

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO – PARANÁ

ANDERSON COUTINHO

**EXTRAÇÃO DE TANINO EM FOLHAS, SEMENTES E FRUTOS
VERDES DE CINAMOMO (*Melia azedarach* L.) COM DIFERENTES
TIPOS DE SOLVENTES**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO
2013

ANDERSON COUTINHO

**EXTRAÇÃO DE TANINO EM FOLHAS, SEMENTES E FRUTOS
VERDES DE CINAMOMO (*Melia azedarach* L.) COM DIFERENTES
TIPOS DE SOLVENTES**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Campo Mourão, como requisito para a obtenção do título de Tecnólogo de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Cavalcanti Vitório

CAMPO MOURÃO

2013



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos
Engenharia de Alimentos




TERMO DE APROVAÇÃO

EXTRAÇÃO DE TANINO EM FOLHAS, SEMENTES E FRUTOS VERDES DE
CINAMOMO (*Melia azedarach*) L. COM DIFERENTES TIPOS DE
SOLVENTES

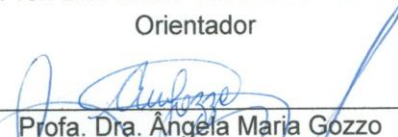
por

ANDERSON COUTINHO

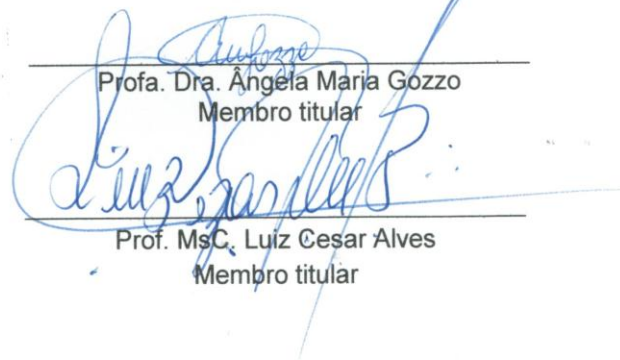
Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em
25 de abril de 2013 como requisito
parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Tecnologia em Alimentos.
O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores
abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o
trabalho aprovado.



Prof. Dr. Alberto Cavalcanti Vitório
Orientador



Profa. Dra. Ângela Maria Gozzo
Membro titular



Prof. MsC. Luiz Cesar Alves
Membro titular

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dado força, sabedoria e discernimento para poder concluir meu trabalho de conclusão de curso. Quando não conseguia realizar minhas atividades, Ele me colocava pessoas especiais para que eu concluísse esse projeto: Prof. Dr. Alberto Cavalcanti Vitorio; Prof^a Dra. Ângela Maria Gozzo, Jorge Leonardo Sanchez, os técnicos do laboratório (Luana, Marcos e Angela) entre outros, que de uma forma ou de outra, me deram dicas e conselhos, como o professor Heron dos Santos Lima e professor Luiz Cesar Alves.

Desta forma, um trabalho bem feito deve ser realizado por muitos. Só assim ele será aproveitado e ter algo a ser compartilhado.

Obrigado pela compreensão quando estive ausente, mas sei que tudo valeu a pena, todo o esforço foi necessário para sua conclusão e peço a Deus que continue a me guiar, pois muito trabalho ainda deve ser feito. Para concretizar isso, deve-se fazer sempre o melhor, pois a cada dia, queremos aprender ainda mais.

RESUMO

COUTINHO, Anderson. Extração de tanino em folhas, sementes e frutos verdes de cinamomo (*Melia azedarach* L.) com diferentes tipos de solventes. 2013. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso – Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2013.

O cinamomo (*Melia azedarach* L.), também conhecido como santa-bárbara e lilás-de-soldado, é uma árvore da família das Meliáceas e nativa do sul da Ásia, possui diversos compostos químicos importantes e se adapta em diferentes solos e climas. Suas flores são pequenas e têm cor lilás e os frutos são redondos, carnosos e de cor amarelo-escuro. Os taninos são considerados como metabólitos secundários e são compostos fenólicos de grande interesse econômico e ecológico. Possui a habilidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, gelatinas e alcalóides. São responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais, devido à precipitação de glucoproteínas salivares. O objetivo desse trabalho foi analisar taninos totais em cinamomo (*Melia azedarach*) por extração por solventes, utilizando como amostras, folhas, sementes e frutos verdes. Os solventes usados para a extração foram: clorofórmio, metanol e etanol comercial. Para a extração foi utilizada aproximadamente 5 gramas de cada amostra (em triplicata) e 50 mL de cada solvente. Para a separação do solvente do extrato utilizou-se um evaporador rotativo e estufa de circulação de ar forçada, a fim de calcular o seu rendimento. O extrato foi diluído em 500 mL de água destilada. Para as leituras de taninos foi necessário o uso de espectrofotômetro UV/VIS 600. Após as leituras, constatou-se que as folhas de cinamomo obtiveram os melhores resultados, tanto no rendimento quanto na quantidade de tanino presente na amostra, nos três solventes utilizados. O solvente que obteve os melhores resultados foi o metanol, com pouca diferença do etanol, com resultados inferiores para o clorofórmio.

Palavras-Chaves: *Melia azedarach*, folhas, sementes, frutos, extração de taninos.

ABSTRACT

COUTINHO, Anderson. Extraction of tannin in the leaves, seeds and unripe fruits of chinaberry (*Melia azedarach*) L. with different solvents. 2013. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso – Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2013.

The chinaberry (*Melia azedarach*), also known as barbaric and lilac-holy-of-soldier, is a tree of the Meliaceae family and native to southern Asia. Reaches up to 40 m tall. Its flowers are small and have a lilac color and the fruits are round, fleshy and dark yellow color. The tannins are considered as secondary metabolites and phenolic compounds are of great economic and ecological interest. Has the ability to form complexes with water-insoluble proteins, gelatins and alkaloids. Are responsible for the astringency of many fruit and vegetables due to the precipitation of salivary glycoproteins. The aim of this study was to analyze total tannins in chinaberry (*Melia azedarach*) by solvent extraction using as samples, leaves, seeds, dried fruits and greens. Solvents used for extraction was: chloroform, methanol and ethanol trade. Was used to extract approximately 5 grams of each sample (in triplicate) and 50 mL of each solvent. The separation of the solvent of the extract was used in greenhouse rotary evaporator and forced circulation of air, to calculate the efficiency. The extract was diluted in 500 mL of distilled water. For the determination of tannins was necessary to use a spectrophotometer UV / VIS 600. After the measurements, it was found that cinnamon leaves obtained the best results, both the yield and the amount of tannin present in the sample, the three solvents used. The solvent which obtained the best results was methanol, with little difference of ethanol with inferior results for chloroform.

Keywords: *Melia azedarach*, leaves, seeds, fruit, tannins extraction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - ÁRVORE DE CINAMOMO (MELIA AZEDARACH L.) CONHECIDA TAMBÉM COMO SANTA-BARBARA.....	12
FIGURA 2 - FLORES DE CINAMOMO E SUA COR CARACTERÍSTICA.....	13
FIGURA 3 - FRUTOS CARNOSOS E AMARELADOS DE CINAMOMO.....	13
FIGURA 4 - REPRESENTAÇÃO DA PARTE INTERNA DA ÁRVORE DE CINAMOMO E SUA COR CARACTERÍSTICA.....	14
FIGURA 5 - CURVA DE CALIBRAÇÃO DE TANINOS TOTAIS-CONCENTRAÇÃO TOTAL DE ÁCIDO TÂNICO EM MG/L VERSUS ABSORBÂNCIA (ABS); ERRO DO AJUSTE: 0,9975.....	27
FIGURA 6 - RENDIMENTO DE TANINOS APÓS PROCESSO DE EVAPORAÇÃO ROTATÓRIA DO SOLVENTE.....	30
FIGURA 7 - ABSORBÂNCIA DAS AMOSTRAS APÓS LEITURA EM ESPECTROFOTÔMETRO EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 725 nm.....	31
FOTO 1 - FOLHAS DE CINAMOMO (<i>Melia azedarach</i> L.).....	22
FOTO 2 - FRUTOS VERDES DE CINAMOMO.....	23
FOTO 3 - EVAPORADOR ROTATIVO UTILIZADO PARA A EXTRAÇÃO DE TANINOS DAS AMOSTRAS.....	24
FOTO 4 - AMOSTRA DE EXTRATO DE TANINO SECO DE FOLHA DE CINAMOMO COM SOLVENTE ETANOL.....	25
FOTO 5 - AMOSTRAS DE EXTRATO SECO DE FOLHAS DE CINAMOMO COM SOLVENTE CLOROFÓRMIO.....	25

LISTA DE TABELA

TABELA 1 - RENDIMENTO DAS AMOSTRAS DE FOLHAS DE <i>Melia azedarach</i> NOS TRÊS SOLVENTES UTILIZADOS: CLOROFÓRMIO, METANOL E ETANOL COMERCIAL.....	28
TABELA 2 - RENDIMENTO DAS AMOSTRAS DE FRUTOS VERDES DE MELIA AZEDARACH NOS TRÊS SOLVENTES UTILIZADOS: CLOROFÓRMIO, METANOL CONCENTRADO E ETANOL COMERCIAL.....	28
TABELA 3 - RENDIMENTO DAS AMOSTRAS DE SEMENTES DE <i>MELIA AZEDARACH</i> NOS TRÊS SOLVENTES UTILIZADOS: CLOROFÓRMIO, METANOL CONCENTRADO E ETANOL COMERCIAL.....	29
TABELA 4 - TESTE TUKEY DE COMPARAÇÃO ENTRE SOLVENTES E DIFERENTES PARTES DO CINAMOMO.....	30
TABELA 5 - QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS DE AMOSTRAS DE SEMENTES, FRUTOS VERDES E FOLHAS DE <i>MELIA AZEDARACH</i> , EXTRAÍDOS POR MEIO DOS SOLVENTES: CLOROFÓRMIO, METANOL E ETANOL.....	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	09
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	11
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1 CINAMOMO (<i>Melia azedarach</i> L.).....	12
3.2 PRODUTOS NATURAIS.....	15
3.2.1 Biossíntese dos produtos naturais.....	17
3.2.2 Taninos.....	17
3.2.2.1 Características químicas de taninos.....	18
3.2.2.2 Determinação do teor de taninos.....	19
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	22
4.2 EXTRAÇÃO DE TANINO DE CINAMOMO.....	23
4.3 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO.....	24
4.4 ELABORAÇÃO DA CURVA PADRÃO COM ÁCIDO TÂNICO.....	25
4.5 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS.....	26
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE TANINOS TOTAIS.....	27
6 CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

O cinamomo (*Melia azedarach*) L., também conhecido como santa-bárbara e lilás-de-soldado, é uma árvore da família das meliáceas e nativa do sul da Ásia (LOVATTO et al, 2012), alcança até 40 m de altura. Suas flores são pequenas e têm cor lilás e os frutos são redondos, carnosos e de cor amarelo-escuro. Pelo efeito ornamental, rusticidade e grande capacidade de produção de lenha, foi introduzida em vários países, onde a espécie se "asselvajou", ou seja, já é confundida com a vegetação nativa, tão boa foi a sua adaptação.

A frutificação é intensa e as sementes germinam facilmente, o que faz o cinamomo ser considerado uma praga em muitos lugares. Não há o que fazer para controlá-lo a não ser cortar as mudas indesejáveis.

Diversos trabalhos científicos têm demonstrado os efeitos dos extratos de cinamomo na agricultura e também na pecuária (SALLES, 1999; BRUNHEROTTO e VENDRAMIM, 2001; ARAÚJO, et al, 2009; PROPHIRO, 2008; GUIRADO, et al, 2009). A principal utilidade do cinamomo é sua madeira, moderadamente densa (0,52 a 0,66 g/m³, a árvore rebrota após o desbaste, embora geralmente seja feito o replantio após o corte. Além de sua ação inseticida, repelente, anti-helmínticas e carrapaticidas (DANTAS, 2000; VIVAN, 2005; FALBO, et al., 2008), devido a alguns compostos em sua composição (DANTAS et al, 2000), o cinamomo possui outras substâncias, dentre elas, o tanino.

Os frutos de *M. azedarach* são conhecidos por conterem o alcalóide azaridina, taninos e ácidos benzóicos. Dentro deste contexto, MADIBELA e KELEMOGILE (2008) apud ARAÚJO et al, (2009), verificaram que algum destes componentes, em associação ou não, podem ser responsáveis pelos efeitos verificados na produção de oocistos em caprinos infectados naturalmente com espécies de *Eimeria*.

No caso da pecuária, estudos tentam comprovar a presença de substâncias biocidas e carrapaticidas na planta. Segundo Koller et al. 2012, muitos parasitos bovinos tem prejudicado a pecuária nacional e certas substâncias químicas tem provocado resíduos nas carnes e no leite. Uma alternativa para diminuir esses resíduos é a utilização de extratos de cinamomo. Porém, muitos estudos ainda

devem ser realizados para descobrir qual substância é a responsável pela ação biocida e carrapaticida (GOMES et al. 2013).

Já a Fiocruz (Fundação Oswaldo Cruz), analisa a substância azadiractina, encontrada nas sementes do cinamomo, esta pode ser utilizada para repelir o vetor da Leishmaniose visceral no Brasil, o inseto *Lutzomyia longipalpis*. No entanto, esses estudos ainda não foram aplicados em campo e folhas da mesma planta estão sendo testadas como bioinseticida alternativo (MARQUES, 2013).

Seu estudo vem se desenvolvendo gradativamente e, a cada momento, mostra suas utilizações e complexidade,

Para uma mesma espécie vegetal, a quantificação de taninos pode variar consideravelmente, devido à questão de sazonalidade, local de origem da planta e parte da planta: sementes, folhas, casca e frutos (MONTEIRO et al., 2005).

Desta forma, este trabalho visa identificar o teor de tanino em folhas, sementes e frutos, como também, avaliar o rendimento de tanino extraído em cada parte (folhas, sementes e frutos) do cinamomo.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar taninos totais em cinamomo (*Melia azedarach*) por extração por solventes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar o teor de tanino em folhas, sementes e frutos de cinamomo.
- Avaliar o rendimento de extração das várias partes da planta do estudo;
- Identificar o melhor solvente para a extração de tanino para utiliza-lo em estudos futuros.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cinamomo (*Melia azedarach*)

O cinamomo (*Melia azedarach*, L.) é uma árvore da família das meliáceas (Figura 1), nativa do sul da Ásia (LOVATTO et al, 2012). Alcançam até 40 metros de altura. As flores são pequenas e têm cor lilás (Figura 2) e os frutos são redondos, carnosos e de cor amarelo-escuro (Figura 3). No Brasil também é conhecida como santa-bárbara, lírio da china, lírio do japon, lilás do japon entre outros (MARTINEZ, 2002).. Sua frutificação é intensa e é considerada de fácil germinação. Além da sua ação inseticida, repelente e carrapaticida, devido a alguns compostos em sua composição, como a azadiractina, (DANTAS et al, 2000), o cinamomo possui outras substâncias que serão estudadas, importantes para o tratamento de água de efluentes em indústria.



**Figura 1: Árvore cinamomo (*Melia azedarach*) também conhecida como santa-bárbara.
Fonte: GRANJA SÃO SEBASTIÃO, 2012.**



**Figura 2: Flores de cinamomo e sua cor característica.
Fonte: VERDE NOVO, 2013.**



**Figura 3: Frutos carnosos e amarelados de cinamomo.
Fonte: Granada, 2013.**

Árvore de hábito decíduo de curta duração, com altura de 6-15 m e tronco de 30-60 cm de diâmetro. Quando jovem, a árvore apresenta uma casca lisa externamente e, quando velha, fissurada, apresentando, às vezes abundantes lenticelas grandes. A casca é de cor cinza parda e sabor amargo. Internamente é de

cor amarelada à marfim (Figura 4), textura fibrosa e estrutura laminar (SCHNEIDER, 1987).



Figura 4: Representação da parte interna da árvore de cinamomo e sua cor característica. Fonte: Objetos educacionais, 2006.

É uma planta que apresenta boa adaptação às condições climáticas de toda a Região Sul, podendo ser encontrada tanto na área litorânea como nas regiões com maiores altitudes. Prefere solos férteis, profundos e bem drenados. Por possuir facilidade de adaptação e expansão vegetativa, é bastante cultivada como árvore de sombra e ornamental presente em milhares de residências da Região Sul (TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

Possui copa semiarredondada, densa. Folhas até 90 cm, alternas, bipinuladas, com numerosos folíolos.

Os frutos tipo drupa, semiarredondados, pericarpo liso e ligeiramente transparente, de cor amarelada quando está maduro, cerca de 15 mm de diâmetro, amarelos, lisos, mas tornando-se rugosos. Floresce na primavera durante os meses de setembro, outubro e novembro. Frutos maduros no outono e inverno, quando as árvores estão desfolhadas. Os frutos, de sabor amargo e propriedades venenosas e narcóticas, podem matar suínos, mas bovinos e aves não parecem ser suscetíveis. As sementes são dispersas por aves e morcegos, o que impossibilita o seu controle (TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

O cinamomo apresenta uma madeira considerada nobre, já sendo utilizada na fabricação de móveis de luxo, esquadria e laminação. As árvores pequenas e galhos possuem um bom valor calorífico e são aproveitados como lenha ou produção de carvão (SOUZA CRUZ, 1987; TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

Em relação à constituição química, a madeira de cinamomo apresenta 46% de celulose e 22,4% de lignina (SANJUAN et al., 1994). Estes mesmos autores em micro análise de íons determinaram que a espécie apresenta cerca de 81,6% de oxigênio, 4,8% de alumínio, 2,8% de silício, 0,07% de enxofre, 3,3% de potássio e 7,3% de cálcio.

São de conhecimento e uso popular as propriedades inseticidas do cinamomo. Entre os usuários existem indicações do preparo e modo de utilização de extratos dos frutos contra pulgões, gafanhotos e cochonilhas. Outras formas de utilização são indicadas, como por exemplo, espalhar ramos e folhas verdes da planta pelo chão do galpão e arredores para o controle de pulgas, ou pendurar na parede para o controle de moscas (DICAGROECOLÓGICA, 2001). Trabalhos científicos têm demonstrado os efeitos dos extratos de cinamomo no controle de insetos e pragas na agricultura (SALLES, 1999; BRUNHEROTTO e VENDRAMIM, 2001; ARAÚJO et. al, 2009) e a insetos vetores e transmissores de doenças (PROPHIRO, 2008; GUIRADO, et. al, 2009; TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

3.2 Produtos naturais

Desde o quarto século a.C. existem relatos de normas para a coleta de plantas medicinais. Os carrascos gregos, por exemplo, coletavam suas amostras do veneno cicuta (*Conium maculatum*) pela manhã, quando os níveis de coníina são maiores (GOBBO-NETO e LOPES, 2007). No Brasil os primeiros médicos portugueses, diante da escassez de remédios vindos da Europa, foram obrigados a perceber a importância dos remédios indígenas. A vinda da corte real para o Brasil em 1808 e o Decreto de D. João VI abrindo os portos brasileiros às nações amigas pode ser considerado um dos primeiros marcos históricos da ciência brasileira, porque foi a partir deste decreto que começaram a chegar ao país as primeiras expedições, científicas cujo objetivo principal era dar conhecimento aos europeus da

exuberância da nossa fauna e de nossa flora (PINTO et al., 2002; TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

A natureza, de forma geral, tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. O reino vegetal é o que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado devido às suas aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos e agroquímicos (PINTO et al., 2002; ARAÚJO, 2009; TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

As plantas possuem suas próprias defesas que as protegem de outras plantas, insetos fitófagos e herbívoros predadores de uma maneira geral. Estas defesas são de natureza química e, normalmente, envolvem substâncias do metabolismo secundário, as quais podem ser chamadas de fitotoxinas ou aleloquímicos. Esse fenômeno é conhecido como alelopatia. Os metabólitos secundários são produzidos e estocados nas folhas, caules, raízes, flores e sementes. Muitos deles têm papéis vitais como mediadores em interações ecológicas com a função na sobrevivência de organismos particulares, aumentando a competitividade destes em ambiente hostil (MALHEIROS e PERES, 2001; PINTO et al, 2002; TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

Variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas dos metabólitos secundários em plantas ocorrem em diferentes níveis (sazonais e diárias; intraplanta, inter e intraespecífica) e, apesar da existência de um controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos. Representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais.

Os principais fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção de metabólitos secundários são: sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos. Por exemplo, uma espécie de Asteraceae, *Chrysonthamus nauseosus*, rica em terpenos possui a maior concentração destes, 80 $\mu\text{g g}^{-1}$, em peso seco, no verão quando sofre ataque de insetos herbívoros. No inverno tais níveis caem para 18 $\mu\text{g/g}$ quando a planta tem suas folhas devoradas por outros animais. (VIEGAS JÚNIOR, 2003; GOBBO-NETO; LOPES, 2007;

TOMAZELLI JÚNIOR, 2009). Brunherotto e Vendramim (2001) verificaram que apesar da variação do efeito dos extratos de folhas, ramos e frutos de *M. azedarach* sobre *T. absoluta*, todos afetaram negativamente o desenvolvimento do inseto, sugerindo que os ingredientes ativos estão presentes nas diversas estruturas da planta, embora em concentrações variáveis.

3.2.1 Biossíntese dos produtos naturais

Os produtos naturais são divididos em dois grupos: metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são produtos do metabolismo geral, amplamente distribuídos em plantas e microorganismos. Podem-se citar aminoácidos, proteínas, monossacarídeos, nucleotídeos, ácidos carboxílicos do ciclo do ácido cítrico, lipídios, glicerídeos, outros. Os metabólitos secundários são produtos do metabolismo especial, biossintetizados a partir do metabolismo primário, com distribuição restrita em certas plantas e microrganismos. Grande parte dos princípios ativos responsáveis pela atividade de uma planta encontra-se entre os metabólitos secundários, ou produtos naturais que englobam as seguintes classes de compostos: terpenos, alcalóides glicosídios, flavonóides, cumarinas, esteróis, (SIMÕES et al., 2000; TOMAZELLI JÚNIOR, 2009).

3.2.2 Taninos

Como metabólitos secundários, os taninos são compostos fenólicos de grande interesse econômico e ecológico. Apresentam solubilidade em água e peso molecular compreendido entre 500 e 3000 Dalton, possuindo a habilidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, gelatinas e alcalóides (MELLO e SANTOS, 2001). Tais compostos são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais, devido à precipitação de glucoproteínas salivares, o que ocasiona a perda do poder lubrificante (BRUNETON, 1991).

3.2.2.1 Características químicas de taninos

A palavra *tanino* é largamente usada, particularmente em literatura botânica, originalmente derivada do termo “tanante”, implicando que o material vegetal produza couro a partir de peles (HASLAM, 1965; HASLAM, 1988).

A maioria dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob forma de ésteres ou de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares (MELLO e SANTOS, 2001).

Por serem fenólicos, os taninos são muito reativos quimicamente, formam pontes de hidrogênio, intra e intermoleculares. Um mol de taninos pode ligar-se a doze moles de proteínas; fundamentando-se nessa propriedade pode-se identificar taninos por teste de precipitação de gelatinas (MELLO e SANTOS, 2001; CHUNG et al, 1998; BIANCO e SAVOLAINEN, 1997; VICKERY e VICKERY, 1981). Estes compostos são facilmente oxidáveis, tanto através de enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais, como cloreto férrico, o que ocasiona o escurecimento de suas soluções (MELLO e SANTOS, 2001).

Classicamente, segundo a estrutura química, os taninos são classificados em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis consistem de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos (VICKERY e VICKERY, 1981). Os taninos elágicos são muito mais frequentes que os gálicos, e é provável que o sistema bifenílico do ácido hexaidroxidifenílico seja resultante da ligação oxidativa entre dois ácidos gálicos (BRUNETON, 1991).

Largamente encontrados no reino vegetal, os taninos condensados ou proantocianidinas são polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, produtos do metabolismo do fenilpropanol (HELDT, 1997; BRANDES e FREITAS, 1992; HEIL et al, 2002). As proantocianidinas, assim denominadas provavelmente pelo fato de apresentarem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, como cianidina e delfinidina (MELLO e SANTOS, 2001), apresentam uma rica diversidade estrutural, resultante de padrões de substituições entre unidades flavânicas, diversidade de posições entre suas ligações e a estereoquímica de seus compostos.

Mello e Santos (2001), ressaltaram ainda que a ocorrência destes compostos é comum em angiospermas e gimnospermas, principalmente em plantas lenhosas.

Com a intenção de localizar a origem intracelular da síntese de taninos hidrolisáveis foram desenvolvidos, através de técnicas imunocitoquímicas, dois anticorpos que reconhecem como antígenos os compostos pentagalactoglucose e a enzima galactiltransferase, catalisadora de taninos hidrolisáveis (GRUNDHÖFER e GROSS, 2001; GRUNDHÖFER et al, 2001). Esta técnica foi empregada por apresentar uma alta especificidade e um grande poder de precisão, uma vez que os reagentes usualmente utilizados (como ex., Fe²⁺, Fe³⁺ ou molibdato) não apresentam distinção entre outros compostos fenólicos vegetais. Contrastando com a literatura vigente que prega a existência de “vacúolos tânicos”, não foram encontrados tais compartimentos e sim regiões nos cloroplastos, nos amiloplastos, na parede celular e em espaços intercelulares que apresentaram locais de formação e deposição de taninos hidrolisáveis nas folhas de *Quercus robur* L. e *Tellima grandiflora* (Pursh.) Dough.

Considerando a proporção da ocorrência de taninos em famílias das Angiospermas arranjadas de acordo ao sistema de classificação de Cronquist, somente 4% de 228 espécies testadas por Mole (1993), foram positivas para taninos. Nas ordens Polygonales e Plumbaginales apenas uma única família de cada apresentou taninos, e em famílias de Caryophyllales tais compostos estavam ausentes. Nas Moraceae, os taninos estão presentes em quantidade insuficiente para precipitar proteínas. Mole resalta ainda que, em comparação com as dicotiledôneas, as monocotiledôneas apresentam menos informações sobre taninos. Diante deste fato, é precipitada qualquer afirmação de que a perda destes compostos permanece como regra em decorrência do avanço evolutivo, como sugerem Santos e Blatt (1998).

3.2.2.2 Determinação do teor de taninos

Os taninos vegetais têm sido quantificados por diversos tipos de ensaios, como precipitação de metais ou proteínas e por métodos colorimétricos, sendo esses últimos mais comuns. Os métodos mais apropriados para determinação de taninos são os ensaios com precipitação de proteínas (HAGERMAN et al, 1997).

Alguns ensaios colorimétricos são usados para quantificar grupos de taninos específicos, muito embora estes métodos sejam amplamente usados para analisar taninos de uma maneira geral, como no caso de taninos hidrolisáveis; eles detectam somente grupos galoi e hexaidroxidifenóis (HHDP). Apesar destas críticas, alguns autores afirmam que não há método ideal e reforçam que os métodos colorimétricos são os mais utilizados para a análise de taninos (MONDAL et al 2001; MUELLER-HARVEY, 2001).

Entre os métodos colorimétricos, o método de Folin-Denis é bem reconhecido e largamente usado, mas não faz distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido ascórbico, formando precipitados que interferem na leitura espectrofotométrica (SCHOFIELD, 2001). O método Folin-Denis foi aperfeiçoado e modificado para o Folin-Ciocalteau (FOLIN e CIOCALTEAU (1927) apud MONTEIRO et al, 2005). Estudos realizados para a avaliação de métodos quantitativos nas folhas de coníferas, usando Azul da Prússia e Folin-Ciocalteau, revelaram que esse último apresenta maior sensibilidade, para os polifenóis, usando como solvente acetona 50%. Os autores mostraram, ainda, que o método Azul da Prússia apresentou elevada dependência do tempo de reação, comparado ao Folin-Ciocalteau (DAHLGREN e YU, 2000).

Para quantificar taninos condensados os métodos mais utilizados são o butanol-HCl e o vanilina (SCHOFIELD, 2001; MORAIS et al 1999; AGOSTINI-COSTA, 2003). De acordo com Schofield e colaboradores (2001), o método vanilina depende da reação da vanilina com os taninos condensados para formação de complexos coloridos. O sucesso deste ensaio depende do tipo do solvente usado, da concentração e natureza do ácido, do tempo da reação, temperatura e concentração da vanilina. O maior problema para o método vanilina parece ser a reatividade de subunidades de polímeros de taninos, o que caracteriza a falta de especificidade, para taninos condensados. A raiz das dificuldades analíticas está na complexidade e variabilidade das estruturas dos taninos condensados.

Em ensaios colorimétricos, o método mais apropriado para a reação com galotaninos e elagitaninos é o método KIO_3 , sendo o método Rodanina específico para ésteres de ácido gálico (MUELLER-HARVEY, 2001; WILSON e HAGERMAN, 1997). Em espécies de *Acer*, a reação do reagente- KIO_3 produz com gal e elagitaninos um complexo de coloração rosa. Mueller-Harvey (2001), acrescentou

que para misturas complexas de taninos este ensaio não é viável por formar uma reação marrom antes da rosa e ser extremamente dependente da temperatura e duração da reação. Willis e Allen (1998) introduziram modificações no método KIO_3 , recomendaram a investigação de um tempo ótimo de reação (dependendo de cada espécie estudada) e que não é necessário o resfriamento das amostras para o teste, como se acreditava. Dentre os principais métodos para quantificação e determinação de taninos totais, condensados, hidrolisáveis e compostos fenólicos em geral, está o Folin-Ciocalteu, Azul da Prússia, Ácido-butanol, Vanilina e KIO_3 . Todos esses métodos citados possuem tipo de ensaio químico e colorimétrico.

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

4. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão – PR, no período de junho de 2011 a fevereiro de 2012.

4.1 Obtenção do material vegetal

O cinamomo (*Melia azedarach*) foi adquirido na propriedade rural do senhor Hélio Romanouck, especializada em cultivo de produtos orgânicos, no Município de Campo Mourão, localizada na Mesorregião Centro-Ocidental do Paraná sob as coordenadas 24°02'38" de Latitude Sul e 52°22'40" de Longitude Oeste. O clima do Município de Campo Mourão é classificado como Cfa (Clima subtropical úmido mesotérmico), com verões quentes e geadas pouco frequentes, com tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida (IAPAR, 2011).

As amostras de sementes foram colhidas no mês de julho, época de temperaturas mais baixas. Já os frutos verdes e folhas de cinamomo, foram colhidos em dezembro de 2011, a temperaturas mais altas. As fotos 1 e 2 representam as amostras colhidas para a extração.

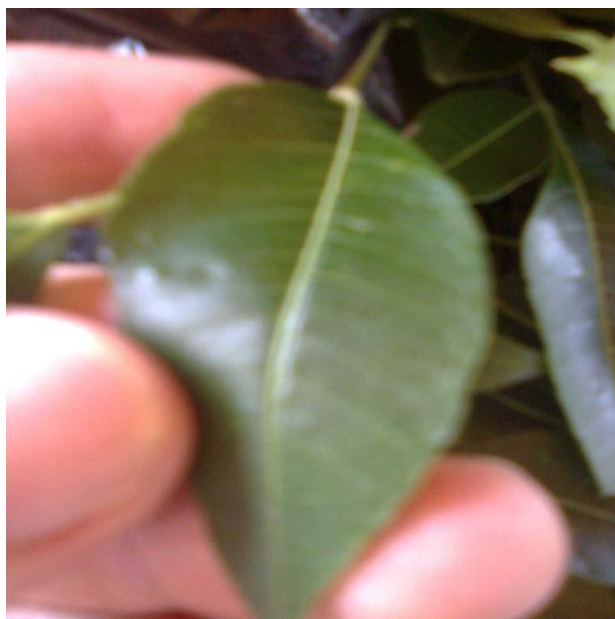


Foto 1: Folhas de cinamomo (*Melia azedarach*)



Foto 2: Frutos verdes de cinamomo.

4.2 Extração de tanino de cinamomo

Para a extração do tanino, foram coletadas folhas, sementes e frutos verdes de cinamomo com oito anos de idade. Para isto foi realizado a metodologia descrita por Cechinel Filho e Yunes (1998) apud Pansera et al, (2003), com algumas adaptações: considerou-se a idade da planta, pois quanto mais velha for a planta, maior a quantidade de taninos presente, e estudou-se diferentes partes do cinamomo para a extração, buscando o melhor rendimento.

As amostras foram secas por meio de estufa de circulação de ar forçada, num período de 16 horas a 60°C;

A moagem das folhas, sementes e frutos verdes foi realizada com um moedor de facas, com o objetivo de deixar as amostras mais homogêneas;

Para a extração propriamente dita foram utilizados três tipos de solventes: clorofórmio, metanol concentrado e etanol comercial, em triplicata, para cada solvente. Utilizou-se 5 g de cada amostra acrescentando, em erlenmeyers de 500 mL, 50 mL dos solventes descritos acima, permanecendo em repouso por 10 dias em local escuro. Desta forma, foram realizadas 3 amostras para clorofórmio, 3 amostras para metanol e 3 amostras com etanol comercial. Este experimento seguiu o mesmo para folhas, sementes e frutos verdes.

Para a retirada do extrato de tanino, foi utilizado Evaporador Rotativo, a uma temperatura de 50° C, para ebulição do solvente, conforme apresentado na Foto 3.. Antes que o solvente fosse completamente retirado do extrato e para facilitar a retirada do extrato do balão, a evaporação do solvente foi transferida para estufa de circulação de ar forçada a uma temperatura de 45° C em média para os três solventes utilizados.



Foto 3: Evaporador rotativo utilizado para a extração de taninos

4.3 Determinação do rendimento

Foi calculado o rendimento dos extratos brutos das amostras, por meio da Equação 1:

$$\text{TEA (\%)} = \text{Mf/Mi} \times 100 \quad (1)$$

onde TEA= teor de extrato total; Mi= massa inicial da amostra (g); Mf= massa final do extrato seco (g). A Foto 4 apresenta o extrato seco extraído da folha de cinamomo, por meio do solvente etanol. Já a Foto 5, mostra o extrato seco também da folha de cinamomo, extraída por meio do solvente clorofórmio.



Foto 4: Amostra de extrato de tanino seco de folha de cinamomo com solvente etanol

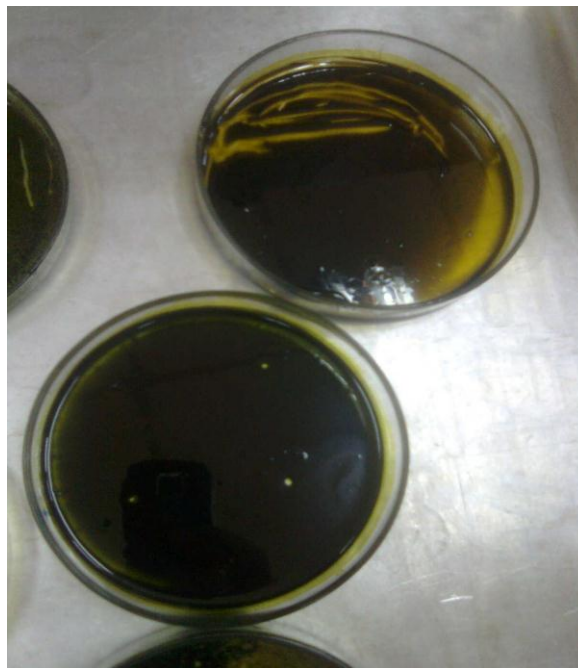


Foto 5: Amostras de extrato seco de folhas de cinamomo, com solvente clorofórmio.

4.4 Elaboração da curva padrão com ácido tânico

Realizou-se a curva padrão com ácido tânico para a determinação quantitativa de tanino, bem como para a predição da sua fórmula. Para isso, foi preparada soluções contendo as seguintes concentrações: 5; 7,5; 10, 30, 50, 75 e 100 mg/L. A absorvância foi medida a 725 nm e um branco foi utilizado como

primeira leitura, em espectrofotômetro UV/VIS 760. Para elaboração da curva padrão utilizou-se programa Excel, para a modelagem da curva de calibração de taninos.

4.5 Preparação dos extratos e quantificação de taninos

Os extratos de taninos foram dissolvidos em 500 mL de água destilada e armazenados em frascos de plásticos, sob refrigeração.

Quantificou-se taninos em folhas, sementes e frutos verdes de cinamomo, utilizando 2 mL da amostra, 3 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente Folin Ciocalteau, promovendo homogeneização e repouso por 3 minutos. Após esse repouso, acrescentou 1,5 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) e 3 mL de água destilada, totalizando 10 mL. As amostras foram homogeneizadas e colocadas em repouso de 2 horas em local escuro.

Após esse período, a absorbância das amostras foi lida em cubetas de quartzo de 10 mm em espectrofotômetro Uv/Vis com comprimento de onda de 725 nm.

Aproveitou-se nessa ocasião a leitura de compostos fenólicos (comprimento de onda 765 nm), uma vez que, são usados os mesmos reagentes para leituras de taninos (AMERINE e OUCH, 1976), porém não foram computados para esse estudo.

4.6 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada por meio do programa computacional Microsoft® Office Excel 2007. Aplicou-se a Análise de Variância (ANOVA) para a comparação das médias e verificou-se a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos utilizados, ao nível de 5% de confiança.

Detectado a diferença, utilizou-se o teste de Tukey (MUCELIN, 2003), para verificar qual dos solventes utilizados é o mais adequado para a extração de taninos e a matéria-prima que contêm, em maior proporção, a substância em questão.

5. Resultados e Discussão

5.1 Determinação do teor de taninos totais

Para a determinação do teor de taninos totais nos extratos, utilizou-se a Equação 2 da curva de calibração:

$$y = 0,0124x + 0,0376 \quad (2)$$

obtida a partir das diferentes concentrações de ácido tânico padrão. Este foi utilizado por ser um tanino hidrolisável e, também por caracterizar os taninos totais pelo método espectrofotométrico (PANSERA et al, 2003). A curva de calibração obtida encontra-se na Figura 5.

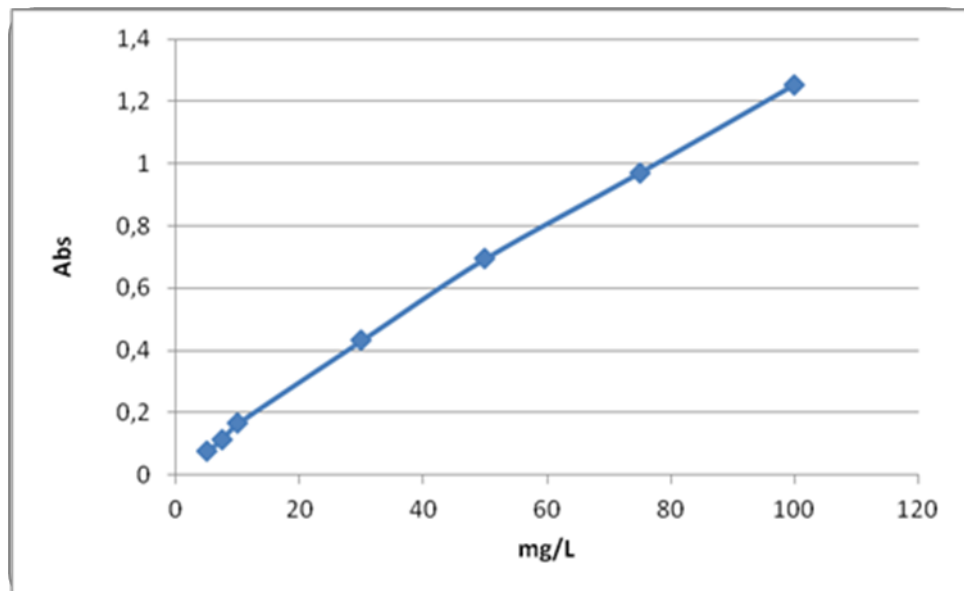


Figura 5: Curva de calibração de taninos totais - concentração de ácido tânico em mg/l versus absorbância (abs); erro do ajuste: 0,9975.

As Tabelas 1, 2 e 3 e Figura 5 apresentam o rendimento da extração de taninos das folhas, frutos verdes e sementes de *Melia azedarach*, respectivamente, para os três solventes estudados. A Tabela 4 apresenta um resumo da comparação entre a extração dos diferentes solventes.

Tabela 1: Rendimento das amostras de folhas de *Melia azedarach* nos três solventes utilizados: clorofórmio, metanol concentrado e etanol comercial.

Rendimento das amostras de folhas de <i>Melia azedarach</i>						
Solvente	Massa Inicial(g)	Placa + amostra (g)	Placa (g)	Massa final extrato seco (g)	% rendimento	Média rendimento (%)
Clorofórmio 1	5,0037	47,2421	46,632	0,6101	12,19	
Clorofórmio 2	5,0029	48,5036	47,0704	1,4332	-	
Clorofórmio 3	5,0034	42,7468	42,0638	0,683	13,65	12,92%
Metanol 1	5,0019	42,3713	41,6011	0,7702	15,39	
Metanol 2	5,003	35,0219	34,2676	0,7543	15,07	
Metanol 3	5,0014	47,4329	46,7027	0,7302	14,59	15,01%
Etanol 1	5,0042	36,11	35,53	0,58	11,59	
Etanol 2	5,0017	49,06	48,42	0,64	12,79	
Etanol 3	5,0033	50,19	49,55	0,64	12,79	12,39%

Tabela 2: Rendimento das amostras de frutos verdes de *Melia azedarach* nos três solventes utilizados: clorofórmio, metanol concentrado e etanol comercial.

Rendimento das amostras de frutos verdes de <i>Melia azedarach</i>						
Solvente	Massa Inicial (g)	Placa + amostra (g)	Placa (g)	Massa final extrato seco (g)	% rendimento	Média rendimento (%)
Clorofórmio 1	5,0001	46,972	46,7769	0,1951	3,9	
Clorofórmio 2	5,0023	49,5712	49,4357	0,1355	-	
Clorofórmio 3	5,0003	33,1184	32,9372	0,1812	3,63	3,41
Metanol 1	5,0019	31,8492	31,5437	0,3055	6,1	
Metanol 2	5,0011	31,7613	31,3409	0,4204	8,4	
Metanol 3	5,0025	46,5678	46,1754	0,3924	7,84	7,44
Etanol 1	5,0036	35,2968	34,9583	0,3385	6,76	
Etanol 2	5,0034	31,3413	31,0192	0,3221	6,43	
Etanol 3	5,0007	34,5762	34,248	0,3282	6,56	6,58

Tabela 3: Rendimento das amostras de sementes de *Melia azedarach* nos três solventes utilizados: clorofórmio, metanol concentrado e etanol comercial.

Rendimento das amostras de sementes de <i>Melia azedarach</i>						
Solvente	Massa Inicial (g)	Placa + amostra (g)	Placa (g)	Massa final extrato seco (g)	% rendimento	Média rendimento (%)
Clorofórmio 1	5,0262	106,9957	106,4952	0,5005	9,95	
Clorofórmio 2	5,0006	113,5111	113,1314	0,3797	7,59	
Clorofórmio 3	5,0007	128,1927	127,3367	0,856	-	8,77
Metanol 1	5,0031	44,786	44,5382	0,2478	4,95	
Metanol 2	5,0018	50,1531	49,8531	0,3	5,99	
Metanol 3	5,0006	48,9853	48,7014	0,2839	5,67	5,83
Etanol 1	5,0002	31,8612	31,5062	0,355	7,09	
Etanol 2	5,0064	31,1056	30,7892	0,3164	6,32	
Etanol 3	5,0012	47,4615	47,1246	0,3369	6,73	6,52

As amostras extraídas com o solvente clorofórmio obtiveram, visualmente, um rendimento considerável, se comparado com os outros solventes (Tabelas 1 e 3). Porém, ao realizar as leituras em espectrofotômetro (Figura 6), constatou que essas amostras extraídas com clorofórmio obtiveram leituras menores do que as amostras extraídas com metanol e etanol. Isto é observado comparando as Figuras 5 e 6, as quais fazem um paralelo entre o rendimento e a leitura de absorvância feita por espectrofotômetro. Esse rendimento ocorre devida presença de outras substâncias, como clorofila, ceras e proteínas que foram extraídos juntamente com os taninos, quando o extrato foi diluído em água destilada.

Portanto, com relação ao rendimento de taninos, desconsideram-se as registradas pelo uso de clorofórmio, uma vez que este é um solvente utilizado para extração de óleos e graxas, o que promove a retirada de outras substâncias, as quais não fazem parte desse estudo.

A polaridade intermediária do clorofórmio também influenciou nos resultados, o uso deste reagente induz ao erro na quantificação de taninos a partir do cinamomo, por carregar consigo lipídeos e ceras. Esta característica o faz um dos solventes mais utilizados na extração de óleos por meio do método Soxhlet.

Nos resultados obtidos na extração de taninos em cinamomo, a solução com álcool metílico é a que obteve as melhores porcentagens de rendimento e de

presença de tanino no extrato (Tabela 4). O mesmo pode considerar em outros estudos como o de Queiroz et al. (2002). Porém os resultados com etanol foram semelhantes aos apresentados pelo metanol, desta forma, pode ser utilizado em sua substituição, sendo este um produto de caráter tóxico, enquanto que o álcool etílico é um solvente de fácil comercialização.

Tabela 4: Teste Tukey de comparação entre solventes e diferentes partes do cinamomo.

	Clorofórmio	Metanol	Etanol
Folhas^x	12,920 ^a ±1,032	15,017 ^b ±0,403	12,390 ^a ±0.693
Frutos verdes^y	3,410 ^a ±0.630	7,447 ^b ±1,199	6,583 ^b ±0,166
Sementes^y	8,770 ^a ±1,669	5,537 ^b ±0,553	6,713 ^{ab} ±0,385

^{a,b} Letras diferentes na mesma linha para os valores médios dos solventes indicam diferença significativa a 5% de confiança ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

^{x,y} Letras diferentes na coluna da matéria prima com relação às medias de rendimento de extração obtido com os três solventes, indicam diferença significativa a 5% de confiança ($p < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

De acordo com os resultados obtidos, as folhas de cinamomo obtiveram uma maior porcentagem de taninos, com relação à semente da mesma planta. Isso sendo observadas as leituras em espectrofotômetro (Figura 6).

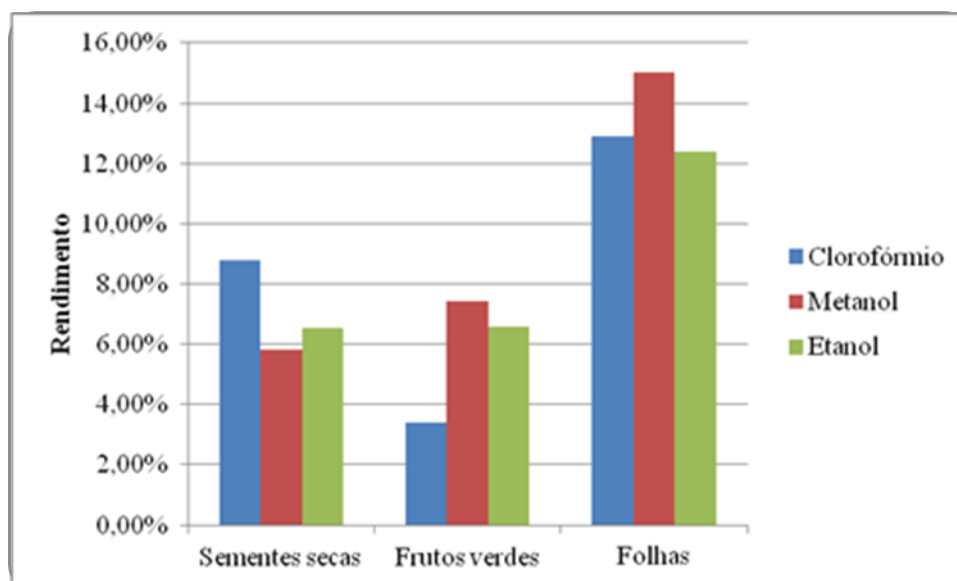


Figura 6: Rendimento de taninos após processo de evaporação rotatória do solvente.

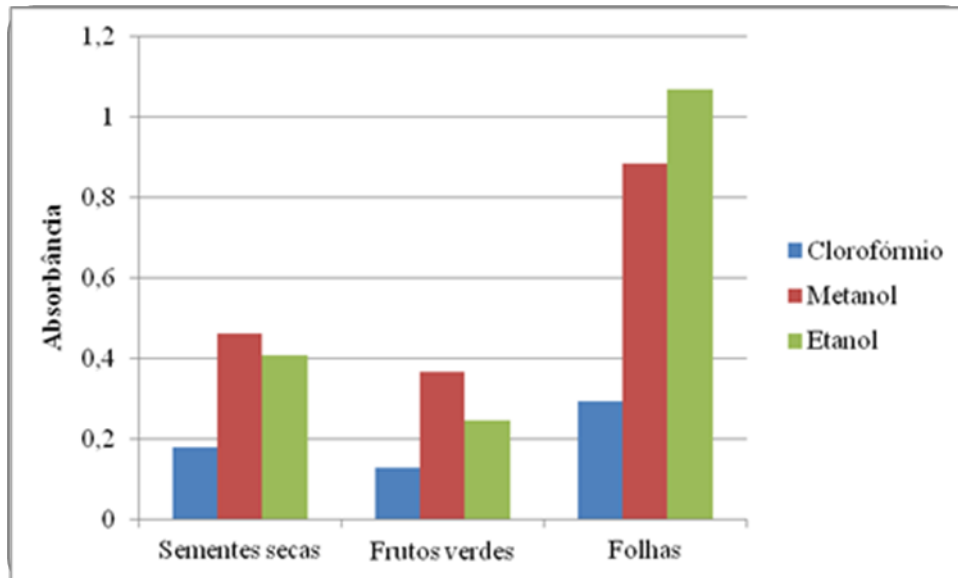


Figura 7: Absorbância das amostras após leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 725 nm.

Já os solventes metanol e etanol obtiveram rendimentos esperados, uma vez que, de acordo com a literatura estes tipos de solventes, juntamente com a acetona, são os mais usualmente utilizados na extração de taninos. Essa constatação se deve pelas leituras em espectrofotômetro, quando estes tiveram quantidade maior de taninos, e uma maior facilidade de diluição, quando o extrato das amostras foram diluídos em 500 mL de água destilada.

Ao realizar as leituras no espectrofotômetro, observou-se que as folhas de *Melia azedarach*, possuem quantidade de tanino maior do que frutos verdes e sementes maduras de cinamomo (Figura 6). Desta forma, optará pelas folhas dessa planta para novos estudos se assim for designado, como por exemplo, tratamento em tanques de decantação de indústria alimentícia.

Estudos diferentes têm sido realizados com cinamomo, onde são pesquisados a ação inibidora, redução de peso e até mortalidade de insetos nas suas mais variadas formas de desenvolvimento (larva, pupa e fase adulta), como no caso do estudo de Freitas et al (2007), que utilizou folhas de cinamomo como fitoextrato e observou sua ação sobre o desenvolvimento de *Musca domestica*. De acordo com seus experimentos, o fitoextrato tornou-se mais eficiente do que amostras controles (produtos químicos).

Outras pesquisas como as demonstradas nos trabalhos de Rodrigues et al (2010), utilizaram extrato aquoso de folhas de cinamomo aplicados via solo no

controle de pragas como nematóides (*Meloidogyne incognita*), que parasitam tomates. Neste trabalho, o extrato aquoso das folhas de cinamomo tornou-se uma ferramenta útil no controle de fitonematóides.

Não foi encontrado parâmetros para a quantidade de taninos presentes na folha de cinamomo ou trabalhos semelhantes que pudessem ter comparações e que demonstrassem a quantificação deste composto fenólico.

A Tabela 5 mostra os resultados obtidos da quantificação (matéria seca) de taninos das amostras de semente, frutos verdes e folhas de cinamomo, assim como os solventes utilizados na extração dessas partes da planta.

Tabela 5: Quantificação de taninos de amostras de sementes, frutos verdes e folhas de *Melia azedarach*, extraídos por meio dos solventes: clorofórmio, metanol e etanol.

Amostras	Solventes		
	Clorofórmio mg/100g	Metanol mg/100g	Etanol mg/100g
Sementes	11,40	34,06	28,17
Frutos verdes	7,37	26,48	16,72
Folhas verdes	40,34	68,17	83,17

De acordo com a Tabela 5, pode-se perceber que as folhas de cinamomo forneceram melhores resultados quanto à extração de taninos, nos três solventes utilizados na pesquisa.

Segundo Mueller-Harvey apud Santos (2010), o metanol tende a ser o melhor solvente para taninos de baixo peso molecular ou tecidos com largas quantidades de enzimas, comprovando a eficácia do solvente metanol na extração de taninos. Porém neste estudo, ao utilizar etanol, obteve-se resultados semelhantes e até mesmo, superiores ao metanol, como é descrito na Tabela 5. Na extração de tanino com etanol, a folha fez 87 mg/100g, o que significa, a cada 100g da amostra, possui 87 mg de extrato de tanino, enquanto que, na extração com metanol, equivaleu a 68,17 mg/100g.

A partir de uma análise quantitativa preliminar com extratos metanólicos de cinamomo, mostrou a presença de alcalóides, taninos, glicosídeos e saponinas. Estas substâncias encontradas pelo processo de extração com metanol envolvendo

Soxhlet permite sugerir que as folhas de *Melia azedarach* Linn, pode ser uma potencial fonte de antioxidante natural, por meio de experimentos feitos com ratos após a ingestão de extratos de folhas de cinamomo (MOHD et al, 2008).

Na literatura, este tipo de estudo tem sido realizado principalmente para taninos. A extração de taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*), realizadas com metanol 80% e acetona 70% revelou que este último obteve um rendimento 3,7% maior que a extração hidroalcoólica (QUEIROZ et al, 2002). Porém, os resultados com solvente alcoólico obtiveram resultados satisfatórios na obtenção de taninos.

Estudos realizados por Agostini-Costa et al (2003), comprovam que o metanol acidulado com ácido clorídrico (HCL) 1%, conseguiu extrair taninos duas vezes mais do que utilizando apenas metanol puro em seus estudos para determinação de taninos em pedúnculos de caju. Nesse mesmo estudo, o etanol também está associado à extração de tanino, com percentual aproximado ao do metanol.

No entanto, deve-se evidenciar a importância da avaliação do solvente extrator em função da grande diversidade da constituição química da planta, do grau de polimerização apresentado e do tipo de interação que estes compostos podem apresentar em diferentes fontes vegetais (AGOSTINI-COSTA et al, 2003). Desta forma, o solvente escolhido pode ser um diferencial na extração de substâncias fenólicas.

O trabalho realizado por Nakanishi et al (2010), considerou as substâncias tânicas provenientes de folhas e frutos de *M. azedarach*, como um meio natural para ajudar no tratamento de parasitas gastrointestinais em caprinos. Porém, neste estudo não realizou-se a quantificação dessas substâncias, mas a pesquisa permite entender a importância desses compostos tânicos para tratamento de nematóides e possivelmente para outros estudos.

Em pesquisas feitas por Rojas (2005), com frutos verdes e maduros e folhas de *M. azedarach*, colhidas em um dos campus da Universidade de Santiago no Chile, a proporção de taninos totais em frutos verdes foi de 3,9 g/L, sendo que frutos maduros tiveram uma proporção menor de taninos totais, chegando a 2,56 g/L. Esta experiência, com cinamomo proveniente do Chile, teve como objetivo, descobrir o uso desta árvore como inseticida botânico.

Os solventes utilizados para esse estudo foram água/etanol, água pura e etanol. Os melhores resultados encontrados se devem ao etanol com uma maior extração de taninos e outras substâncias presentes nas sementes maduras e verdes de cinamomo, que também junto aos taninos, fazem parte dos compostos fenólicos. Com o cinamomo de Campo Mourão, o etanol também obteve resultados satisfatórios na extração de taninos (Tabela 1 a 3).

Esses valores encontrados no Chile são maiores do que os obtidos do cinamomo colhido em Campo Mourão, pois a variedade de taninos totais pode variar como já mencionado, de um lugar para outro, das partes diferentes da própria planta e também do solvente utilizado para fazer a extração dessas substâncias.

Um trabalho semelhante foi feito por Fiorentini (2005), utilizando tanino comercial chamado Tanfloc SG, proveniente da extração de casca de Acácia Negra (*Acacia mearnsii*) em estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e de esgoto. Nesse estudo não foi divulgada a concentração de taninos em sua composição, mas essa planta é considerada uma das espécies vegetais com maior potencial para utilização industrial na produção de taninos, apresentando 14% de taninos na casca, como também é citado por Pansera et al, 2003.

Neste trabalho, a extração de tanino de cinamomo não foi realizada na casca, como no estudo de Pansera et al (2003) e Fiorentini (2005), nos quais se extraiu da casca uma quantidade considerável de taninos através do metanol. Portanto, não há um comparativo ideal a ser realizado, uma vez que foram usadas sementes, frutos e folhas de *Melia azedarach*. Assim, deve-se realizar estudos mais aprofundados no cinamomo com disponibilidade para concluir todos os procedimentos necessários para a sua extração e posterior utilização em tratamento de água de efluente de indústria alimentícia ou outros setores que requerem o seu auxílio.

6 CONCLUSÃO

Para um estudo mais aprofundado, é interessante o uso de outras metodologias que possam extrair uma quantidade maior de taninos dessa mesma arbórea, seguindo o mesmo grupo de solventes utilizados, mas com ressalva ao clorofórmio, que apresentou valores muito inferiores de taninos com relação ao metanol e etanol comercial.

Como verificado neste trabalho, as amostras de folhas de cinamomo apresentaram uma extração considerável de tanino, estimando que em trabalhos futuros estes constituintes sejam analisados mais detalhadamente.

O solvente etanol comercial apresenta bons resultados, semelhantes ao metanol, no entanto, com algumas vantagens. O álcool etílico, sendo menos tóxico ao ambiente e tendo um valor comercial inferior, pode ser utilizado para novas extrações.

O solvente clorofórmio obteve um rendimento significativo comparando com os demais solventes. No entanto, esse rendimento não condiz com os resultados obtidos após a quantificação de taninos. Desta forma o solvente clorofórmio não é um solvente ideal para a extração de taninos uma vez que, ele arrasta consigo outras substâncias não consideradas para este estudo e dificulta a retirada do extrato seco.

A extração de tanino em folhas de cinamomo obteve uma maior porcentagem de rendimento, assim como na quantificação de taninos, nos três solventes utilizados na pesquisa. Portanto, esta parte da planta deverá ser mais explorada em novos trabalhos.

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.

AMERINE, M.A; OUGH, C. S. **Análisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Acribia, 1976.

ARAÚJO, et al. **Uso dos potenciais de *Melia azedarach* L. (Meliaceae): Um levantamento**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.76, n.1, p.141-148, jan./mar., 2009.

AYUNTAMIENTO DE GRANADA. **Medio ambiente: Guía de Parques y Arboles**. Disponível em <<http://www.granada.org/internet/arboles>> Acesso em: 28 fev. 2013.

BANCO INTERNACIONAL DE OBJETOS EDUCACIONAS (MEC). **Cinamomo (*Melia azedarach* L.): septoriose**. Disponível em: <<http://objetoseducacionais2mec.gov.br>> Acesso em: 27 fev. 2013.

BIANCO, M. A.; SAVOLAINEN, H.; Phenolic acids as indicators of wood tannins. **Sci. Total Environ**, v. 203 p. 79, 1997.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de Extratos Aquosos de *Melia azedarach* L. Sobre o Desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) em Tomateiro. **Neotrop. Entomol.**, v.30, n.3, 2001.

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G.; Are tannins a double-edged sword in biology and health? **Trends Food Sci. Technol** v. 9, p. 168, 1998.

DAHLGREN, A.; YU, Z.; Evaluation of methods for measuring polyphenols in Conifer foliage. **J. Chem. Ecol.** v. 26, p. 2119, 2000.

DANTAS, D. A.; MAGANHA, M.; BERETTA, T. E.; NOZU, P.; PEREIRA, G. da S.; MATIAS, R.; SOLON, S.; RESENDE, U.; KOLLER, W. W. & GOMES, A. **Estudo fitoquímico dos frutos de *Melia azedarach* L. (Cinamomo, Meliaceae)**. In ENCONTRO DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIDERP, 2., Campo Grande, 2000. *Anais...*, Campo Grande: UNIDERP, p. 119-120, 2000. Resumo expandido.

DICAGROECOLÓGICA. Uso do cinamomo como inseticida e repelente. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**. Porto Alegre, v. 2, n. 3, 2001. Disponível em:

<<http://books.google.com/books?mccafferty+provonsha+aquatic+entomolog>>. Acesso em 22/01/2013.

FALBO, M. K.; SANDINI, I. E.; ISHIY, H. M.; FÁVARO, J. L.; SANTOS, C. E.; BASTOS, S.; ROGIGHERI, D.; GUZZO, D. Atividade anti-helmíntica do fruto de *Melia azedarach* em cordeiros naturalmente infectados com nematódeos gastrintestinais. **Ciências Agrárias**, v. 29, n. 4, p. 881-886, 2008.

FIORENTINI, V. **Uso do tanino no processo de tratamento de água como melhoria em sistema de gestão ambiental**. Dissertação de mestrado apresentada no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção de Mestre em Engenharia de Produção, 2005.

FREITAS, S. R. Q. de, *et al.* **Ação do fitoextrato de *Melia azedarach* L. (meliaceae) sobre o desenvolvimento de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae)**. XVI CIC – XVI Congresso de Iniciação científica, 2007. Disponível em <<http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/>>. Acessado em 18/04/2012.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, v. 30, n. 2, p.374-381, 2007.

GOMES, A.; KOLLER, W. W.; MOREIRA, P.; REZENDE, U. M.; ASPESI, G. H.; ARAÚJO, F. R.; PAGLIOSA, F. M. **Avaliação de substâncias presentes em cinamomo, *Melia azedarach*, quanto à atividade carrapaticida**. Embrapa Gado de Corte. Disponível em <<http://www.cnpqg.embrapa.br/projetos/subprojetos>> **Acesso em 21/02/2013.**

GRUNDHÖFER, P.; GROSS, G. G.; Immunocytochemical studies on the origin and deposition sites of hydrolyzable tannins. **Plant Sci.**, v.160, p. 987, 2001.

GRUNDHÖFER, P.; NIEMETZ, R.; SCHILLING, G.; GROSS, G. G.; Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins **Phytochemistry**. 2001, v. 57, p. 915.

GUIRADO, M. M., BICUDO, H. E. M. C. Alguns aspectos do controle populacional e da resistência a inseticidas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Bepa**, v. 6, n. 64, p. 5 - 14, 2009. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/BEPA64_DENGUE.pdf>. Acesso em 13 fev. 2013.

HAGERMAN, A. E.; ZHAO, Y.; JOHNSON, S.; **Antinutrients and Phytochemicals in Food.**, v. 12, p. 209. 1997.

HEIL, M.; DELSINNE, T.; HILPERT, A.; SCHÜRKENS, S.; ANDARY, C.; LINSENMAIR, E. K.; SOUSA, M.; MCKEY, D.; Reduced chemical defence in ant-plants? A critical re-evaluation of a widely accepted hypothesis. **Oikos**. 2002, v. 99, p. 457.

GRANJA SÃO SEBASTIÃO. Disponível em <www.granjasaosebastiao.com.br/variedades/nt_cinamomo.html> Acesso em: 27 fev. 2013.

IAPAR, Instituto Agrônômico do Paraná. **Cartas Climáticas do Paraná: Classificação Climática**. Disponível em <www.iapar.br>. Acessado em 01/12/2011.

LOPES, R. B.; CECARELLI, P. S.; TORNISIELO, V. L. Uso químico na piscicultura paulista. **Panorama da Aquicultura**, v.10, n.5, p.107, 1999.

MALHEIROS A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (orgs.) **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos, 2001, p. 505-523.

LOVATTO, P. B.; MARTINEZ, E. A.; MAUCH, C. R.; SCHIEDECK, G. A utilização da espécie *Melia azedarach* L. (Meliaceae) como alternativa à produção de insumos ecológicos na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7(2): p 137- 149, 2012.

MARQUES, F. **Substância encontrada em sementes de árvores nativas da Ásia tem ação contra o vetor da leishmaniose**. Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Disponível em < <http://www.fiocruz.br> > Acesso em 20/02/2013.

MARTINEZ, S. S. **O nim *Azadirachta indica* – um inseticida natural**. Disponível em: < <http://www.iapar.br/modules/conteudo/> > Acesso em 23 fev. 2013.

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. Em **Farmacognosia: da planta ao medicamento**; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P., orgs.; Ed. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001.

MOHD. FAZIL AHMED, MOHD. ASHWAQ AHMED, HAMEED THAYYIL, KHAJA ZAMEERUD-DIN and MOHD. IBRAHIM. Antioxidative Activity of *Melia azedarach* Linn Leaf Extract. **Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics (IJPT)**. Irã, 2008.

MONDAL, K. C.; BANERJEE, D.; JANA, M.; PATI, B. R.; Colorimetric Assay Method for Determination of the Tannin Acyl Hydrolase (EC 3.1.1.20) Activity **Anal. Biochem.** 2001, v. 295, p.168.

MONTEIRO, J. M.; et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Revista Química Nova**, vol. 28, n. 5, 892-896, 2005.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; QUEIROZ, C. R. A. A.; Cellulose chemistry and technology. **J. Braz. Chem Soc.** 1999, v. 10, p. 447.

MUCELIN, C. A. **Estatística elementar e experimental aplicada às tecnologias.** Medianeira (PR), 2003.

MUELLER-HARVEY, I.; Analysis of hydrolyzable tannins. **Animal Feed Science and Technology.** 2001, v. 91, p. 3.

NAKANISH, Y.; TAKAYAMA, K.; YASUDA, N. **Effects of Japanese Bead-tree (*Melia azedarach* var. *subtripinnata*) on Gastrointestinal Parasites in Goats.**

PANSERA, M. R.; SANTOS, A. C. A.; PACSE, K.; WASUM, R.; ROSSATO, M.; ROTA, L. D.; PAULETT, G. F.; SERAFINI, L. A. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 13 n.1, p. 17-22, 2003.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Quím. Nova.** v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

PROPHIRO, J. S.; ROSSI, J. C. N.D; PEDROSO, M. F.S; KANIS, L.; SILVA, ONILDA S. Leaf extracts of *Melia azedarach* Linnaeus (Sapindales: Meliaceae) act as larvicide against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 6, n. 42, p. 560-564, 2008.

RODRIGUES, A. A.; RABELLO, L. K. C.; GONÇALVES, A. O.; ALVES, F. R.; JESUS JUNIOR, W. C. de; MORAES, W. B. de. **Efeito do óleo de nim e extrato aquoso de cinamomo aplicados via solo no controle de *Meloidogyne incognita* parasitando tomateiro.** XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2010.

ROJAS, D. R. L. **Elaboración y evaluación de extractos del fruto de *Melia azedarach* L. como insecticida natural**. 2005. 57 f. Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero Forestal. - Facultad de Ciencias Forestales - Escuela de Ciencias Forestales - Universidad de Chile, Santiago, Chile, 2005.

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

SALLES, L. A. RECH, N. L. **Efeito de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WEID.) (DIPTERA:TEPHRITIDAE)**. Disponível em: <<http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/.pdf>> Acesso em 12 fev 2013.

SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T.; Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Rev. Bras. Bot.** p. 135 v.21,1998

SCHNEIDER, P. R. **Cultura do cinamomo, *Melia azedarach* L.** Santa Maria: CEPEF/FATEC, p. 23 1987.

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

SOUZA CRUZ. **Reflorestar é preservar**. Florianópolis: SOUZA CRUZ, p. 46, 1987.

TOMAZELLI JÚNIOR, Osmar. **Uso de extratos vegetais no controle de larvas de insetos aquáticos (insecta: odonata) protetores de alevinos em viveiros de pisciculturas**. 2009. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Programa de Pós-Graduação Ciências Ambientais, Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, 2009.

VERDE NOVO. Disponível em <<http://www.verdenovo.org>> Acesso em: 27 fev. 2013.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa pra o controle químico de insetos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 3, p.390-400. 2003.

VIVAN, M. P. **Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*)**. Florianópolis, 2005, 72p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Curso de

Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

WILSON, T. C.; HAGERMAN, A. E.; Quantitative determination of ellagic acid
J. Agric. Food Chem. 1990, v. 38, p. 1678.