é amplamente estudada entre os gêneros *Lippia* devido as suas propriedades medicinais. A principal razão para estudar a química do metabolismo da planta é devido a vasta quantidade de estruturas químicas encontradas em seus constituintes orgânicos. Dentre os metabólitos secundários que ocorrem após a fase de crescimento, estão os flavonoides, compostos polifenólicos, que agregam várias classes de metabólitos, entre eles os taninos. Taninos são compostos amplamente distribuídos entre as plantas, conhecidos por apresentarem gosto amargo, peso molecular entre 500 e 3.000 u.m.a. Estes compostos são imensamente utilizados em indústrias de curtimento de couro, indústrias farmacêuticas, entre outras. Os extratos também podem ser utilizados como floculantes ou coagulantes. Em função de sua estrutura química, os taninos são classificados em hidrolisáveis - possuem ligações ésteres passíveis de sofrerem hidrólise, e em taninos condensados, que são moléculas mais resistentes a fragmentação, e apresentam estrutura polimérica. Objetivando a obtenção de taninos das folhas e flores de *Lippia alba*, foram feitos testes qualitativos com solventes e concentrações diferentes, a fim de averiguar qual o melhor solvente para obter resultados significativos. Após a realização dos testes qualitativos, iniciaram-se os quantitativos, onde os métodos utilizados foram baseados na reação de Stiasny descrita por Trugilho et al. (2003) e ou outro métodos também de Stiasny, descrito pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009). Os resultados obtidos a partir das extrações e da utilização de métodos distintos de quantificação são considerados resultados significativos, sendo que a melhor resposta obtida foi com o sistema de solvente 6:4 da folha, sendo que o primeiro dia foi o de melhor rendimento em teor de taninos condensados tanto para o método de Trugilho et al. (2003) quanto para o da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009).

Palavras-chave: *Lippia alba*, metabólitos secundários, tanino.

ABSTRACT

POYER, Aline; SCHAEFER, Leticia. Obtaining tannins from the hydroalcoholic extract of leaves and flowers of *Lippia alba*. 2014. 34 f. Conclusion of Course Job (Bachelor of Industrial Chemistry) - Federal Technological University of Paraná. Pato Branco. 2014.

The *Lippia alba* plant is an aromatic shrub commonly known as lemon balm or Melissa and it is widely studied of the genus *Lippia* due to its medicinal properties. The main reason for studying the chemistry metabolism of the plant is because of the vast amount of chemical structures found in their organic constituents. Among the secondary metabolites that occur after the growth phase are flavonoids, polyphenolic compounds that aggregate various classes of metabolites, including tannins. Tannins are compounds largely distributed amongst plants and known for have bitter taste and molecular weight between 500 and 3000 a.m.u. These compounds are vastly used in tanning leather, pharmaceutical, and other industries. The extracts can also be used as flocculants or coagulants. Due to their chemical structure, the tannins are classified as hydrolysable - having ester bonds liable of undergoing hydrolysis, while condensed tannins are more resistant to fragmentation of molecules and have polymeric structure. With purpose to obtainment tannins from leaves and flowers of *Lippia alba*, qualitative experiments were performed using different solvents and concentrations in order to determine which was the best solvent to obtain significant results. After performing the qualitative tests, the quantitatives were initiated, in which the methods used were based on the reaction of Stiasny described by Trugilho et al. (2003) and also others Stiasny methods described by Brazilian Society of Pharmacognosy (2009). The results obtained from the extraction and use of different methodologies of quantification were identified as significant results, with the best response was obtained with the 6:4 solvent system of the sheet. The best yield level of condensed tannin was achieved at the first day, using both Trugilho et al. (2003) and to the Brazilian Society of Pharmacognosy (2009).

Keywords: *Lippia alba*, secondary metabolites, tannin.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Imagem da planta <i>Lippia alba</i> | 15 |
| Figura 2. Estrutura de tanino hidrolisável. | 18 |
| Figura 3. Estrutura do tanino condensado flavan-3-ol..... | 19 |
| Figura 4. Modelo de estrutura dos taninos condensados..... | 20 |
| Figura 5. Testes qualitativos realizados com a flor, utilizando como solvente de extração, álcool:água em diferentes proporções, apresentadas respectivamente da esquerda para a direita, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1..... | 29 |
| Figura 6. Testes qualitativos realizados com a folha, utilizando como solvente de extração, álcool:água em diferentes proporções, apresentadas respectivamente da esquerda para a direita, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1..... | 29 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Proporções utilizadas de água e álcool etílico, para estudo do melhor extrato obtido, em termos de conteúdo de taninos..... | 28 |
| Tabela 2. Resultados obtidos no primeiro dia de extração..... | 31 |
| Tabela 3. Resultados obtidos no segundo dia de extração..... | 31 |
| Tabela 4. Resultados obtidos no terceiro dia de extração..... | 32 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 OBJETIVOS | 13 |
| 2.1 OBJETIVOS GERAL | 13 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 14 |
| 3.1 PLANTAS E PRODUTOS NATURAIS | 14 |
| 3.2 LIPPIA ALBA E SEUS METABÓLITOS..... | 14 |
| 3.3 TANINOS | 16 |
| 3.3.1 Taninos Hidrolisáveis e Condensados | 17 |
| 3.3.1 Taninos e suas aplicações | 20 |
| 3.4 MÉTODOS UTILIZADOS PARA EXTRAÇÃO DE TANINOS..... | 21 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 23 |
| 4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL..... | 23 |
| 4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS | 23 |
| 4.3 PREPARO DE SOLUÇÕES PARA OS TESTES | 23 |
| 4.3.1. Cloreto Férrico..... | 23 |
| 4.3.2. Acetato de Chumbo..... | 23 |
| 4.3.3 Reação de Stiasny | 24 |
| 4.4 TESTES DE DETECÇÃO..... | 24 |
| 4.5 EXTRAÇÃO DE TANINOS..... | 24 |
| 4.6 QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS | 25 |
| 4.6.1 Determinação do Teor de Extrativos Totais (TE) | 25 |
| 4.6.2 Conteúdo de Taninos Solubilizados em Solução hidroalcoólica | 25 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 28 |
| CONCLUSÃO OU CONSIDERAÇÕES FINAIS | 34 |
| REFERÊNCIAS | 35 |

1 INTRODUÇÃO

A natureza é rica em compostos orgânicos de várias classes estruturais, entre estas, os taninos, metabólitos, que são subdivididos em hidrolisáveis e condensados.

Os taninos são substâncias com sabor adstringente, amplamente distribuído entre as plantas, favorecendo a sua proteção contra ataques de fungos, bactérias, vírus e ainda contra herbívoros em geral, são compostos conhecidos por apresentarem gosto amargo, odor repulsivo, e ainda por sua alta capacidade de causar intoxicações em animais. São compostos fenólicos solúveis em água, com peso molecular entre 500 e 3.000 u.m.a. e podem ser extraídos de várias espécies florestais (AMORIM et al., 2005).

Atualmente, além da indústria de curtição de couro, os taninos encontram aplicações diversas, também na indústria farmacêutica, em bebidas, na fabricação de plásticos, como fungicidas, entre outras. Os extratos também possuem utilidades como floculantes ou coagulantes (SIMÕES et al., 2010).

O estudo realizado com folhas e flores de *Lippia alba* foi desenvolvido tendo como etapas principais, a escolha da planta, identificação botânica, levantamento bibliográfico, obtenção de extratos de folhas e flores, prospecção fitoquímica de taninos nos extratos obtidos e a extração e quantificação dos taninos presentes.

L. alba é um arbusto aromático, que atinge altura de até 2 metros. É comumente conhecida como pruntoalivio (na Colômbia), melissa brasileira ou erva-cidreira de arbusto (no Brasil), Cidrón (na Venezuela), Juanilama (na Costa Rica) e Quitacolor (na América Central). É pertencente a família verbanaceae, originária na América do Sul, floresce durante o ano todo, tendo mais facilidade de se desenvolver em regiões com temperaturas de até 32° C e com alta intensidade de luz (GARCÉS et al, 2010).

Ganha destaque sendo a mais estudada dentre o gênero *Lippia*, devido as suas incontáveis propriedades medicinais. Possui propriedades sedativas, melhora a qualidade do sono, podendo ser utilizada como antidepressivo, analgésico e antiespasmódico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAL

Obter e quantificar taninos de folhas e flores de *L. alba*, a partir de extratos em gradientes crescentes de polaridade, hexano, éter etílico, etanol e água.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o teor de obtenção de taninos em cada um dos extratos;
- Avaliar o rendimento de extração das várias partes da planta em estudo;
- Identificar a melhor concentração para a extração de taninos para estudos futuros;
- Avaliar qual dos extratos terá melhor viabilidade econômica, para futuros estudos e aplicações em indústrias.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PLANTAS E PRODUTOS NATURAIS

Segundo Korolkovas (1988) existem na terra cerca de 600.000 espécies vegetais, sendo que apenas 5% foram estudadas especificamente sob os aspectos químicos e farmacológicos.

Sobre o estudo de tais plantas, Gottlieb e Mors (1978 apud KOROLKOVAS, 1988, p. 47) ressaltam que, das 120.000 espécies vegetais brasileiras, estudou-se apenas alguns dos constituintes químicos de cerca de 470 (0,4%) das plantas, a respeito dos outros 99,6% da flora nacional, nada ou pouco se sabe em relação aos constituintes químicos.

Os produtos naturais são muito utilizados em indústrias farmacêuticas, também se destacam no uso como corantes. Estas fontes naturais estão disponíveis abundantemente, oferecendo assim muitas possibilidades de se encontrar substâncias com interesses terapêuticos.

3.2 LIPPIA ALBA E SEUS METABÓLITOS

O estudo foi feito com a planta *L. alba* ou popularmente conhecida como erva-cidreira-brasileira, ela é uma espécie de planta medicinal amplamente encontrada e possui cerca de 175 gêneros e 2800 espécies, distribuídas especialmente em climas tropicais e subtropicais do hemisfério sul.

L. alba é um subarbusto que pode alcançar até um metro e meio de altura, possui ramos finos, longos, arqueados e esbranquiçados. Suas folhas são inteiras, de cerca de 3 a 6 cm de comprimento, e suas flores são azul-arroxeadas de eixo curto e tamanho variável, como demonstrada na imagem abaixo.



Figura 1. Imagem da planta *Lippia alba*

Fonte: <<http://planetasustentavel.abril.com.br/blog/biodiversa/files/2013/08/Lippia-alba.jpg>>

Acessado em : 22 de jul. 2014

É frequentemente utilizada como chá e em compressas, devido as suas propriedades farmacológicas. É uma planta que possui vários nomes populares, dentre eles erva-cidreira-de-arbusto, alecrim-selvagem, alecrim-do-campo, salva, sálvia, entre outros mais (CAMÊLO et al, 2011).

Segundo (CROUT; GEISSMAN, 1969) a principal razão para se enfatizar a química do metabolismo da planta, é a variedade de estruturas químicas encontradas nos constituintes orgânicos de plantas. Os metabólitos produzidos pelas plantas, para efeito didático, costumam ser separados em primários e secundários, neste último inclui-se a classe dos taninos.

Os metabólitos secundários são substâncias que geralmente não estão envolvidas em funções vitais das plantas, geralmente não fazem parte do metabolismo básico e possuem características químicas muito variadas e às vezes bem complexa, seus produtos normalmente constituem o que os químicos chamam de “produtos naturais”, esses metabólitos ocorrem após a fase de crescimento e são produzidos por grupos específicos de organismos vivos, ocasionalmente eles ocorrem na forma de misturas de compostos muito semelhantes, além disso, tem sua origem como derivados de diferentes intermediários no metabolismo primário.

Eles são compostos orgânicos que não estão envolvidos diretamente nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos. São frequentemente restritos a um conjunto reduzido de espécies de um grupo filogenético, tendo um papel importante na defesa dos organismos vivos, de maneira intra e inter-específicas. Algumas classes de metabólitos secundários: Terpenoides, Alcaloides e Flavonoides.

Os flavonoides se constituem em um grupo de grande distribuição na natureza. São grupos de compostos polifenólicos e esta classe possui vários estudos importantes devido às atividades farmacológicas, dentre as quais, a principal é a de possuir ação antioxidante (SIMÕES et al., 2010).

3.3 TANINOS

Os compostos tânicos são estudados dentro da classe dos flavonoides e podem ser amplamente encontrados em plantas e vegetais, ocorrendo nas raízes, nas folhas, casca, flores, sementes e na seiva e também são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e outros produtos vegetais. A adstringência ocorre devido à precipitação de glicoproteínas salivares, levando à perda do poder lubrificante BRUNETON (1991 apud CASTEJON, 2011, p.4).

Os taninos são compostos fenólicos, e reagem facilmente formando pontes de hidrogênio, intra e intermoleculares, MONTEIRO et al. (2005 apud CASTEJON, 2011, p.4). Estes compostos oxidam facilmente, tanto por enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais, como por exemplo, o cloreto férrico, o qual ocasiona o escurecimento de suas soluções MELLO & SANTOS (2001 apud CASTEJON, 2011, p.5).

O teor e a espécie de taninos variam não somente de um vegetal para outro, como também de uma parte para outra do mesmo vegetal, ainda podendo variar conforme as condições climáticas e geográficas em que são cultivadas (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004).

Dentro do grupo dos taninos, existem duas classificações devido a sua estrutura química: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Esses dois tipos se distribuem no reino vegetal de formas diferentes.

Os taninos hidrolisáveis quase que restritos às espécies *Choripetalae* das *dicotiledôneas* e os taninos condensados, que estão distribuídos amplamente em plantas lenhosas (SIMÕES et al., 2010).

Além das atividades farmacológicas e biológicas que envolvem o tratamento de diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, feridas, queimaduras e entre outros, os taninos também são utilizados industrialmente para o curtimento do couro. São encontrados também, quando em reação com formaldeído, na produção de polímeros com poder aglutinante, sendo utilizados na produção de borrachas e fabricação de laminados de madeira (SIMÕES et al., 2010).

Segundo Porter e Hemingway (1989 apud SIMÕES et al., 2010, p.633) os derivados de taninos condensados e amônio quaternário com outras substâncias, têm sido utilizados como base para agentes floculantes ou coagulantes para o tratamento de água.

Os taninos são substâncias detectadas qualitativamente por testes químicos. São substâncias fenólicas solúveis em água e em solventes orgânicos polares, e possuem capacidade de formar complexos insolúveis em água como alcaloides, gelatina e outras proteínas. Como já falado anteriormente, os taninos são classificados em hidrolisáveis e condensados (PANSERA et al., 2003).

De acordo com a Veronese Produtos Químicos Ltda (2011), as espécies mais conhecidas com quantidades significativas de taninos são a acácia negra (*Acácia meanssi*), o eucalipto (*Eucalyptus*), o carvalho (*Quercus sp*), o pinho (*Pinus sp*) e o quebracho (*Scinopsis balansae*).

3.3.1 Taninos Hidrolisáveis e Condensados

Os taninos hidrolisáveis possuem ligações ésteres como demonstrado na figura 2, essas ligações são passíveis de sofrerem hidrólise por ácidos ou enzimas, como será demonstrado nos métodos, em solução eles desenvolvem coloração azul com cloreto férrico (FeCl_3). Este grupo de taninos pode ser encontrado em elevadas concentrações principalmente em madeiras, cascas de árvores, galhos e folhas (BERNARDES et al., 2011 apud MULLER-HARVEY, 2001).

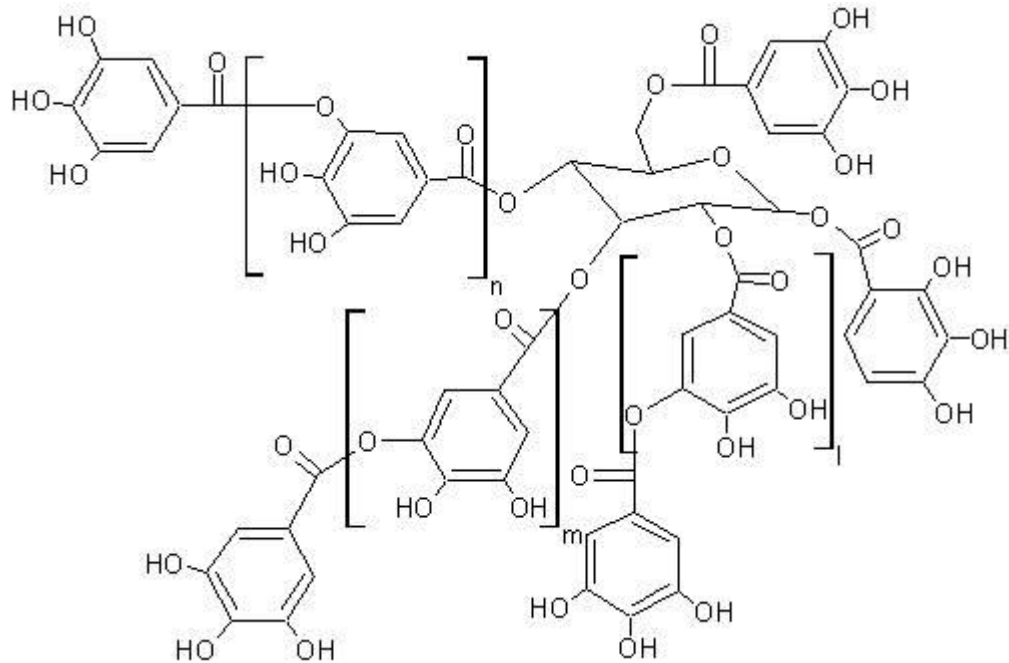


Figura 2. Estrutura de tanino hidrolisável.

Por outro lado, os taninos condensados possuem suas moléculas mais resistentes a fragmentação e relacionam-se com os pigmentos flavonoídicos, tendo por exemplo, uma estrutura “polimérica” do flavan-3-ol que está demonstrada na figura 3, como a catequina que é um fitonutriente da família dos polifenóis e possui vasta ação antioxidante, sendo encontrada de forma natural em alguns alimentos, ou do flavan-3,4-diol, da leucocianidina (SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, 2009).

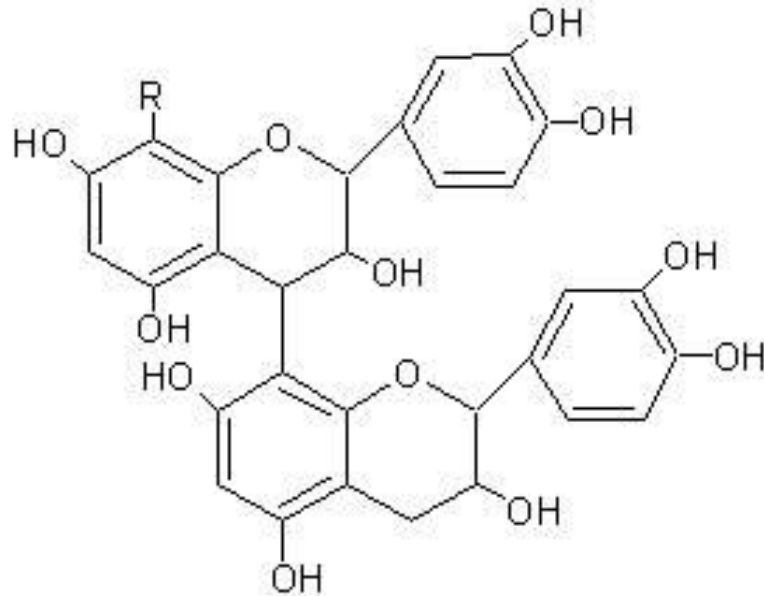


Figura 3. Estrutura do tanino condensado flavan-3-ol

Os taninos condensados podem ser encontrados em inúmeros produtos de origem vegetal, o que concede às hortaliças, frutas e condimentos alto valor nutricional e ótimas propriedades terapêuticas. Tais alimentos possuem substâncias com ação antioxidante, o que proporciona efeitos benéficos para o organismo humano, contribuindo para uma melhoria na saúde, pois retarda o envelhecimento e previne contra certas doenças (BERNARDES, 2011).

Os taninos condensados, sob tratamento com ácidos tendem a se polimerizar em substâncias vermelhas que são insolúveis, chamadas de flobafenos. Em solução, reagindo com FeCl_3 desenvolvem uma coloração verde, assim como o catecol (SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, 2009).

Dentre os dois tipos principais, os taninos hidrolisáveis são hidrolisados por ácidos ou bases fracas, produzindo carboidratos e ácidos fenólicos, por outro lado os taninos condensados são polímeros de 2 a 50 unidades de flavonoides e, em alguns casos, até mais unidades, ligadas por ligações carbono-carbono que não são suscetíveis de serem rompidas por hidrólise. Apesar de muitos dos taninos condensados serem hidrossolúveis, alguns deles, os de grande dimensão são insolúveis em água (CENTRO DE INTELIGÊNCIA EM FLORESTAS, 2013).

Abaixo é apresentado a figura 4 representando a estrutura de um determinado tipo de tanino condensado, ressaltando que o esqueleto destes são

estruturas flavonoídicas, em que alteram-se apenas determinadas ligações, dando origem a inúmeras estruturas diferentes.

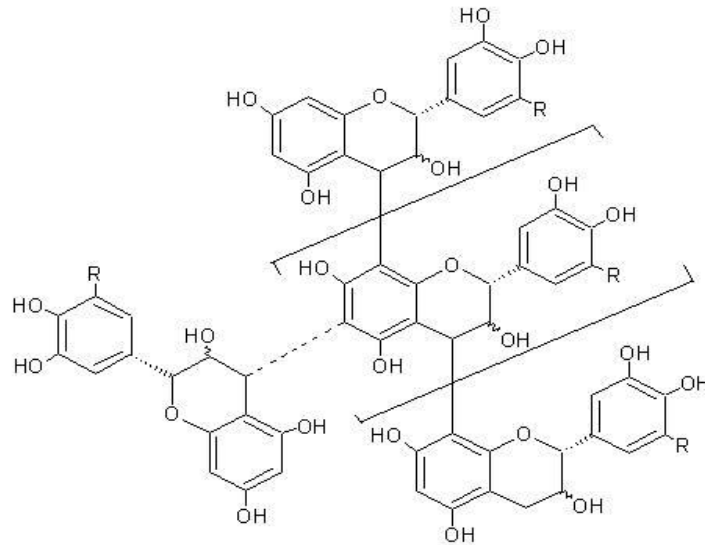


Figura 4. Modelo de estrutura dos taninos condensados.

3.3.1 Taninos e suas aplicações

Os taninos são muito utilizados em indústrias, principalmente os taninos condensados, pois tais fornecem várias propriedades benéficas para melhoramento de produtos. Os taninos condensados são amplamente utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica, química, de couro e curtumes.

O tanino condensado é um composto polifenólico que apresenta vantagens em relação aos outros polifenóis naturais como, a facilidade de reação e de precipitar proteínas. O tanino condensado é utilizado na produção de tintas, produtos farmacêuticos, adesivos, floculantes para fabricação de vinhos e cervejas, entre outras aplicações.

Na medicina tradicional, os taninos são utilizados no tratamento de várias doenças e enfermidades, como por exemplo no tratamento de feridas, pois possui propriedades anti-sépticas, devido a sua capacidade de precipitar as proteínas das células superficiais das mucosas e dos tecidos, originando assim uma camada protetora que impede o desenvolvimento de microrganismos (DIAS, 2012).

Os taninos ainda exercem um papel importante na nutrição animal, principalmente na alimentação de animais ruminantes, pois esses compostos possuem a habilidade de formarem facilmente complexos com vários tipos de moléculas. Porém esses efeitos benéficos só são observados quando o teor de taninos não ultrapassa os 5%, pois acima deste valor a adstringência já é elevada, e ocasiona a dificuldade de ingestão do alimento (SILVA et al., 2009).

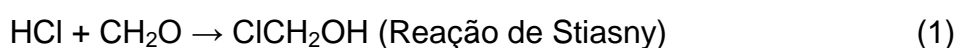
3.4 MÉTODOS UTILIZADOS PARA EXTRAÇÃO DE TANINOS

Atualmente existem vários métodos para se extrair taninos de plantas diversas, porém alguns solventes extraem uma maior quantidade com menos prejuízo ao meio ambiente.

A extração com metanol, é muito citada em diversos artigos diferentes, porém no artigo de Pansera et al. (2003), eles trazem uma importante observação que conforme Scalbert et al. (1989 apud PANSERA et al. 2003, p. 20) para que a extração de taninos com metanol seja eficiente o bastante, deve-se fazer a extração em temperaturas e pressões baixas.

Alguns estudos além de utilizarem a extração com água quente, para melhorar a extração fazem uso de sais como, sulfito de sódio (Na_2SO_3), carbonato de sódio (Na_2CO_3) e metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) (PAES, 2013), com tudo, fala-se que o solvente mais utilizado na extração de tanino é a acetona a 70% em meio aquoso, contendo 0,1% de ácido ascórbico, devido a acetona ser o mais eficiente solvente para a extração de proantocianidinas e o ácido ascórbico é adicionado à solução para prevenir a oxidação dos taninos durante a extração JONES et al (1976 apud BEELEN et al 2008, p.9).

Porém para este estudo foram utilizadas flores e folhas da planta *L. alba* e para escolha do método de extração, foram feitos estudos preliminares utilizando testes qualitativos com diversos tipos de solventes em diferentes concentrações. Levou-se em conta também, que um dos principais métodos para identificação, tanto hidrolisáveis como condensados, é o de Stiasny.



Esse método consiste em se utilizar uma combinação de ácido clorídrico concentrado e formaldeído (1:2), conforme a fórmula relatada acima (1).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As amostras de *L. alba* foram coletadas no município de Pato Branco em meados do mês de julho de 2013, foram secas a sombra até peso constante e após isso foram separadas, trituradas em liquidificador, e então condicionadas separadamente em potes para evitar fungos e demais microrganismos indesejados.

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos foram obtidos através da extração com uma mistura hidroalcoólica em um período de três dias consecutivos, o mesmo encontra-se descrito detalhadamente no item 4.5 que foi previamente estudado e analisado em grupo. Após a obtenção dos extratos, foram feitas análises de detecção, separação e quantificação dos taninos hidrolisáveis e condensados.

4.3 PREPARO DE SOLUÇÕES PARA OS TESTES

4.3.1. Cloreto Férrico

O método utilizado para detecção de taninos condensáveis e ou hidrolisáveis foi baseado na metodologia de MATOS (1997), o qual descreve o preparo de uma solução de cloreto férrico a 1% em metanol e segundo a metodologia, os taninos hidrolisáveis deverão adquirir cor azul e os condensados deverão adquirir coloração verde.

4.3.2. Acetato de Chumbo

A metodologia a ser utilizada para identificar taninos hidrolisáveis foi baseada na SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (2009), a qual indica a utilização de 5 mL de extrato acrescido de uma solução preparada com 10mL de ácido acético a 10% e 5mL da solução de acetato de chumbo também a 10%.

4.3.3 Reação de Stiasny

Para a separação das duas classes de taninos, o método utilizado foi o reativo de Stiasny, o qual foi preparado seguindo a metodologia descrita pela SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (2009), segundo a qual, deixa-se sob refluxo por 20 minutos uma mistura de 5 mL de ácido clorídrico concentrado e 10 mL de formol.

4.4 TESTES DE DETECÇÃO

Para os testes de detecção foram utilizados dois métodos : a reação de Stiasny que utilizou 50 mL do extrato acrescido de 15 mL do reativo de Stiasny. Essa solução foi deixada sob refluxo por 30 minutos, e após ocorrer a reação, quando o tanino condensado está presente forma--se um precipitado de coloração vermelha.

E o método para a detecção de taninos hidrolisáveis, estes continuavam em solução, foi utilizado 10 mL do filtrado da reação feita anteriormente, sendo acrescentado 5 g de acetato de sódio e algumas gotas de FeCl_3 a 1% em metanol. Quando surgia a coloração azul era uma indicação de que a reação teve resultado positivo para taninos hidrolisáveis.

4.5 EXTRAÇÃO DE TANINOS

As extrações foram realizadas em etapas de 3 dias cada, tanto para a flores como para as folhas, sendo que inicialmente foram feitas extrações, com 100 mL de hexano para obtenção de compostos apolares, em seguida, a segunda etapa utilizando 100 mL de éter etílico para obtenção de compostos de média polaridade, e por fim, a terceira etapa onde foram adicionados 100 mL da solução hidroalcoólica em um frasco de Erlenmeyer contendo 5 g da planta. Foi feita filtração e troca de solução hidroalcoólica a cada 24 horas assim como em todas as demais etapas. Os filtrados da solução hidroalcoólica foram armazenados em recipientes fechados para não ocorrer contaminação e após os 3 dias de extração se iniciaram as análises.

4.6 QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS

As equações apresentadas abaixo foram todas baseadas na metodologia de Trugilho et al.(2003), e serão descritas sucintamente em cada item.

4.6.1 Determinação do Teor de Extrativos Totais (TE)

Para caráter quantitativo após realizadas as extrações, os resíduos das flores e folhas, foram secas em estufa a $103^{\circ} \text{C} \pm 2$, para a determinação do teor de extrativos totais em solução hidroalcoólica. A seguir, a equação 1 usada para o cálculo:

$$TE = \left(\frac{(Pi - Pf)}{Pf} \right) X 100$$

Onde:

TE é o teor de extrativos totais em porcentagem;

Pi é o peso inicial da amostra;

Pf é o peso seco em estufa, após as extrações, em grama.

4.6.2 Conteúdo de Taninos Solubilizados em Solução hidroalcoólica

Para determinação do conteúdo em taninos foi utilizada a metodologia apresentada por Trugilho et al (2003), que consiste na retirada de uma amostra de 100 mL do extrato total, no qual são adicionados 10 mL de formaldeído e 5 mL de ácido clorídrico concentrado, deixando-se em repouso por um período de 24 horas. Este material foi filtrado e seco em estufa a $103^{\circ} \text{C} \pm 2$ e após, pesado em balança analítica obtendo-se o índice de Stiasny (IS). Foram feitas duplicatas para flores e folhas.

Esta reação pode ser calculada da seguinte forma:

$$IS = \left(\frac{M2}{M1} \right) X 100$$

Onde:

IS é o índice de Stiasny;

M1 é a massa de sólidos na proporção utilizada de extrato;
 M2 é a massa do precipitado tanino – formaldeído.

4.6.2.1. Teor de sólidos totais em porcentagem (TST)

O teor de sólidos totais será calculado da seguinte forma:

$$TST = \left(\frac{PS}{PU} \right) \times 100$$

Onde:

TST é o teor de sólidos totais em porcentagem;

PS é o peso da amostra seca;

PU é o peso inicial da amostra.

4.6.2.3. Teor de taninos presentes em solução (TTC)

O teor de taninos presentes na solução será determinado a partir da seguinte equação:

$$TTC = \left(\frac{IS}{TST} \right) \times 100$$

Em que:

TTC é o teor de taninos na solução obtido em porcentagem;

IS é o peso de tanino na solução em gramas;

TST é o teor de sólidos totais em porcentagem.

4.6.2.4. Teor de taninos em flor e folha seca (TTF)

O teor de taninos em flor e folha secas será obtido por:

$$TTF(\%) = (TE - TTC)$$

Em que:

TTF é o teor de taninos em flor e folha obtidos em porcentagem;

TE é o teor de extrativos totais em porcentagem;

TTC é o teor de taninos na solução obtido em porcentagem.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foram feitos testes qualitativos a fim de averiguar qual solvente e concentração poderiam extrair maior quantidade de tanino da planta, os testes foram feitos utilizando a metodologia de cloreto férrico. Para tanto, foram utilizados três solventes diferentes, hexano, éter etílico e álcool etílico. Sabe-se que os taninos possuem características polares, portanto os resultados para os estratos hexânico e de éter etílico foram negativos.

Ao realizar-se os testes com o solvente polar, álcool, averiguou-se que existia uma quantidade significativa de tanino presente no meio, decidiu-se então testar outro solvente também polar, a água, uma vez que fazia parte de nossos objetivos, avaliar o(s) solvente(s) com melhor viabilidade econômica. Realizou-se a extração exaustiva com água, a temperatura ambiente, seguida dos testes qualitativos, e, observou-se que existiam quantidades significativas de tanino no meio.

A partir dos resultados obtidos, decidiu-se por agregar os dois solventes polares para estudar em quais concentrações haveriam maiores quantidades presentes nos testes qualitativos. Esse procedimento foi utilizado tanto para as flores como para as folhas, como mostra a tabela 1, e em seguida, as imagens dos testes realizados:

Tabela 1. Proporções utilizadas de água e álcool etílico, para estudo do melhor extrato obtido, em termos de conteúdo de taninos.

| |
|-------------------|
| Água + 10% álcool |
| Água + 20% álcool |
| Água + 30% álcool |
| Água + 40% álcool |
| Água + 50% álcool |
| Água + 60% álcool |
| Água + 70% álcool |
| Água + 80% álcool |
| Água + 90% álcool |

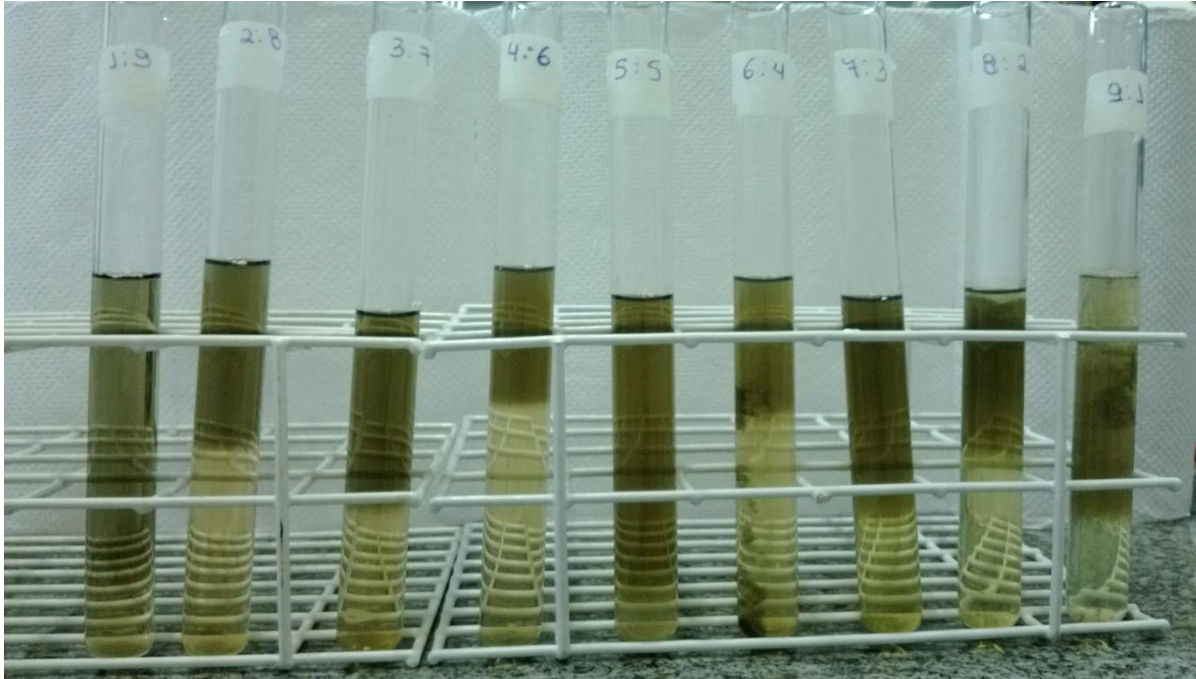


Figura 5. Testes qualitativos realizados com a flor, utilizando como solvente de extração, álcool:água em diferentes proporções, apresentadas respectivamente da esquerda para a direita, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1.

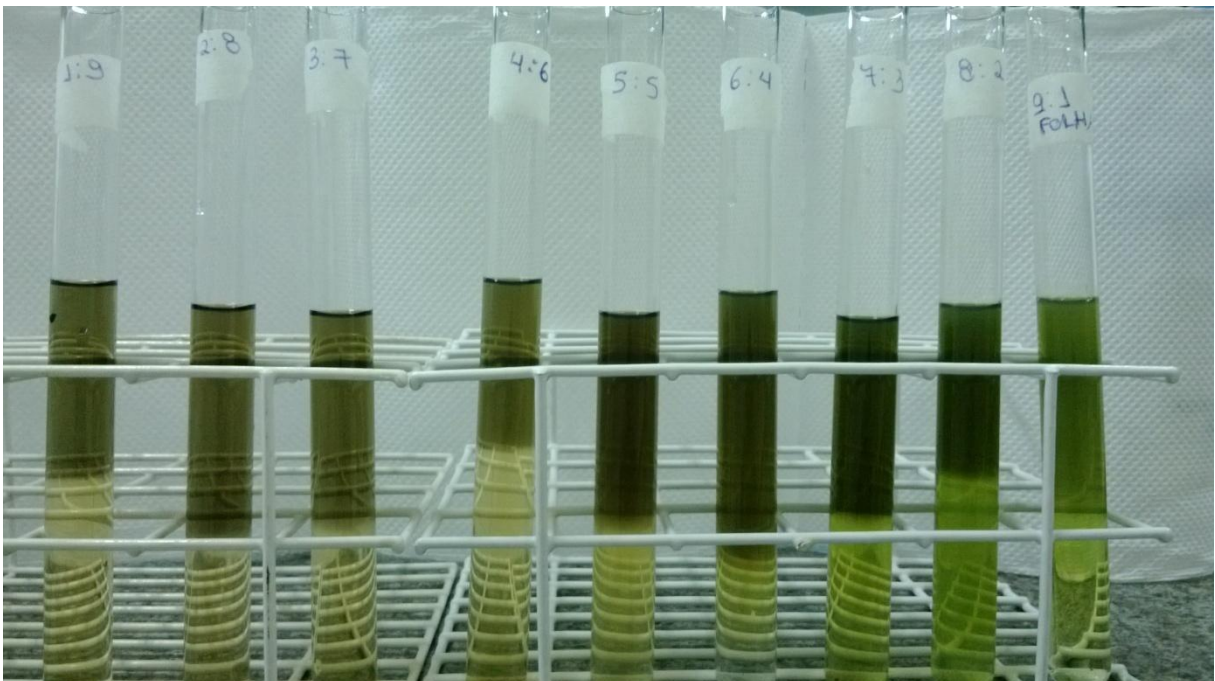


Figura 6. Testes qualitativos realizados com a folha, utilizando como solvente de extração, álcool:água em diferentes proporções, apresentadas respectivamente da esquerda para a direita, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1.

Ao analisar-se os resultados dos testes feitos, pode-se observar que as melhores proporções a serem utilizadas seriam 9:1 (álcool:água) para as flores de *L. alba* e para as folhas optou-se pela utilização de duas proporções diferentes 7:3 e 6:4, pois ambas as proporções demonstraram resultados próximos dos desejados.

Segundo as metodologias seguidas por Matos (1997), para haver taninos hidrolisáveis presentes no meio, ao ser feito testes com cloreto férrico, deve-se obter uma coloração azul, porém como observado na imagem a única coloração presente foi a verde, o que indica presença de taninos condensados. Porém, para se ter certeza de que realmente não havia quantidade suficiente do metabólito (taninos hidrolisáveis), para quantificação, realizamos os testes específicos para taninos hidrolisáveis, sendo que os mesmos apresentaram resultados negativos, dessa forma, realizamos os testes somente para taninos condensados.

Os testes quantitativos, realizados em duplicatas, foram feitos utilizando-se dois métodos, possibilitando a comparação dos resultados obtidos, uma vez que um deles, a reação de Stiasny, ocorre sob refluxo, descrito pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009) e o outro ocorre em temperatura ambiente, permanecendo em repouso por um período de 24 horas, é descrito por Trugilho et al. (2003).

Os dados obtidos, descritos nas tabelas abaixo, foram separados de acordo com os dias de extração, primeiro, segundo e terceiro dias, a fim de comparar os resultados, no sentido de verificar, quantos dias no mínimo, seriam necessários para obtenção da maior quantidade possível (em massa) de tanino, pois segundo Efig (2008 apud MANTOVANI, PORCU, 2009, p.3) ao estudar compostos secundários cita que a baixa quantidade destes compostos pode ocorrer devido à interferência ambiental.

A fim de se obter os valores em massa, de tanino, com a maior exatidão possível, após a secagem a 103° C fez-se uma média entre os valores da massa de três unidades de papéis filtros vazios, pois se sabe que ao ser submetido a temperaturas elevadas o mesmo perde massa, principalmente em razão de perda de umidade. O valor médio obtido foi de 0,121 g.

Tabela 2. Resultados obtidos no primeiro dia de extração.

| | Flor (T)* | Flor (S)* | Folha 7:3 (T) | Folha 7:3 (S) | Folha 6:4 (T) | Folha 6:4 (S) |
|---------|-----------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| IS (%) | 0,119 | 1,050 | 0,499 | 0,038 | 0,433 | 0,414 |
| TST (%) | 36,82 | 36,82 | 37,10 | 37,10 | 40,11 | 40,11 |
| TTC (%) | 0,323 | 2,851 | 1,347 | 0,104 | 1,081 | 1,032 |
| TTF (%) | 1,5 | (-1,0) | 0,7 | 1,9 | 2,3 | 2,4 |

***(T) método baseado em TRUGILHO et al. (2003)- a temp. ambiente, em repouso por 24 horas**

***(S) método descrito por SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (2009) – sob refluxo.**

(IS) índice de Stiasny, (TST) Teor de sólidos totais, (TTC) Teor de taninos presentes em solução, (TTF) Teor de taninos em flor e folha seca.

Depois de efetuados os cálculos descritos na tabela 2 referentes aos resultados observados no primeiro dia, considerando o fator TTF e também efetuando-se uma comparação entre os métodos de Trugilho et al. (2003) (T) e (S) da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009), para as flores, observa-se que o método (T) teve uma maior eficiência com rendimento em torno de 1,5%.

Ao comparar-se os resultados para a folha no sistema de solvente 7:3, observa-se que, sob refluxo (S) o resultado mostrou-se mais significativo, em torno de 1,9% de rendimento. Já para o sistema de solvente 6:4 não houve diferença no teor de taninos condensados sendo eles 2,3% (T) e 2,4% (S) de rendimento.

Ao comparar-se os métodos de Trugilho (T) e Sociedade Brasileira de Farmacognosia (S), para flores e folhas (7:3 e 6:4), observa-se que o maior rendimento no teor de taninos foi obtido com as folhas, no sistema de solvente 6:4 com resultados muito semelhantes ao comparar-se os métodos.

Para o segundo dia, foram feitos os mesmos procedimentos e obtiveram-se os seguintes resultados que estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Resultados obtidos no segundo dia de extração.

| | Flor (T)* | Flor (S)* | Folha 7:3 (T) | Folha 7:3 (S) | Folha 6:4 (T) | Folha 6:4 (S) |
|---------|-----------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| IS (%) | 0,277 | 0,019 | 0,249 | 0,596 | 2,601 | 0,631 |
| TST (%) | 36,82 | 36,82 | 37,10 | 37,10 | 40,11 | 40,11 |
| TTC (%) | 0,753 | 0,054 | 0,674 | 1,606 | 6,480 | 1,572 |
| TTF (%) | 1,0 | 1,7 | 1,4 | 0,5 | (-3,1) | 1,8 |

***(T) método baseado em TRUGILHO et al. (2003), - a temp. ambiente, em repouso por 24 horas**

***(S) método descrito por SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (2009). – sob refluxo.**

(IS) índice de Stiasny, (TST) Teor de sólidos totais, (TTC) Teor de taninos presentes em solução (TTF) Teor de taninos em flor e folha seca.

Após efetuados os cálculos, considerando o fator TTF e também os métodos de Trugilho et al. (2003) (T) e da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009) (S), para as flores observa-se que o método (S) teve uma maior eficiência, apresentando o valor de 1,7% de rendimento, porém não podemos desconsiderar o valor obtido através do método (T) de 1,0% de rendimento, pois ambos apresentam valores significativos

Ao comparar-se os resultados para a folha no sistema de solvente 7:3, constata-se que ao utilizar o método (T), o resultado mostrou-se mais significativo, 1,4% de rendimento. Já para o sistema de solvente 6:4, notou-se que o maior teor de taninos foi obtido pelo método (S), tendo como rendimento 1,8%.

Ao comparar-se os métodos para flores e folhas (7:3 e 6:4), identifica-se que o maior rendimento no teor de taninos foi obtido com as folhas, no sistema de solvente 6:4 e com a utilização do método (S), com rendimento de 1,8%.

Posteriormente para o terceiro dia, efetuaram-se os cálculos descritos na tabela 4, considerando o fator TTF e também utilizando uma comparação entre os métodos de Trugilho et al. (2003) (T) e da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009) (S), para as flores, e ambos os resultados apresentaram valores negativos. Em relação à folha no sistema de solvente 7:3 nota-se que, sob refluxo o resultado mostrou-se significativo, seu resultado foi de 0,8% de rendimento.

Já para o sistema de solvente 6:4 da folha, houve diferença no teor de taninos condensados, sendo o melhor rendimento de 2,1% para o método (S), porém para o método (T) o valor de 0,9% de rendimento não deve ser desconsiderado, pois também é um resultado satisfatório.

Tabela 4. Resultados obtidos no terceiro dia de extração.

| | Flor (T)* | Flor (S)* | Folha 7:3 (T) | Folha 7:3 (S) | Folha 6:4 (T) | Folha 6:4 (S) |
|---------|-----------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| IS (%) | 1,01 | 0,753 | 0,807 | 0,442 | 0,985 | 0,512 |
| TST (%) | 36,82 | 36,82 | 37,10 | 37,10 | 40,11 | 40,11 |
| TTC (%) | 2,74 | 2,044 | 2,176 | 1,192 | 2,456 | 1,277 |
| TTF (%) | (-0,96) | (-0,2) | (-0,1) | 0,8 | 0,9 | 2,1 |

* (T) método baseado em TRUGILHO et al. (2003), - a temp. ambiente, em repouso por 24 horas *(S) método descrito por SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (2009), - sob refluxo. (IS) índice de Stiasny, (TST) Teor de sólidos totais, (TTC) Teor de taninos presentes em solução, (TTF) Teor de taninos em flor e folha seca.

Após a realização de todos os testes pode-se observar que o maior teor de taninos foi obtido com as amostras de folhas secas de *L. alba*, utilizando o solvente hidroalcoólico, na proporção 6:4, por meio do método sob refluxo (S), no primeiro dia de extração, que apresentou teor de 2,4%, sem desconsiderar o rendimento muito próximo (2,3%), obtido das folhas secas, com o mesmo sistema de solventes, também no primeiro dia de extração, mas utilizando o método à temperatura ambiente, e repouso por 24 horas (T).

Para os resultados negativos obtidos nas tabelas 2, 3 e 4, atribui-se a possíveis erros no momento da pesagem do papel filtro, após a secagem em estufa. Este erro pode ser visualizado/detectado na observação da sequência dos cálculos realizados.

Ao efetuar uma comparação de rendimento de taninos na planta *L. alba*, através de estudos realizados com diferente metodologia de extração e quantificação por Pansera *et al.* (2003), o mesmo demonstrou que o estudado em diferentes condições obteve também um resultado significativo, verificando-se que o teor de taninos totais na planta em % equivalente ao ácido tânico, foi de 18,9% no total da planta estudada por ele, porém deve-se ressaltar que para esta quantificação foram utilizados métodos totalmente distintos.

O intuito desta comparação deve-se ao fato de podermos analisar a viabilidade econômica, pois para este trabalho utilizou-se solventes de fácil acesso e de menor prejuízo ao meio ambiente, se comparado com o método utilizado por Pansera *et al.* (2003), onde é utilizado como solvente o metanol, que é altamente tóxico e financeiramente não tão viável.

CONCLUSÃO OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tanino é um composto amplamente utilizado e com fácil acesso no meio ambiente.

Através dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se observar que a mistura hidroalcoólica, utilizada em diferentes proporções entre água e álcool, proporcionou resultados significativos e satisfatórios na extração de taninos condensados da planta *L. alba*. De modo geral, observou-se que o melhor rendimento em teor de taninos condensados, foi com o sistema de solvente 6:4 da folha para o primeiro dia de extração, tanto com o método de Trugilho et al. (2003) (T) com rendimento de 2,3%, quanto com o método da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009) (S) com rendimento de 2,4%.

Conclui-se que o método utilizado para a realização deste trabalho, pode ser utilizado para estudos futuros, não somente pelo rendimento obtido em teor de taninos, como também considerando-se a viabilidade econômica.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, Elba L. C. et al. TANINOS: Uma abordagem da Química a Ecologia. **Rev. Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.
- BATTESTIN, Vania; MATSUDA, Luis K.; MACEDO, Gabriela A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Rev. Alim. Nutr**, Araraquara, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2004.
- BEELEN. Patricia M.G., PEREIRA. José M.F, BEELEN. Roger N. AVALIAÇÃO DE TANINOS CONDENSADOS EM PLANTAS FORRAGEIRAS. In: **Congresso Brasileiro de Zootecnia**, 2008, João Pessoa.
- BERNARDES, Natália R. et al. Quantificação dos teores de taninos e fenóis totais e avaliação da atividade antioxidante dos frutos de aroeira. **Rev. Vértices**, Campos dos Goytacazes, v. 13, n. 3, p. 117-128, 2011.
- CAMÉLO, L. C. A. et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de ervacudreira-brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.]. **Rev. Scientia Plena**, v. 7, n. 5, 2011.
- CASTEJON, Fernanda V. **TANINOS E SAPONINAS**. Disponível em <http://portais.ufg.br/uploads/67/original_semi2011_fernanda_castejon_1c.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2014.
- CENTRO DE INTELIGÊNCIA EM FLORESTAS Disponível em: <http://www.ciflorestas.com.br/texto.php?p=nao_madeireiros>. Acesso em: 04 jan. 2014.
- COSTA-LOTUFO, L. V. et al. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Rev. Virtual Química**, v. 2 , n. 1, ago. 2010.
- COSTA, Paulo R. R.; Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: Candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. **Rev. Virtual Química**, v. 1 , n. 1, fev. 2009.
- DIAS, Raquel A. L.; SOUZA, Priscila S.; ALSINA, Odelsia L. S.Efeito da temperatura de secagem sobre o rendimento na extração de taninos totais e óleos essenciais de hortelã (*Mentha x vilosa* Hudson). **Rev. Brasileira de Farmácia (RBF)**, 2012.
- GARCÉS, María I. P. et al. Morfología, anatomía, ontogenia y composición química de metabolitos secundarios en inflorescencias de *Lippia alba* (Verbenaceae). **Rev. Biol. Trop.** v. 58 , n. 4, p. 1533-1548, dez. 2010.
- GEISSMAN, Theodore et al. **Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism**. U.S.A: Freeman, Cooper & Company, 1969.
- KOROLKOVAS, Andrejus; BURCKHALTER, Joseph Harold. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.
- MANTOVANI, Daniel; PORCU, Ornella M. Avaliação fitoquímica do extrato de *Lippia Alba* para utilização como antioxidante natural em alimentos. **Revista Tecnológica**, v. 18, p. 69-74, 2009.
- MATOS, F.J. Abreu: **Introdução a fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza, CE: Editora UFC, 1997.
- PAES, Juarez B. et al. Taninos condensados da casca de angico-vermelho (*anadenanthera colubrina* var. *cebil*) extraídos com soluções de hidróxido e sulfito de sódio. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 3, p. 22-27, jul/set. 2013.

PANSERA, M.R, et al. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira e Farmacognosia**. v. 13, n. 1, p. 17-22, jan/jun. 2003.

PLANETA SUSTENTÁVEL Disponível em:

<<http://planetasustentavel.abril.com.br/blog/biodiversa/files/2013/08/Lippia-alba.jpg>> Acesso em: 22 de jul. 2014

SILVA, José M.; BELTRÃO, Fabiana A. S.; BÉELEN, Patrícia G. Caracterização dos taninos condensados da maniçoba e de duas espécies afins. **In: IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste da Educação Tecnológica**, 2009, Belém.

SIMÕES, Oliveira et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Editora UFRGS, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. Disponível em:

<www.sbfgnosia.org.br/Ensino/taninos.html>. Acesso em: 11 nov. 2013.

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

YOSHIHARA, Eidi. Uso de fontes de taninos condensados no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Apta Regional**, Pesquisa e Tecnologia, v. 8, n. 2, jul./dez. 2011.