



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL

BRUNA DE FREITAS LEITE

**EXTRAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS DAS CASCAS
DE *Mimosa tenuiflora* PARA FINS INDUSTRIAIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Campina Grande
2018**

BRUNA DE FREITAS LEITE

**EXTRAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS DAS CASCAS
DE *Mimosa tenuiflora* PARA FINS INDUSTRIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Química Industrial da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Helvia Walewska Casullo de Araújo

Coorientadora: Prof^a Me. Adriana Nunes dos Santos

Campina Grande
2018

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

L533e Leite, Bruna de Freitas.

Extração de proantocianidinas das cascas de *Mimosa tenuiflora* para fins industriais [manuscrito] / Bruna de Freitas Leite. - 2018.

51 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.

"Orientação : Profa. Dra. Helvia Walewska Casullo de Araújo, Coordenação do Curso de Química Industrial - CCT."

"Coorientação: Profa. Ma. Adriana Nunes dos Santos, UFPB - Universidade Federal da Paraíba"

1. Jurema-preta. 2. Taninos. 3. Extração de taninos. 4. Otimização de processo.

21. ed. CDD 660

BRUNA DE FREITAS LEITE

EXTRAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS DAS CASCAS DE *Mimosa tenuiflora*
PARA FINS INDUSTRIAIS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Química
Industrial da Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Química Industrial.

Aprovada em: 05/05/2018.

BANCA EXAMINADORA

Helvia W. Casullo de Araújo

Prof. Dr.ª Helvia Walewska Casullo de Araújo
Universidade Estadual da Paraíba – DQ
(Orientadora)

Adriana Nunes dos Santos

Prof. Me. Adriana Nunes dos Santos
Universidade Federal da Paraíba – PPGQ
(Coorientadora)

Márcia Ramos Luiz

Prof. Dr.ª Márcia Ramos Luiz
Universidade Estadual da Paraíba – DESA

Marcelo Maia de Almeida

Prof. Dr. Marcello Maia de Almeida
Universidade Estadual da Paraíba - DESA

*À minha mãe, Flávia Freitas e ao meu pai, Walmyr Leite, como recompensa
ao valor que a distância vale em saudade e por toda uma vida cheia de
amor e amizade que me proporcionaram,*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as oportunidades de crescimento profissional e pessoal que me foram concedidas neste período.

Aos meus pais, Flávia Freitas e Walmyr Leite, que investiram muito nos meus estudos e nunca duvidaram da minha capacidade. Por todo o amor, compreensão e incentivos a perseguir meus objetivos.

Às minhas tias, Olívia e Fabíola, por todos os anos de moradia, todo apoio, incentivo e muita amizade que construímos. Se este TCC está sendo escrito é porque vocês estiveram sempre ao meu lado. Esta conquista é de VOCÊS também!

À minha grande amiga e coorientadora, Adriana Nunes dos Santos, por todo o suporte acadêmico inestimável e pelos melhores últimos anos de UEPB que eu poderia desejar. Serei eternamente grata por todo o aprendizado que você me proporcionou, por todo o trabalho que pudemos desenvolver juntas e todo o crescimento profissional/pessoal que você despertou em mim. Esse TCC é NOSSO e eu sinto orgulho de ser sua primeira orientanda!

À minha orientadora, Helvia Walewska Casullo, a poderosa deusa dos laboratórios, que tudo consegue e em tudo ajuda. Esta profissional que admiro e respeito e por quem sou grata pelas orientações, atenção e por toda confiança depositada em mim.

Às amigas que suavizaram todo o trabalho através de palavras doces e sorrisos e me fizeram querer acordar todos os dias para chegar ao final desta batalha. Em especial, Bruno Henrique da Silva, meu maior exemplo de determinação e humildade; agradeço a Deus todos os dias em ter você na minha vida. Também a Lisandra e Junior, por toda paciência e carinho que tiveram comigo.

À equipe técnica dos laboratórios, em especial, Adriana do NUPEA e Ademir de química, que não mediram esforços para que este trabalho atendesse ao cronograma planejado e me apoiaram incondicionalmente durante os momentos de erros e na procura de soluções. Meu MUITO OBRIGADA!

À todos os professores que fizeram parte do minha formação e são os verdadeiros responsáveis por este trabalho poder ser desenvolvido. À vocês, todo o meu respeito, admiração e gratidão.

*O ontem é história,
O amanhã é um mistério,
Mas o hoje é uma dádiva.
É por isso que se chama presente.*

(Kung Fu Panda)

RESUMO

Os taninos condensados (proantocianidinas) são metabólitos secundários de plantas vascularizadas, formados pelo processo de polimerização entre unidades de polihidroxi-flavan-3-ol. Estes compostos são encontrados em diversos vegetais, com destaque para a jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), uma espécie nativa da caatinga brasileira que apresenta em média 17-25% de proantocianidinas na composição de suas cascas. A diversidade de utilização destas substâncias é limitada por fatores como a espécie utilizada, a idade e condições geográficas do vegetal e variáveis do processo de extração como temperatura, tempo e solvente utilizados. Uma alternativa para estudá-las é a utilização de ferramentas estatísticas para determinação da condição em que elas resultam na melhor qualidade do material e propõe o maior custo-benefício em seu preparo. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo realizar uma otimização da extração de proantocianidinas das cascas de *Mimosa tenuiflora* para fins industriais por meio de um planejamento fatorial 2^3 com três repetições no ponto central, variando o tempo (60, 90 e 120 minutos), a concentração de sulfito aquoso (0; 1,5 e 3%) e razão mássica casca/água (1/15, 1/10 e 1/5), determinando, por meio do Método de Stiasny, as variáveis resposta Teor de Taninos Condensados (TTC) e Índice de Stiasny (IS) que indica a pureza dos taninos. A melhor condição para a extração foi observada no ensaio 02, onde obteve-se 26,17% de TTC com 92,28% de pureza. Além disso, mediante análise estatística através de ANOVA, Diagrama de Pareto e Método de Superfície de Resposta verificou-se que a presença de sulfito de sódio favorece o TTC, mas afeta negativamente a pureza do extrato e que a razão mássica não influencia a extração das proantocianidinas.

Palavras-chave: Jurema-preta. Extração de taninos. Otimização de processo.

ABSTRACT

Condensed tannins (proanthocyanidins) are secondary metabolites of vascularized plants formed by the polymerization process between polyhydroxy-flavan-3-ol units. These compounds are found in several plants, especially jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), a native species of the Brazilian caatinga, that presents on average 17-25% of proanthocyanidins in the composition of its bark. The diversity in the use of these substances is limited by factors such as the species used, the age and geographic conditions of the plant and variables of the extraction process such as temperature, time and solvent used. An alternative to study them is the use of statistical tools to determine the condition in which they result in the highest quality of the material and proposes the best cost benefit in its preparation. In this context, the objective of this work is to optimize the extraction of proanthocyanidins from *Mimosa tenuiflora* barks for industrial purposes through a 2^3 factorial design with three replicates at the central point, varying time (60, 90 120 minutes), concentration of aqueous sulfite (0.1, 1.5 and 3%) and barks/water ratio (1/15, 1/10 and 1/5), determining, through Stiasny's Method, the response variables content of condensed tannins (TTC) and Stiasny's Index (IS) which indicates the purity of the tannins. The best condition for extraction was observed in trial 02, where 26.17% of TTC was obtained with 92.28% purity. In addition, statistical analysis using ANOVA, Pareto Chart and Response Surface Method verified that the presence of sodium sulfite favors TTC, but it negatively affects purity of the extract and that mass ratio does not influence the extraction of proanthocyanidins.

Keywords: Jurema-preta. Tannins extraction. Process optimization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Taninos hidrolisados e seus produtos de hidrólise.....	17
Figura 2 –	Estrutura básica de um flavonóide.....	18
Figura 3 –	Modelo genérico para a estrutura de uma proantocianidina.....	18
Figura 4 –	Monômero genérico de um tanino condensado.....	19
Figura 5 –	<i>Mimosa tenuiflora</i> adulta em uma mata nativa localizada na caatinga do nordeste paraibano.....	22
Figura 6 –	Aplicação dos taninos condensados dos anos de 1944-2015 representadas pelos códigos de suas propriedades industriais e seus respectivos cessionários.....	24
Figura 7 –	Etapas do trabalho para obtenção e caracterização dos extratos das cascas de <i>Mimosa tenuiflora</i>	31
Figura 8 –	Amostras utilizadas na determinação do teor de umidade das cascas de <i>Mimosa tenuiflora</i>	36
Figura 9 –	Coloração dos ensaios extrativos	37
Figura 10 –	Variações de coloração dos resíduos de sólidos totais e taninos condensados.....	37
Figura 11 –	Produção de espuma nos extratos tânicos.....	38
Figura 12 –	Resultados negativos nos experimentos iniciais.....	39
Figura 13 –	Diagramas de Pareto descrevendo a influência e significância individual de cada variável independente e suas interações para (A) TTC e (B) IS.....	42
Figura 14 –	Superfície de Resposta para (A) Teor de Taninos Condensados e (B) Índice de Stiasny em função de (X_c e X_t).....	45
Figura 15 –	Superfícies de Resposta para o Índice de Stiasny (A) em função de (X_c e X_r) e (B) em função de (X_r e X_t).....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Subclasses de proantocianidinas resultantes da substituição dos radicais indicados na estrutura genérica de um tanino condensado.....	19
Tabela 2 –	Variação nos teores de taninos em diferentes espécies e partes de vegetais.....	21
Tabela 3 –	Vegetais arbóreos que apresentam predominância de taninos condensados.....	21
Tabela 4 –	Matriz experimental genérica com valores codificados para um planejamento fatorial 2^3 com três repetições no ponto central.....	29
Tabela 5 –	Fatores e níveis codificados avaliados na extração.....	32
Tabela 6 –	Matriz experimental dos ensaios de extração variando o tempo (X_t), a concentração de solvente (X_c) e a razão mássica casca/água (X_r).....	33
Tabela 7 –	Teores de Taninos Condensados (TTC) e Índice de Stiasny (IS) para os extratos provenientes das cascas da <i>Mimosa tenuiflora</i>	40
Tabela 8 –	Análise de Variância para as variáveis TTC e IS na extração de taninos condensados das cascas de jurema-preta (<i>Mimosa tenuiflora</i>).....	44
Tabela 9 –	Modelos matemáticos gerados por regressão linear múltipla para TTC e IS em função dos fatores tempo (X_t), razão mássica casca/água (X_r) e concentração do solvente (X_c).....	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	15
2.1	Objetivos específicos	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1	Taninos	16
3.1.1	<i>Taninos hidrolisados (THs)</i>	16
3.1.2	<i>Taninos condensados (TCs)</i>	17
3.1.3	<i>Ocorrência dos taninos nos vegetais</i>	20
3.2	A <i>Mimosa tenuiflora</i>	22
3.3	Aplicações de taninos condensados	23
3.4	Fatores que influenciam a extração de taninos condensados em vegetais	25
3.5	Otimização de processos	27
4	METODOLOGIA	31
4.1	Coleta e processamento do material	31
4.1.1	<i>Teor de umidade</i>	32
4.2	Extração do material tânico	32
4.3	Caracterização dos extratos tânicos pelo método de Stiasny	34
4.3.1	<i>Determinação do Teor de Sólidos Totais (TST)</i>	34
4.3.2	<i>Determinação do Índice de Stiasny (IS) e Teor de Taninos Condensados (TTC)</i>	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Teor de umidade	36
5.2	Extratos tânicos	36
5.3	Análise estatística do planejamento fatorial completo	40
5.3.1	<i>Diagrama de Pareto</i>	42
5.3.2	<i>Análise de Variância (ANOVA)</i>	44
5.3.3	<i>Metodologia de Superfície de Resposta (MSR)</i>	44
6	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

Os taninos são compostos pertencentes a uma abundante classe de metabólitos secundários de plantas vascularizadas e possuem a capacidade de formar complexos estáveis com proteínas (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004; ASHOK; UPADHYAYA, 2012; GARCÍA et al., 2015; MEDEIROS, 2015). De acordo com sua estrutura química, podem ser classificados em hidrolisados ou condensados (proantocianidinas) (OKUDA; ITO, 2011; ARBENZ; AVÉROUS, 2015; SIENIAWSKA; BAJ, 2017).

As proantocianidinas existem em abundância nas cascas, folhas, sementes, frutos, seiva e madeiras de algumas espécies de leguminosas, como a *Acacia* sp. e a *Mimosa tenuiflora* e coníferas, como *Pinus* sp., enquanto os hidrolisados concentram-se apenas em espécies de dicotiledôneas, contribuindo para que a correspondência de apenas 10% da produção mundial seja composta por esta classe de taninos. A ocorrência destes compostos sofre variação de fatores extrínsecos como condições de geografia e clima, podendo representar até 40% da massa seca de espécies arbóreas (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004; AZEVÊDO et al. 2015; GARCÍA et al., 2015). Entre as espécies vegetais com alto teor de taninos encontra-se a *Mimosa tenuiflora* (no popular, jurema-preta), natural da caatinga do nordeste brasileiro e utilizada apenas como fonte de queima para produção energética (SOUZA et al., 2008; LOPES et al., 2015; CALEGARI et al., 2016).

Na última metade do século a utilização das proantocianidinas, usadas inicialmente para curtimento de couro, foi ampliada a diversas áreas, desde produção de resinas a adsorventes e inibidores de HIV (QUIDEAU et al., 2011; GARCÍA et al., 2015). No entanto, o uso destes compostos é possibilitado por meio de extrações cuja eficiência exige a consideração de numerosos fatores influentes neste processo, como as condições ambientais em que a espécie vegetal foi submetida, sua idade, granulometria, pH, solvente, temperatura, tempo e pressão do processo extrativo. A qualidade final destes produtos depende diretamente da qualidade da matéria-prima adquirida da operação de remoção, sendo de fundamental importância que apresente não só elevada concentração deles, mas também alta pureza. Além disso, é imprescindível, em uma escala industrial, considerar aspectos de segurança e influência que estas variáveis podem provocar nos operadores e no meio ambiente. (ÇAM; AABY, 2010; DERKYI,

2010; CARNEIRO et al., 2012; ARBENZ; AVÉROUS, 2015; SIENIAWSKA; BAJ, 2017).

Uma solução para analisar estas limitações do processo extrativo, que visa determinar quais destes fatores são os mais influentes na extração e em que condições as interferências do ambiente serão minimizadas é a utilização de ferramentas estatísticas capazes de avaliar, simultaneamente, fatores e níveis de regulação de um processo. Técnicas como ANOVA, Método de Superfície de Resposta e diagramas de Pareto são utilizados como instrumentos estatísticos no controle de qualidade e aperfeiçoamento de processos. As indústrias visam aprimorar suas operações de forma preventiva para assegurar não só as propriedades de seus produtos, como também garantir que a matéria-prima e componentes do método produtivo sejam utilizados minimamente e haja pouca ou nenhuma geração de resíduos, aumentando o custo-benefício da produção. Para tal, o emprego da otimização surge como uma alternativa de estudo eficiente para determinação de possíveis fontes de economia e sustentabilidade para as indústrias (GALDÁMEZ, 2002; MONTGOMERY, 2013).

Há diversos trabalhos na literatura envolvendo otimização de processos extrativos em vegetais distintos, como em peles de *Castanea sativa* (AIRES; CARVALHO; SAAVEDRA, 2015), uvas maduras (BINDON et al., 2014) e de cascas de *Pinus radiata* (GARCÍA et al., 2015). No entanto, os estudos que envolvem a otimização da extração de taninos condensados da *Mimosa tenuiflora* são poucos e, no geral, analisam as principais variáveis de extração: tempo, temperatura e concentração de solvente, como é abordado nas pesquisas de Paes et al. (2006), Azevêdo et al. (2015), Calegari et al. (2016) e Santos (2017). Este trabalho irá avaliar, além destes fatores, uma variável nunca antes testada no preparo de extratos à base de cascas de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), a razão mássica casca/água, contribuindo para a construção de um procedimento de extração mais eficaz visando sua utilização em escala industrial.

2. OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo aplicar a técnica de planejamento fatorial para a otimização do processo de extração de taninos condensados das cascas de *Mimosa tenuiflora* para fins industriais.

2.1 Objetivos específicos

- Determinar os Teores de Taninos Condensados e a pureza do extrato pelo método de Stiasny.
- Identificar as variáveis mais influentes no processo de extração e as interações mais significativas.
- Determinar a melhor condição de extração por meio de um planejamento fatorial 2^3 com três pontos centrais.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Taninos

Os taninos são substâncias polifenólicas que ocupam a terceira classe mais abundante dos metabólitos secundários em plantas vascularizadas, perdendo apenas para os principais constituintes dos vegetais- celulose e lignina (GARCÍA et al., 2015). Esta classe de compostos auxilia na proteção das plantas contra insetos e fungos que, junto a sua elevada adstringência, ajuda na limitação do consumo das espécies vegetais por animais herbívoros (LOCHAB; SHUKLA; VARMA, 2014).

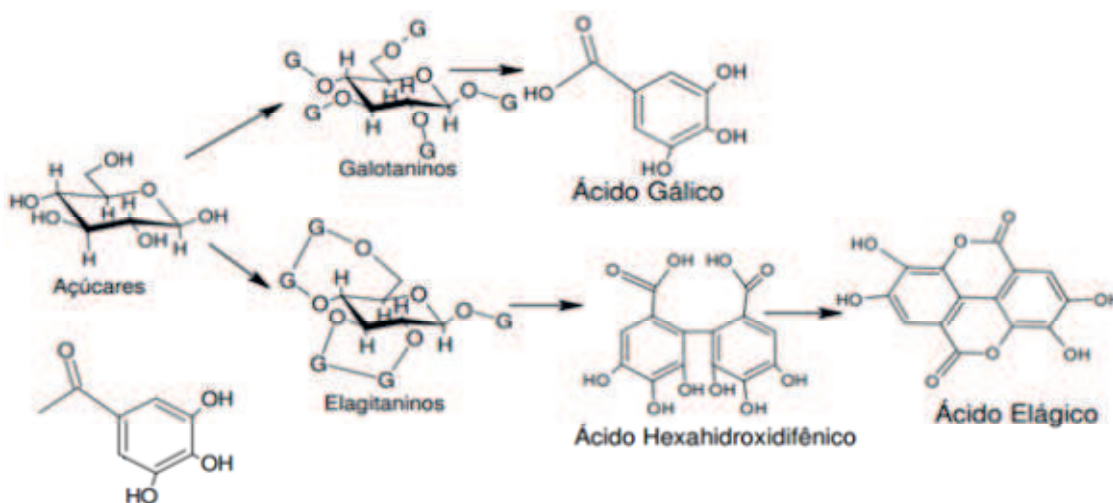
Originalmente o termo “tanino” foi utilizado para designar materiais capazes de produzir couro a partir de pele. No entanto, há uma vasta utilização desta nomenclatura para a descrição das substâncias polifenólicas capazes não apenas de curtir couro, mas de participar de reações diagnósticas como a precipitação de gelatinas, coloração em sais de ferro e oxidação por permanganato. (WHITE, 1957).

Os taninos ainda podem ser definidos como qualquer composto fenólico que contém hidroxilas e outros grupos apropriados, capazes de formar efetivamente complexos estáveis com proteínas e outras macromoléculas (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004; ASHOK; UPADHYAYA, 2012; GARCÍA et al., 2015; MEDEIROS, 2015). Além desta característica, eles apresentam peso molecular entre 500-3000 Da, são solúveis em água e, conforme sua estrutura química, podem ser classificados em dois grandes grupos denominados hidrolisados, que sofrem fracionamento em seus componentes por ação enzimática da tanase ou de água aquecida e os condensados (proantocianidinas), que apresentam ausência de ação hidrolítica e unidades poliméricas densas (HUMMER; SCHREIER, 2008; OKUDA; ITO, 2011; ARBENZ; AVÉROUS, 2015; SIENIAWSKA; BAJ, 2017).

3.1.1 *Taninos hidrolisados (THs)*

O grupo dos taninos hidrolisados divide-se em dois subgrupos, como apresentado pela Figura 1. Os elagitaninos após sofrerem hidrólise formam ácido elágico, enquanto os galotaninos produzem ácido gálico. A susceptibilidade à hidrólise advém da abundância de ligações de ésteres nestas moléculas que resultam na vulnerabilidade à acidez, alcalinidade e ação enzimática (LOCHAB; SHUKLA; VARMA, 2014).

Figura 1. Taninos hidrolisados e seus produtos de hidrólise.



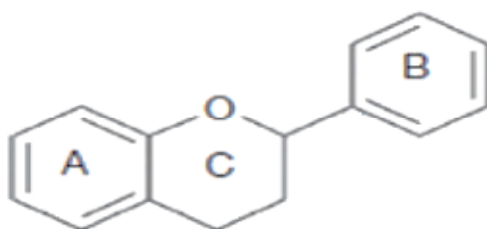
Fonte: Camargo (2009)

Estes polifenóis são encontrados em um grupo menor de vegetais denominados dicotiledôneas, representadas por espécies como carvalho (*Quercus* sp.), castanha (*Castanea* sp.) e eucalipto (*Eucalyptus* sp.). Baixas abundância e nucleoflicidade e a estrutura molecular conferem aos THs baixo potencial de exploração para fins comerciais em comparação aos taninos condensados (GARCÍA et al., 2015).

3.1.2 Taninos condensados (TCs)

Os taninos condensados, também conhecidos como proantocianidinas (PAs), compõem o grupo de oligômeros de polihidroxi-flavan-3-ol que formam polímeros através de ligações C-C entre as subunidades de flavonóides. Estes, por sua vez, apresentam uma estrutura básica do tipo C₆-C₃-C₆ com três anéis, representados pelas letras A, B e C, como mostrado na Figura 2. Os anéis do tipo A, podem assumir a estrutura de um anel aromático risorcinólico (hidroxilas em posição *meta*) ou floroglucinólico (hidroxilas em posição *meta* e *para*), enquanto os anéis do tipo B podem ser identificados como catecol (hidroxilas em posição *orto*) ou pirogallol (hidroxilas em posição *orto* e *meta*) e o anel do tipo C é heterocíclico denominado de núcleo flavânico, responsável pela classificação dos flavonóides. (HUMEMR; SCHREIER, 2008; ARBENZ; AVÉROUS, 2015; SANTOS, 2017).

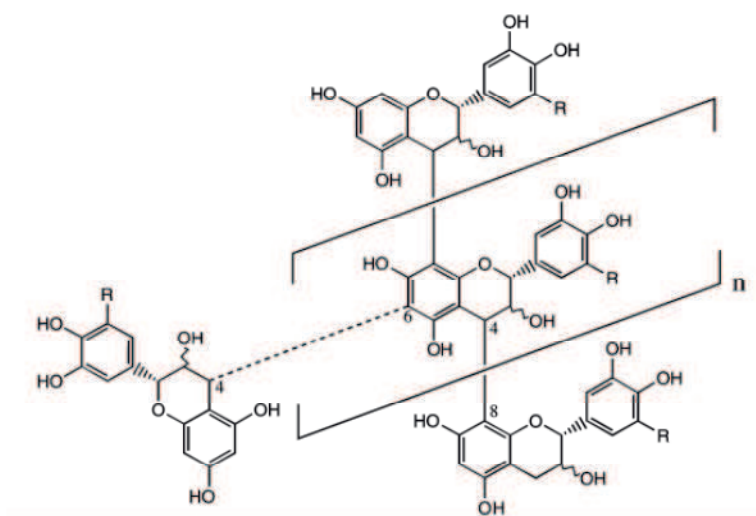
Figura 2. Estrutura básica de um flavonóide.



Fonte: Adaptado de Santos (2017)

O processo de polimerização pode ocorrer por oxidação enzimática ou fermentação, resultando na formação desde dímeros até polímeros com mais de 17 unidades de flavonóides. A condensação ocorre com a ligação interflavanol entre o C4 de uma unidade superior e os carbonos 6 ou 8 de uma unidade inferior, como representada na Figura 3 (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001; CORCORAN; MCKEY; BLUMBERG, 2012; ARBENZ; AVÉROUS, 2015).

Figura 3. Modelo genérico para a estrutura de uma proantocianidina.

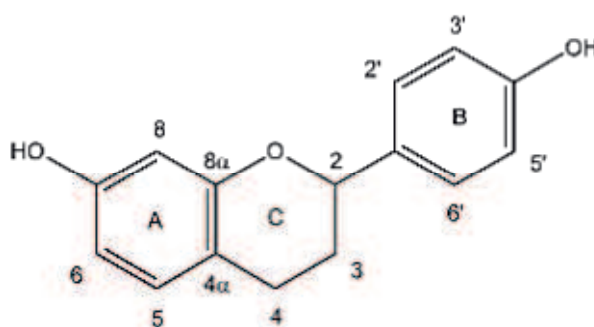


Fonte: Schofield; Mbugua; Pell (2001)

O radical R pode representar um átomo de hidrogênio ou um radical OH originando os diferentes tipos de proantocianidinas. A linha pontilhada representa a ligação glicosídica alternativa $\beta 4 \rightarrow 6$ em detrimento à destacada $\beta 4 \rightarrow 8$.

Normalmente as ligações $\beta_{4\rightarrow6}$ são encontradas em taninos compostos por monômeros de profisetinidinas e prorobinetidinas; e as $\beta_{4\rightarrow8}$, são preponderantes em taninos integrados por procianidinas e prodelfinidinas, as estruturas mais recorrentes dentre as 13 subclasses mais comuns de PAs, resumidas na Tabela 1 de acordo com a as substituições da Figura 4. Estes compostos apresentam alta reatividade e o grande número de hidroxilas fenólicas permite a complexação com proteínas (KHANBABAE; REE, 2001; SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001; OKUDA; ITO, 2011; CORCORAN; MCKEY; BLUMBERG, 2012; ARBENZ; AVÉROUS, 2015).

Figura 4. Monômero genérico de um tanino condensado.



Fonte: Aron; Kennedy (2008)

Tabela 1 – Subclasses de proantocianidinas resultantes da substituição dos radicais indicados na estrutura genérica de um tanino condensado.

Variedades de Proantocianidinas	3	5	8	3'	5'
Procasinidina	H	H	H	H	H
Probutinidina	H	H	H	OH	H
Proapigeninidina	H	OH	H	H	H
Proluteolinidina	H	OH	H	OH	H
Protricetinidina	H	OH	H	OH	OH
Propelargonidina	OH	OH	H	H	H
Procianidina	OH	OH	H	OH	H
Prodelfinidina	OH	OH	H	OH	OH
Proguibourtinidina	OH	H	H	H	H
Profisetinidina	OH	H	H	OH	H
Prorobinetinidina	OH	H	H	OH	OH
Proteracacinidina	OH	H	OH	H	H
Promelacacinidina	OH	H	OH	OH	H

Fonte: Aron; Kennedy (2008)

Cada subclasse resultante apresenta uma composição única dos cinco radicais passíveis de substituição por grupos hidroxila (-OH) ou hidrogênio nos sítios de ligação

indicados pela Figura 4 (ARON; KENNEDY, 2008). Entre elas, as que possuem maior abundância são as procianidinas, resultante da ligação de um anel tipo A fluroglucínico e um catecol do tipo B. Estas são taninos condensados formados por monômeros de (+)-catequina e (-)-epicatequina encontradas em diversas espécies vegetais como nas cascas da *Mimosa tenuiflora* e da *Acacia mearnsii* (MANGRICH et al., 2014; SANTOS, 2017; SIENIAWSKA; BAJ, 2017).

As proantocianidinas apresentam elevada abundância e concentração nas cascas e madeiras de algumas espécies como as leguminosas *Acacia* sp. e *Lotus* sp., coníferas como *Tsuga* sp. e *Pinus* sp., espécies dos manguezais como a *Rizophora* sp. e árvores robustas como o *Schinopsis* sp. Por esta razão, mais de 90% da produção mundial de taninos é composta por PAs, que, em conjunto com a viabilidade econômica e química, perfazem o cenário mais interessante para utilização como biopolímeros em comparação aos taninos hidrolisados (GARCÍA et al., 2015).

Além da ocorrência em vegetais mencionada anteriormente, a existência das PAs em frutas e bebidas, como em cervejas, vinhos, chás e sucos, provoca ação inibitória em proteínas e fibras nos seres humanos e animais não-ruminantes. Por outro lado, os taninos condensados apresentam importância biológica e farmacêutica, a exemplo da inibição de oxidação lipídica, mutagenicidade de agentes cancerígenos e viabilização de tumores, características importantes para a indústria de medicamentos e a medicina (FRAZIER et al., 2010).

3.1.3 Ocorrência dos taninos nos vegetais

A ocorrência e distribuição de taninos variam em concordância com as condições climáticas e geográficas em que a sua fonte está inserida. Estes biopolímeros estão amplamente dispersos tanto em espécies de angiospermas quanto em gimnospermas sendo as dicotiledôneas as mais abundantes (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004). Estes polifenóis concentram-se principalmente no vacúolo das plantas, mas são encontrados também nas raízes, folhas, sementes, nos frutos, na seiva e em cascas de árvores e arbustos, atingindo valores superiores a 35% em espécies como o Quebracho (*Schinopsis lorentzii*) e a Acácia Negra (*Acacia mearnsii*). Além da diferença entre espécies, há também teores de taninos distintos e em partes de um mesmo vegetal, como pode ser visto na Tabela 2 (PIZZI, 2008).

Tabela 2 – Variação nos teores de taninos em diferentes espécies e partes de vegetais.

Vegetal	Produto	Teor de tanino
Abacaxi	{ Folha	0,81%
	{ Caule	0,61%
Sorgo		0,60-2,61 %
Mandioca		0,62-1,11 %
Cajú		0,35-0,72 %
Café (casca)		1,31-2,97 %
Folha de couve flor		0,21 g/100mg
Folha de brocólis		0,325g/ 100mg
Couve		0,290g/ 100mg
Taioba	{ Folhas	1,0g/ 100mg
	{ Limbo	1,17g/ 100mg
	{ Caule	0,82g/ 100mg

Fonte: Battestin; Matsuda; Macedo (2004)

De modo geral em folhas e brotos de árvores encontram-se ambos os tipos de taninos, mas a quantificação particionada de cada polifenol não pode ser precisamente determinada. No entanto, há uma predominância de um dos polímeros de acordo com as espécies (KUMAE; VAITHIYANATHAN, 1990). A Tabela 3 resume as espécies vegetais mais abundantes em taninos condensados.

Tabela 3 – Vegetais arbóreos que apresentam predominância de taninos condensados.

Espécie	Referência
<i>Pinus</i> sp.	GARCÍA et al. (2015)
<i>Schinopsis</i> sp.	AIRES; CARVALHO; SAAVEDRA (2015)
<i>Acacia mearnsii</i>	MANGRICH et al. (2014)
<i>Mimosa tenuiflora</i>	SANTOS, (2017)
<i>Rhizophora</i> sp.	AZEVÊDO et al. (2015)
<i>Eucalyptus</i> sp.	SANTOS, (2017)

Fonte: Própria (2018)

Espécies florestais podem apresentar um teor de taninos condensados entre 2-40% de sua massa seca, especialmente em suas cascas (AZEVEDO et al., 2015). Dentre as árvores e arbustos mais explorados comercialmente, apresentando os percentuais mais altos de taninos em casca destacam-se: o eucalipto (*Eucalyptus astringens*) que possui um percentual de taninos entre 16-35%, os mangues vermelho e branco

(*Rhizophora mangle*) entre 20-30%, a Acácia Negra (*Acacia mearnsii*) com 27-30% e a jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) de 17-25% (SANTOS, 2017).

3.2 A *Mimosa tenuiflora*

Nos períodos pré e pós-colonização portuguesa, a *Mimosa tenuiflora* (Figura 5), popularmente conhecida como jurema-preta, já era utilizada por tribos indígenas e africanas no nordeste brasileiro para produção de uma bebida alucinógena conhecida como “vinho de jurema” ou “ajucá”, preparada com as raízes e cascas do vegetal e utilizada em rituais com a crença de curar fadiga e fortalecimento do útero (SOUZA et al., 2008).

Figura 5 – *Mimosa tenuiflora* adulta em uma mata nativa localizada na caatinga do nordeste paraibano.



Fonte: Própria (2018)

Esta variedade de *Mimosa* parte integrante da família das leguminosas é também encontrada no México, onde o pó de suas cascas é utilizado em aplicação direta como medicamento para tratar feridas e queimaduras e seus extratos alcoólico e aquoso, altamente ricos em taninos, são empregados como antissépticos devido as propriedades antimicrobianas que apresentam contra grupos de bactérias Gram-negativas e leveduras (RIVERA-ARCE et al., 2007).

A *Mimosa tenuiflora* é nativa da Caatinga, possui um porte arbustivo com tronco bifurcado, cresce em média 90 cm/ano, rápido crescimento (principalmente em áreas degradadas), desenvolve-se em solos rasos, apresenta alta resistência à seca e grande potencial para recuperação de solos erodidos, além de funcionar como indicadora de sucessão secundária progressiva (ARAÚJO; LEITE; PAES, 2004; BAKKE et al., 2006).

As proantocianidinas embora estejam distribuídas largamente entre os vegetais, apenas alguns deles possuem potencial para extração de taninos que seja economicamente viável, a exemplo da *Mimosa tenuiflora*, a espécie com a maior densidade florística na região Nordeste do Brasil. Apesar disso, este vegetal é utilizado apenas para produção de energia através da queima da madeira, sendo as cascas descartadas e não aproveitadas para nenhuma finalidade (LOPES et al., 2015; CALEGARI et al., 2016).

3.3 Aplicações de taninos condensados

A utilização pioneira de taninos em escala industrial foi para o curtimento de couro, que é o processo no qual a pele fresca do animal (rica em colágeno) se liga através de pontes de hidrogênios com as moléculas dos polifenóis vegetais, acarretando a precipitação destas proteínas (QUIDEAU et al., 2011). Além da produção de couro, os usos de taninos variam desde composição em agentes de produção de minérios e aditivos de vinho para aplicações farmacêuticas até plastificantes de cimentos e matéria-prima renovável para produção de adesivos novolac e resinas de fenol-formaldeído (resole) (LOCHAB; SHUKLA; VARMA, 2014). Essas aplicações geraram alguns trabalhos de inovação industrial nos últimos 70 anos, como apresentado na Figura 6.

Figura 6 – Aplicação dos taninos condensados dos anos de 1944-2015 representadas pelos códigos de suas propriedades industriais e seus respectivos cessionários.

Patente (ano)	Cessionário	Tipo TCs/palavra-chave
US2354672 (1944)	Resinous Prod & Chem. Co.	TC/resina
US2590760 (1952)	Da Veiga Vinicio	
US3254038 (1966)	Borden Co.	TC/adesivo
US3515556 (1970)	Eastman Kodak Co.	TC/filme fotográfico
US3856845 (1974)	ITT	TCM/eterificação de casca
US3886066 (1975)	E. I. Du Pont De Nemours & Co.	TC/material não-poroso
US4090919 (1978)	Tanabe Seiyaku Co., Ltd	TC/imobilização de proteínas
US4558080 (1985)	Dearborn Chemical Co.	TC/polímeros
US4595736 (1986)	Betzdearborn Inc.	TCM/sistemas aquosos
US4944812 (1988)	Henkel Corporation	TCM/resistência corrosiva
US5134215 (1992)	Nalco Chemical Co.	TCM/cimento modificado
US5158711 (1992)	Mitsubishi Nuclear Fuel Co.	TCM/adsorção
US5270083 (1993)	Ceceo Trading, Inc.	TCM/conservante
US5659002 (1997)	Nalco Chemical Co.	TCM/polímeros de Mannich
US5698601 (1997)	Bayer AG	TC/PU espumas
US5830315 (1998)	Betzdearborn Inc.	TCM/purificação de água
US5912037 (1999)	W. R. Grace & Co., Conn.	TCM/bebidas
US5977287 (1999)	Betzdearborn Inc.	TCM/sistemas aquosos
US6478986 (2002)	Tanac S.A.	TCM/coagulant
WO2004058843 (2004)	Borden Chemical Australia Pty	TC/agente aglutinante
EP1437419A1 (2004)	Tanac S.A.	TC/bioativo
US20060084718 (2006)	Staneliffe Mark R.	TC/aglutinante
WO2008079652A1 (2008)	Gen Electric Co.	TC/coagulantes poliméricos
US7611632 (2009)		TC/copolímeros
US7998351 (2011)	Vinod Kumar Rai	TC/coagulantes
US7998351B2 (2011)		
US20120148740 (2012)	Yang Chia-Wei	TC/resina eposi
WO2012162684A2 (2013)	E.I. Du Pont De Nemours & Co.	TC/espuma rígida
WO2013010668 (2013)	Silvachimica S.R.L., Universite' De Lorraine - Institut Enstib-Lermab	
WO2012162653A3 (2013)	E.I. Du Pont De Nemours & Co.	
US20130252909A1 (2013)	University of Iowa Research Foundation	TC/inibidores de HIV
EP2805 943 A1 (2013)	Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg	TCM/óxido de propileno
US8642088 (2013)	Wiseonsin Alumni Res. Foundation	TC/compostos de quitosana
US20140093720 (2014)	E.I. Du Pont de Nemours & Co.	TC/espuma rígida
EP 2617792 A4 (2015)	Korea Advanced Inst Sci & Tech. Inno Therapy Inc.	TC/adesivos

TC = taninos condensados; TCM = taninos condensados modificados; PU = poliuretano.

Fonte: Adaptado de García et al. (2015)

No decorrer dos anos, o aumento da exploração de taninos condensados e seus processos de modificação promoveram progresso em seus empregos no setor industrial. Em 1992, um aditivo para cimentos a base de vinil grafitado e tanino condensado modificado, utilizado para minimizar perdas de fluidos em poços de petróleo, concebeu a Huddleston; Gabel; Williamson (1992) a patente US5134215. Dez anos depois, uma empresa brasileira expandiu a utilização das proantocianidinas ao ramo do tratamento de águas para abastecimento, através do desenvolvimento de um agente

coagulante/floculante vegetal a base de extrato modificado de cascas da *Acacia mearnsi*, rendendo a Lamb; Decusati (2002) o direito de proteção à propriedade industrial pela concessão da patente US 6478986 B1. Já no ano de 2013, os inventores Kraus; Maury (2013) desenvolvem junto à Fundação de Pesquisa da Universidade de Iowa um tanino modificado empregado como inibidor de eventos iniciais no ciclo de vida do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).

O setor industrial iniciou na década de 70 a procura por fontes renováveis para fornecimento de matéria-prima (polifenóis) na produção de adesivos à base de madeira, como alternativa aos derivados do petróleo (PING et al., 2011; CARNEIRO et al., 2012). Os adesivos são preparados com um extrato concentrado de taninos que serve de ligante alternativo frente aos fenóis de petróleo que reagem com a lignina da madeira (BERTAUD et al., 2012). Um dos problemas desta substituição sustentável resulta na diminuição da resistência do adesivo, problema contornado por uma invenção coreana que utilizou taninos condensados para desenvolver um adesivo não tóxico e que não perde adesão facilmente na presença de umidade ou soluções aquosas, sendo aplicado principalmente em fins médico-farmacêuticos como depósito de sustentação para administração de drogas (LEE et al., 2015).

As inovações nas aplicações de taninos condensados permanecem acontecendo com o avanço da tecnologia e cresce a necessidade de otimização do seu processo de obtenção pelo setor industrial. No ano de 2017, um aprimoramento do coagulante orgânico desenvolvido pela empresa TANAC (2002) fora desenvolvido com sucesso, utilizando como fonte de extração cascas da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) e com redução em mais de cinco vezes no tempo de preparo do coagulante (SANTOS et al., 2017). A busca por fontes novas e custo-benefício são os principais focos da indústria frente à exploração de proantocianidinas.

3.4 Fatores que influenciam a extração de taninos condensados em vegetais

O rendimento da extração de taninos condensados de vegetais sofre influência de fatores diversos, como a idade do vegetal, sua localização geográfica, condições climáticas, sua espécie, a parte dele utilizada (raiz, folhas, cascas, etc.) e sua granulometria. Desse modo, é extremamente difícil a obtenção de um sistema de

extração que apresente uniformidade e eficiência no preparo de extratos com espécies diferentes ou até mesmo iguais, sendo as condições de extração a serem definidas específicas para a aplicação do material (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004; PIZZI, 2008; ARBENZ; AVÉROUS, 2015).

Os processos extrativos não garantem a exclusividade de obtenção apenas das proantocianidinas. Embora elas constituam maior percentual do extrato, outros compostos como açúcares, aminoácidos, gomas e pectinas, também são removidos da fonte vegetal e, somado à elevada dificuldade de isolamento dos compostos tânicos, ocasiona declínio da qualidade do produto bruto obtido. Por esta razão, existem vários métodos de extração para taninos condensados e cada variável agregada influencia diretamente na qualidade final dos taninos, se fazendo necessária a execução de um plano de otimização para a produção dos extratos com as propriedades adequadas para cada matriz e finalidade (DERKYI, 2010; LOPES et al.; 2015; CALEGARI et al., 2016).

As principais variáveis que influenciam a extração de taninos condensados são o solvente, o pH, a temperatura, pressão, a razão mássica solvente/matéria-prima e o tempo do processo (DERKYI, 2010; SIENIAWSKA; BAJ, 2017). Existem ainda métodos de extração que utilizam a aplicação de dióxido de carbono supercrítico, ou que são assistidos por micro-ondas/ultrassom, técnicas que se tornam inviáveis do ponto de vista industrial (SIENIAWSKA; BAJ, 2017).

Na esfera industrial da extração de proantocianidinas em cascas, normalmente utiliza-se água como solvente, em uma faixa de temperatura entre 50-110°C, à justificativa de que para temperaturas mais elevadas não há favorecimento da extração de materiais tânicos, e sim sua modificação estrutural, e uma pressão máxima de 80 MPa. Sob estas condições, o rendimento médio de extração atinge percentuais entre 60-65%, embora seja demonstrado que a adição de solventes orgânicos e soluções ácidas podem elevar esta média (ARBENZ; AVÉROUS, 2015; GARCÍA et al., 2015; AIRES; CARVALHO; SAAVEDRA, 2015). Neste cenário, o processo extrativo demanda maior tempo e volumes grandiosos de substância tóxicas, sendo de grande relevância avaliar também, antes da determinação final das variáveis de extração, aspectos como segurança, efeitos que o solvente poderá provocar no operador e no ambiente e seus limites residuais, possibilidade de reciclagem e sustentabilidade financeira. Por esta

razão, a água é considerada como o melhor solvente extrator, uma vez que apresenta baixo custo, boa acessibilidade para extração de matrizes orgânicas e não é tóxica (ÇAM; AABY, 2010; CARNEIRO et al.; 2012).

É importante ressaltar que a extração pode ocorrer com o vegetal fresco, congelado ou seco, sendo que a secagem aeróbia provoca decréscimo na quantidade de taninos livres e o congelamento é o melhor método de preservação da massa molar das proantocianidinas (ARBENZ; AVÉROUS, 2015). Visando a minimização da degradação das amostras, pode-se promover o processo extrativo sob atmosfera de nitrogênio (anaeróbia) e na ausência de luz, eliminando fatores que promovem oxidação. Além disso, o uso de centrífugas ocorre com a finalidade de garantir o contato contínuo entre o material e o solvente (HUMMER; SCHREIER, 2008; BINDON et al., 2014). Vale salientar que para extrações em escala industrial esses métodos tornam-se inviáveis devido ao alto-custo agregado.

A composição do líquido de extração (solvente + sais inorgânicos/antioxidantes) é um dos fatores mais importantes na extração de taninos condensados, visto que o processo de remoção destes compostos baseia-se primordialmente no binômio polaridade/solubilidade. Com o objetivo de minorar deterioração, adiciona-se antioxidantes no solvente de extração como alternativa aos ensaios com preservação da amostra de fatores extrínsecos como luz e oxigênio. (HUMMER; SCHREIER, 2008). São utilizados antioxidantes e alcalinizantes aquosos como o sulfito de sódio (Na_2SO_3), hidróxido de sódio (NaOH), carbonato de sódio (NaCO_3), dissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) e bissulfito de sódio (NaHSO_3) em concentrações entre 0-8%. No geral, há uma tendência de diminuição na concentração de taninos com a elevação do teor do sal e diminuição do tempo de extração normalmente utilizado entre 1-3 horas (SOUSA, 2015; AIRES; CARVALHO; SAAVEDRA, 2015).

3.5 Otimização de processos

Os processos de fabricação a nível industrial dispõem de uma série de fatores (variáveis independentes) e níveis de regulagens que afetam diretamente a qualidade dos produtos. Um dos maiores problemas enfrentados pelas empresas é o fato de que muitos destes fatores precisam ser avaliados simultaneamente aos seus níveis de regulagem e o número de testes aumenta com a quantidade de variáveis que estão

presentes no processo. Por esta razão, a experimentação nas empresas se torna inviável, já que custo e tempo de execução são elevados (GALDÁMEZ, 2002).

A qualidade no século XXI deve sofrer mudanças para tornar-se mais inovadora, flexível e rápida na elaboração de soluções. Para tal, conceitos estatísticos assumiram papéis importantes nas empresas/indústrias, que os transformaram em ferramentas quantitativas de qualidade, como é o caso dos Seis Sigma (6σ), Análise de Variância – ANOVA, Projeto de Experimentos, o CEP – Controle Estatístico de Processos e a Metodologia de Superfície de Resposta – MSR (GALDÁMEZ, 2002).

Entre estas ferramentas, o projeto de experimentos com utilização da ANOVA e Metodologia da Superfície de Resposta como ferramentas primárias para análise estatística de seus dados representam uma das formas mais acuradas de alcançar os padrões de fatores críticos como flexibilidade e velocidade de produção. Este conjunto de técnica de planejamento e análise de experimentos possui o objetivo de melhorar as características da qualidade de produtos ou processos fabris, reduzir o número de testes, otimizar os recursos da empresa, tempo de produção, avaliar materiais alternativos e formular novos produtos (GALDÁMEZ, 2002; MONTGOMERY, 2013).

Estes planejamentos podem ser realizados antes da fabricação de um novo produto ou mesmo de algum existente com o objetivo de otimizar o processo. A otimização consiste na aplicação de um planejamento experimental em um produto/processo que já possui a caracterização dos seus pontos críticos de processo e fatores e níveis de regulação bem definidos, visando então encontrar em que condições estes resultam nos valores mais desejáveis quanto a qualidade e produtividade (MONTGOMERY, 2013).

Nas indústrias os tipos de planejamento mais utilizados são os fatoriais completo e composto central, uma vez que propiciam o estudo de vários fatores em dois ou mais níveis, assim bem como a interação entre eles. Quando o número de experimentos a serem realizados é aceitável e passível de realização sem grandes dificuldades, o planejamento fatorial 2^k é o mais indicado; se o número de ensaios não possibilita uma realização igualitária de experimentação para todos os ensaios, utiliza-se um planejamento fatorial do tipo 2^k em blocos, que divide o conjunto de tratamento em subconjuntos, analisados individualmente; e se há muitas variáveis para analisar, é

comum o uso do planejamento fatorial 2^k fracionário, em que apenas um subconjunto do fatorial completo é de fato executado (MONTGOMERY, 2013).

Em um planejamento fatorial 2^k o “dois” refere-se aos níveis de regulação, uma faixa de valores baixo e alto (-1 e +1, respectivamente) que delimitam o intervalo a ser avaliado; o “k” é o número de variáveis independentes ou fatores de controle, simbolizadas normalmente por X e correspondem aos parâmetros utilizados no processo, passíveis de sofrer alterações e avaliações de influência; os resultados obtidos são analisados por uma análise de variância (ANOVA) e pelo Método de Superfície de Resposta (MSR), que descreve os comportamentos e interações entre os fatores para alcançar os melhores resultados (GALDÁMEZ, 2002; MONTGOMERY, 2013).

O foco deste trabalho é a avaliação da extração de proantocianidinas das cascas de *Mimosa tenuiflora* por meio da aplicação de um planejamento fatorial 2^3 com repetições nos pontos centrais, que são utilizados para diminuir o erro experimental. A matriz genérica deste planejamento está representada na Tabela 4.

Tabela 4 – Matriz experimental genérica com valores codificados para um planejamento fatorial 2^3 com três repetições no ponto central.

Nº do teste	X ₁	X ₂	X ₃	Resposta (Y)
01	-1	-1	-1	Y ₁
02	1	-1	-1	Y ₂
03	-1	1	-1	Y ₃
04	1	1	-1	Y ₄
05	-1	-1	1	Y ₅
06	1	-1	1	Y ₆
07	-1	1	1	Y ₇
08	1	1	1	Y ₈
09	0	0	0	Y ₉
10	0	0	0	Y ₁₀
11	0	0	0	Y ₁₁

Fonte: Própria (2018)

Na Tabela 4, as colunas correspondem aos valores das variáveis independentes (X) e dependentes (Y); e as linhas dispõem as diferentes combinações de fatores e níveis. Sendo +1 o valor codificado referente ao nível alto e -1 ao nível baixo. A composição da matriz é realizada da seguinte forma:

- A coluna X₁ apresenta composição alternada dos níveis, ou seja, -1, +1, -1, +1,

-1, +1, -1, +1.

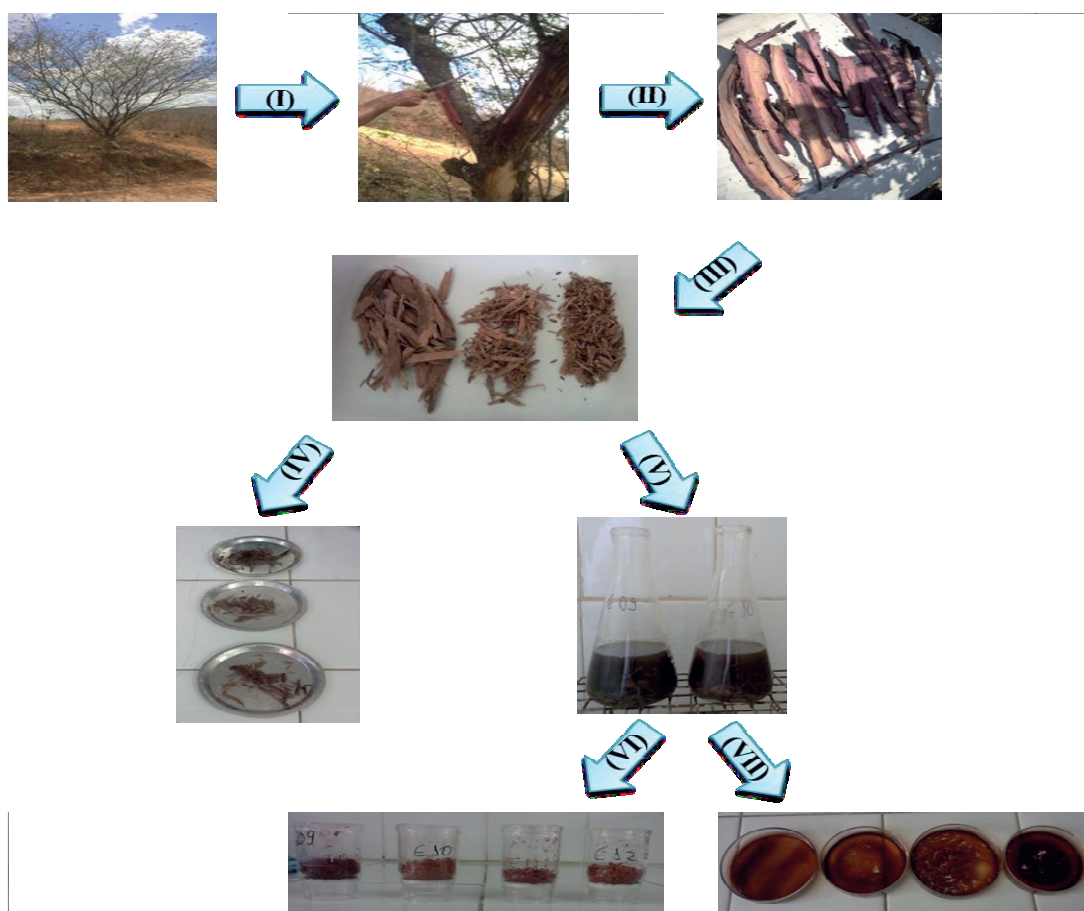
- A coluna X_2 apresenta composição alternada aos pares dos níveis, ou seja, -1, -1, +1, +1, -1, -1, +1, +1.
- A coluna X_3 apresenta composição de repetições em série dos níveis dividindo-os igualmente, ou seja, -1, -1, -1, -1, +1, +1, +1 +1.
- As repetições são simbolizadas pelo zero em todos os níveis, pois são valores idênticos e intermediários para todos os ensaios, ou seja, os pontos centrais.

4. METODOLOGIA

4.1 Coleta e processamento do material

A obtenção do extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora* foi realizada em concordância com as etapas resumidas no fluxograma da Figura 7.

Figura 7 – Etapas do trabalho para obtenção e caracterização dos extratos das cascas de *Mimosa tenuiflora*



(I) Coleta das cascas de jurema-preta; (II) secagem do material; (III) moagem do material; (IV) teor de umidade das cascas; (V) preparação dos extratos; (VI) análise de taninos condensados pelo método de Stiasny; e (VII) análise de sólidos totais.

A coleta das cascas de duas árvores adultas de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) foi realizada com auxílio de um facão, em uma mata nativa localizada no Sítio Gavião, na cidade de Fagundes, Paraíba, especificamente em janeiro de 2018.

Aproximadamente 1,5 kg de cascas foram obtidos dos troncos de duas árvores da espécie *Mimosa tenuiflora*. O material bruto coletado foi seco ao ar livre até atingir um teor de umidade próximo a 13% (de base seca) e só então foi submetido a um moinho de facas para diminuição de sua granulometria. O tamanho das cascas utilizadas para a extração foi determinado por meio de peneiras, sendo utilizada a parte que ficou retida na peneira de tela de 60 mesh (0,250 mm). Por fim, o material foi armazenado a temperatura ambiente em um local arejado e escuro.

4.1.1 Teor de umidade

O teor de umidade das cascas da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) foi determinado através de uma balança por infravermelho, modelo ID200- Determinador de umidade 200 g – Marte, localizada no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA) da Universidade Estadual da Paraíba.

4.2 Extração do material tânico

Um planejamento fatorial completo 2^3 com três pontos centrais foi executado visando avaliar não só a melhor condição de extração, mas também a influência das variáveis tempo, concentração de solvente e razão mássica casca/água neste processo e as suas interações. Somando os oito pontos fatoriais com três pontos centrais, foram realizados um total de 11 experimentos.

A escolha das faixas de valores utilizados para cada variável foi fundamentada em dados de pesquisas de Azevêdo et al. (2015), Lopes et al. (2015), Aires; Carvalho; Saavedra (2015) e Santos (2017) sobre extração de taninos das cascas de diversas espécies. Os valores codificados das variáveis independentes e seus respectivos valores reais estão resumidos na Tabela 5.

Tabela 5 – Fatores e níveis codificados avaliadas na extração.

VARIÁVEIS	NÍVEIS		
	-1	0	+1
Solvente (% m/m)	0	1,5	3
Tempo (min)	60	90	120
Casca: água (g/mL)	1:15	1:10	1:5

Fonte: Própria (2018)

O percentual do solvente refere-se ao líquido de extração, seguindo as seguintes composições:

- 0% - Apenas água destilada.
- 1,5% - Solução de Sulfito de Sódio (Na_2SO_3) a 1,5% (m/m) em relação à massa de casca utilizada.
- 3% - Solução de Sulfito de Sódio (Na_2SO_3) a 3% (m/m) em relação à massa de casca utilizada.

Estas variáveis foram avaliadas pelo *software* STATISTICA (*Statsoft* versão 7.0) e as respostas analisadas foram o Índice de Stiasny (IS), que reflete o grau de pureza do extrato e o Teor de Taninos Condensados (TTC). A Tabela 6 apresenta o delineamento experimental.

Tabela 6. Matriz experimental dos ensaios de extração variando o tempo (X_t), a concentração de solvente (X_c), e a razão mássica casca/água (X_r).

ENSAIO	X_t	X_r	X_c
01	60	1:15	0
02	120	1:15	0
03	60	1:5	0
04	120	1:5	0
05	60	1:15	3
06	120	1:15	3
07	60	1:5	3
08	120	1:5	3
09	90	1:10	1,5
10	90	1:10	1,5
11	90	1:10	1,5

Fonte: Própria (2018)

Todos os ensaios de extração foram realizados em autoclave, com um volume fixo de 150mL de água destilada, a uma temperatura de 100°C e à pressão atmosférica. Após o processo de extração, o material obtido foi filtrado a vácuo em um cadinho de vidro sinterizado com porosidade 2 e então separado para caracterização pelo método de Stiasny.

4.3 Caracterização dos extratos tânicos pelo método de Stiasny

A caracterização dos teores extrativos obtidos para as cascas da *Mimosa tenuiflora* em cada ensaio foi realizada segundo a metodologia descrita em Santos (2017), através do método de Stiasny, que explora a capacidade dos taninos condensados em complexarem com o formaldeído em meio ácido (PING et al., 2011; MEDEIROS, 2015). A avaliação da melhor condição de extração foi determinada pelo tratamento que apresentou o maior grau de pureza (IS elevados) e Teor de Taninos Condensados no extrato.

4.3.1 Determinação do Teor de Sólidos Totais (TST)

O teor de sólidos totais foi realizado apenas para possibilitar o cálculo do IS, mas não participa da avaliação das variáveis respostas. Para cada tratamento, uma alíquota de 25mL do filtrado foi colocada em uma placa de *Petri* previamente tratada e de massa conhecida sob condições de aquecimento. O líquido foi encaminhado para a estufa, onde ficou submetido à secagem a uma temperatura de por $50 \pm 3^\circ\text{C}$ aproximadamente 20 horas e em seguida, à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ até peso constante. O cálculo para determinação de TST foi realizado de acordo com a Equação (I).

$$\text{TST} = (M_f / M_i) \times 100 \quad (\text{I})$$

Em que: TST é o teor de sólidos totais; M_f é a massa anidra, em gramas, do resíduo extrapolado para o volume total de solução; e M_i é a massa inicial, em gramas, da amostra utilizada na extração.

4.3.2 Determinação do Índice de Stiasny (IS) e Teor de Taninos Condensados (TCC)

A determinação de ambas as variáveis dependentes, IS e TCC, ocorre através da indução de uma reação de precipitação dos taninos condensados com formaldeído em meio ácido. Uma alíquota de 50mL do filtrado de cada tratamento foi separada e colocada em um balão de fundo chato com capacidade de 500mL, onde foram adicionados 10mL de formaldeído a 37% e 5mL de ácido clorídrico concentrado. O balão com a mistura foi acoplado a um condensador com refluxo e ficou em aquecimento a 100°C durante 30 minutos. Um complexo insolúvel foi formado e separado por filtração a vácuo, empregando-se um cadinho de vidro sinterizado de porosidade 2, previamente temperado e de massa definida. O resíduo coletado no

cadinho foi deixado na estufa por 20 horas a $50 \pm 3^\circ\text{C}$ e em seguida à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ até peso constante.

O Índice de Stiasny é calculado pela Equação (II):

$$\mathbf{IS = (M_t / M_f) \times 100} \quad \mathbf{(II)}$$

Em que: IS é o Índice de Stiasny; M_t é a massa anidra de taninos, extrapolada para o volume total da solução; e M_f é a massa dos sólidos totais, em gramas, extrapolada para o volume total de solução. Segundo a Equação (III), o Teor de Taninos Condensados é dado por:

$$\mathbf{TTC = (TST \cdot IS) / 100} \quad \mathbf{(III)}$$

Em que: TTC é o Teor de Taninos Condensados; TST é o teor de sólidos totais; e IS é o Índice de Stiasny.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teor de umidade

Após secagem e moagem das cascas de jurema-preta, o teste para leitura do teor de umidade foi realizado em triplicata, como mostrado na Figura 8. A média resultou em um valor de $12,8 \pm 0,2\%$, satisfatório para o progresso da extração, como pode ser verificado por Lopes et al. (2015) os quais descrevem que teores de umidade altos correspondem a menores rendimentos de taninos condensados, uma vez que parte da massa de cascas utilizada corresponde à água, sendo teores entre 8-15% os mais indicados.

Figura 8. Amostras utilizadas na determinação do teor de umidade das cascas de *Mimosa tenuiflora*.

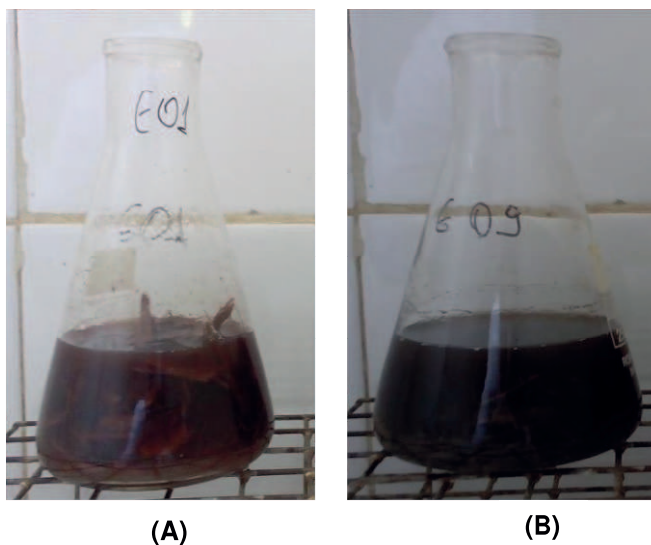


5.2 Extratos tânicos

Os ensaios de extração apresentaram características de coloração, formação de espuma e padrões de secagem que variaram com a composição do líquido de extração.

Os extratos que continham sulfito de sódio em sua composição apresentaram cores semelhantes ao preto, enquanto os ensaios com água, tons de marrom-avermelhado. Esta diferença, que pode ser notada na Figura 9, é ocasionada possivelmente pela mudança de polaridade do solvente na extração que facilita a remoção de mais compostos além dos taninos condensados das cascas da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*).

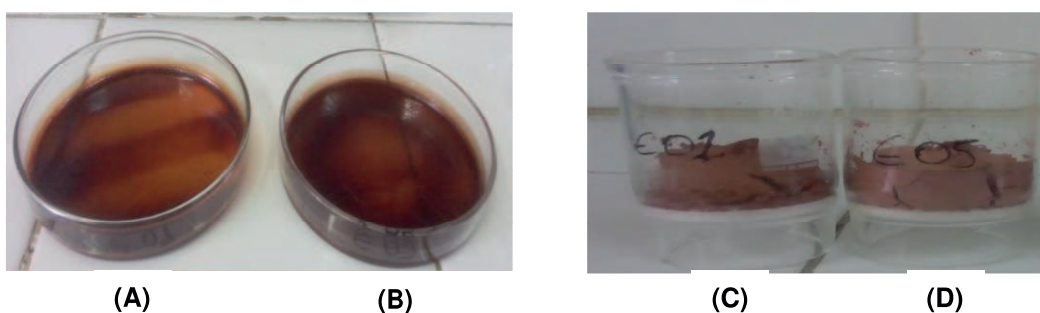
Figura 9 – Coloração dos ensaios extrativos.



(A) - Ensaio 01 preparado na ausência de sulfito de sódio; (B) - ensaio 09 preparado na presença de sulfito de sódio.

Apesar da distinta coloração entre os extratos, as análises de sólidos totais e taninos condensados demonstraram que há uma consistência na coloração marrom-avermelhado do extrato em si para todos os ensaios e o escurecimento ocasionado pelo sal no líquido de extração bruto é consequência da alta concentração dos compostos extraídos, como pode ser verificado na Figura 10.

Figura 10 – Variações de coloração dos resíduos de sólidos totais e taninos condensados.



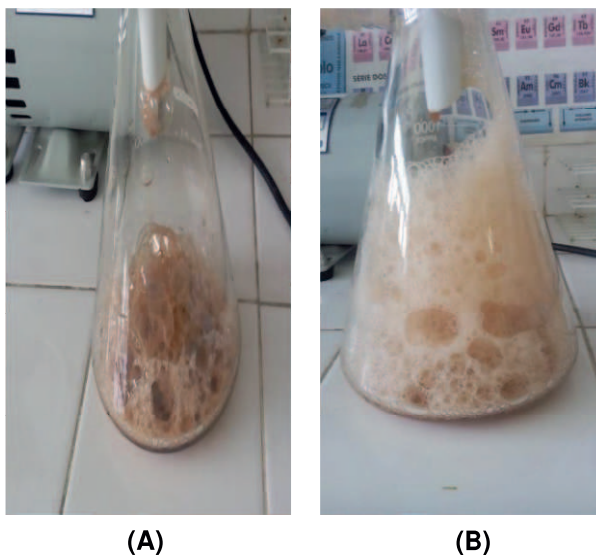
(A) - análise de sólidos totais (ST) ao ensaio 01 com água; (B) - ST no extrato 05 com sal; (C) - análise taninos condensados (TC) no ensaio 01 em meio aquoso; e (D) - TC do extrato 05 em meio salino.

Além da coloração, os resíduos de taninos condensados apresentaram também diferenças em suas densidades e características de sólidos quando os experimentos foram realizados com adição do sulfito de sódio. Azevêdo et al. (2015) utilizam taninos

condensados para produção de adesivos e descrevem que a presença do sal provoca aumento na viscosidade do extrato que, ao entrar em contato com o formaldeído, endurece e forma um sólido gelatinoso. Isso sugere que a semelhança entre o processo de produção de adesivos e a reação de Stiasny (utilizada para determinação do Teor de Taninos Condensados) pode ser a razão para as distinções entre os sólidos de TCs extraídos com água ou em meio salino.

Outra característica observada nos ensaios foi a presença de espuma, conforme Figura 11. Em extratos aquosos ela é menos densa e com bolhas muito maiores enquanto na presença do Na_2SO_3 ocorre o oposto. De acordo com Sosa; Navarro; Castejón (2010) e Barreto; Bonilla (2017) durante o processo de extração com vegetais, glicosídeos, que também são metabólitos secundários de plantas vascularizadas, são extraídos em conjunto com os taninos e flavonóides por serem solúveis em água. As “saponinas”, como são conhecidas, provocam a formação de espuma e esta característica é intensificada pela adição do sal, uma vez que este melhora o desempenho da extração.

Figura 11 – Produção de espuma nos extratos tânicos.



(A) - Ensaio 04 representando os extratos preparados na ausência do sal; e (B) - Ensaio 06 representando os extratos preparados na presença de Na_2SO_3 .

Esta é uma propriedade dos extratos importante de ser avaliada a nível industrial, pois a quantidade de espuma formada provoca diminuição no rendimento do extrato líquido, que é a parte utilizada diretamente como matéria-prima. À exemplo deste fato,

o ensaio 08, que possui todas as variáveis em seus níveis máximos, precisou ser executado duas vezes, uma vez que na primeira o preparo de 150mL de extrato viabilizou a recuperação de apenas 50mL, impossibilitando a realização das análises de sólidos totais e taninos condensados.

A princípio, as extrações contendo sal seriam realizadas com seu percentual m/v em relação à quantidade de água e a secagem ocorreria em estufa a 50°C por um período de 20 horas, aproximadamente. No entanto, foi observado que a esta concentração, mesmo a uma temperatura relativamente baixa, os sólidos totais e os taninos condensados sofreram queima e perda de massa. Na Figura 12 (A) tem-se um ensaio com sulfito de sódio em % (m/v) queimado (superfície fosca) após secagem na análise de sólidos totais e na Figura 12 (B), seu resíduo de tanino condensado preto e despedaçado, após dilatar a temperatura ambiente. Nota-se a diferença entre os resíduos, sendo o vermelho de um extrato com água.

Por isto, uma adaptação foi realizada e todos os experimentos refeitos.

Figura 12 – Resultados negativos nos experimentos iniciais.



A concentração do sal passou a ser contabilizada em percentual m/m em relação à quantidade de casca (diminuição em cerca de 88% na quantidade de sal) e a secagem seguiu o procedimento inicial com a adição de mais uma etapa monitorada a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ até peso constante. Esta modificação na concentração apresentou grande importância quando avaliada em escala industrial não só pela diminuição significativa na quantidade de reagente utilizada, mas também pelo cuidado na secagem de quem pretende preparar

o extrato e armazená-lo na forma sólida, sem danificá-lo por queima ou diminuir seu rendimento.

5.3 Análise estatística do planejamento fatorial completo

O planejamento fatorial 2^3 com três repetições no ponto central, descrito na seção 4.2 determinou a melhor condição de extração em relação a duas variáveis dependentes, o Teor de Taninos Condensados (TTC) e o Índice de Stiasny (IS). Cada ensaio conteve uma condição única de extração, variando o tempo (X_t), a composição do solvente (X_c) e a razão mássica casca/água (X_r), utilizando uma temperatura fixa de 100°C e volume constante de 150mL de água destilada na composição do líquido extrator. Todos os resultados obtidos encontram-se listados na Tabela 7.

Tabela 7 – Teores de Taninos Condensados (TTC) e Índice de Stiasny (IS) para os extratos provenientes das cascas da *Mimosa tenuiflora*.

ENSAIO	X_t (min)	X_r (m/v)	X_c (% m/m)	TCC	IS
01	60 (-)	1/15 (-)	0 (-)	17,89	94,41
02	120 (+)	1/15 (-)	0 (-)	26,17	92,28
03	60 (-)	1/5 (+)	0 (-)	17,09	90,68
04	120 (+)	1/5 (+)	0 (-)	23,30	89,35
05	60 (-)	1/15 (-)	3 (+)	27,51	83,60
06	120 (+)	1/15 (-)	3 (+)	30,62	78,40
07	60 (-)	1/5 (+)	3 (+)	29,67	81,45
08	120 (+)	1/5 (+)	3 (+)	31,68	76,21
09	91 (0)	1/10 (0)	1,5 (0)	25,40	85,94
10	92 (0)	1/10 (0)	1,5 (0)	25,72	85,73
11	93 (0)	1/10 (0)	1,5 (0)	25,56	86,02

Fonte: Própria (2018)

Em acordo com a composição descrita para cada experimento da Tabela 7, os ensaios variaram os Teores de Taninos Condensados entre 17,09 – 31,68% e o Índice de Stiasny de 76,21 a 94,41%. Os experimentos que utilizaram apenas água em sua composição obtiveram os maiores percentuais de pureza, enquanto aqueles com sal, os maiores percentuais de taninos condensados. A consequência da presença de Na_2SO_3 é a obtenção de TTCs mais altos, enquanto facilita também a extração de outros sólidos, afetando a pureza do extrato, ou seja, menores IS.

O Teor de Taninos Condensados obtidos no ensaio 02 foi de 26,17%, enquanto Santos (2017) sob as mesmas condições obteve 24,45%; Paes et al. (2006) e Azevêdo et

al. (2015) utilizando uma proporção mássica de 1:20, obtiveram valores máximos de 17,74% e 21,09%; respectivamente. Esta diferença entre os valores refletem a influência de fatores extrínsecos, como clima e geografia em relação ao material coletado, mesmo sendo advindo de uma mesma espécie e do impacto causado por uma diferença muito pequena na quantidade de cascas utilizadas.

Quando se compara espécies diferentes de vegetais, a discrepância entre os valores de TTC são muito mais elevadas. No mesmo trabalho desenvolvido por Paes et al. (2006), a extração de taninos da jurema-vermelha atingiu um teor de 18,11%, enquanto o trabalho de Sousa (2015), sob as mesmas condições do ensaio 02 (Tabela 7), foi extraído 9,93% de taninos condensados da *Anadenanthera peregrina* (Angico) e 6,35% da *Tachigali aurea*; enquanto sob as condições do ensaio 06, alcançou percentuais iguais a 18,36% para o Angico e 9,58% para a Tachigali. Estes valores demonstram a importância de avaliar todas as variáveis que influenciam o processo de extração, desde a espécie até os fatores independentes (temperatura, tempo, concentração de solvente, etc.). Todavia, como descrito em Calegari et al. (2016), todas as plantas que possuem Teores de Taninos Condensados acima de 10% em relação à massa seca são consideradas como economicamente viáveis para exploração e esses resultados reafirmam o potencial de exploração de TCs da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*).

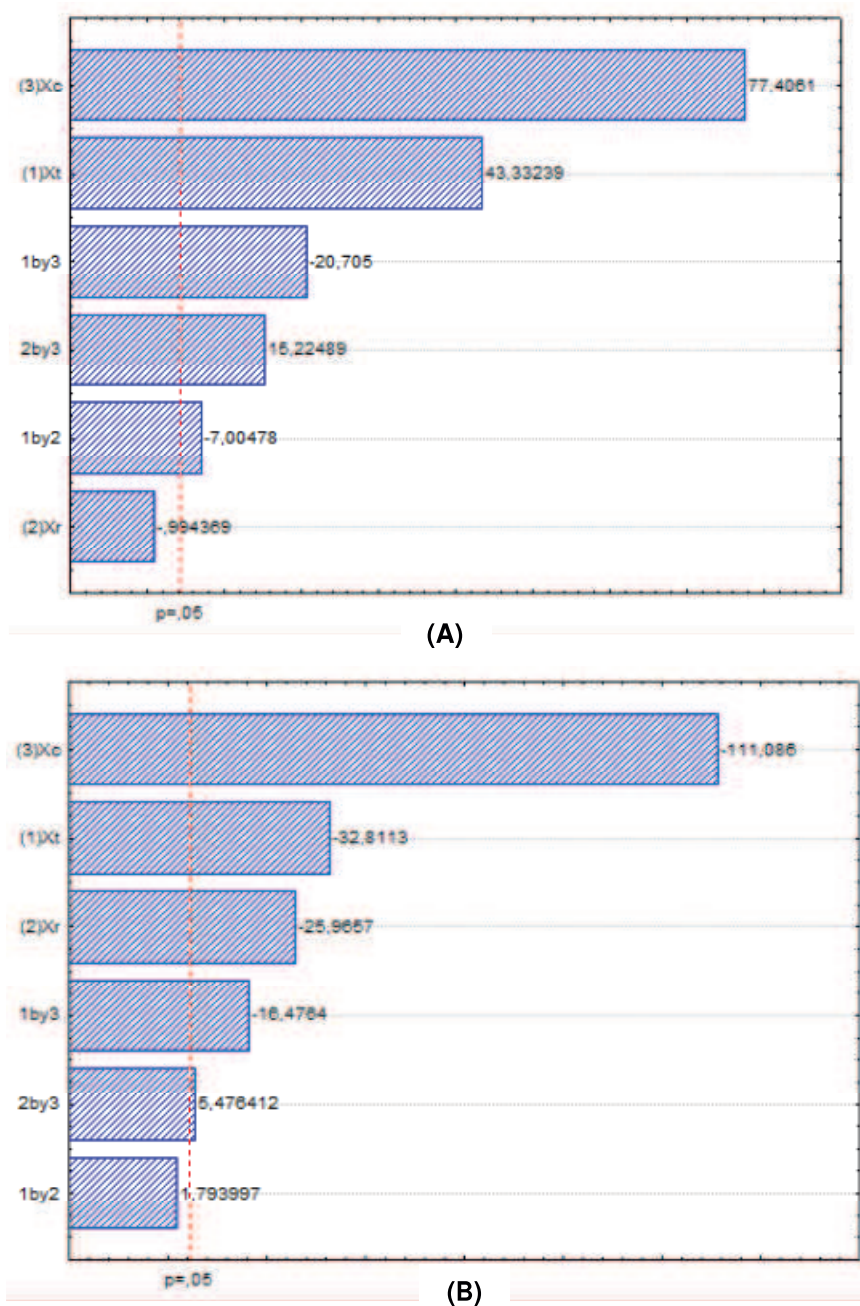
O Índice de Stiasny está relacionado com a reatividade específica dos taninos condensados com o formaldeído, a formação de complexos insolúveis - resinas de fenol-formaldeído - e o grau de pureza deles no extrato (HOONG et al., 2010; KASSIM; HUSSIN, 2011; CHUPIN et al., 2013). Neste trabalho esse parâmetro apresentou um valor mínimo acima de 70% em todos os ensaios, o que indica um resultado satisfatório para todo o planejamento devido a diminuta presença de compostos não-tânicos.

O melhor extrato tânico obtido em termos de altos Teores de Taninos Condensados e pureza, e, portanto, de bom uso para qualquer finalidade industrial é o descrito pelo ensaio 02, com um tempo de extração de 2 horas, proporção mássica 1:15 e apenas água como solvente, condições idênticas às encontradas no trabalho de Santos (2017).

5.3.1 Diagrama de Pareto

Os efeitos individuais das variáveis independentes (tempo, razão mássica casca/água e concentração do solvente) foram analisados através do Diagrama de Pareto (Figura 13), que auxilia na identificação da relevância destes fatores e suas interações sobre as variáveis dependentes (TTC e IS) dentro de um intervalo de confiança de 95%.

Figura 13 – Diagramas de Pareto descrevendo a influência e significância individual de cada variável independente e suas interações para (A) TTC e (B) IS.



Para o Teor de Taninos Condensados, Figura 13 (A), apenas a razão mássica casca/solvente (X_r) não apresentou relevância para os dados. O fator mais importante

para o aumento do TTC na extração foi a concentração do solvente (X_c) seguido do tempo de extração (X_t), sendo os sinais positivos em ambos os fatores um indicativo de que estes precisam ser mantidos em seus níveis altos para a otimização do processo em relação ao TTC. Estes resultados sugerem que o aumento, tanto da temperatura quanto da concentração do solvente, auxilia na melhoria da extração de taninos condensados.

Para Índice de Stiasny, por sua vez, ilustrado na Figura 13 (B), a interação tempo com razão mássica casca/água foi a única não significativa para os dados. Da mesma forma que para o TTC, a concentração do solvente e o tempo, nesta ordem, foram os fatores que mais influenciaram no processo. No entanto, opostamente ao Teor de Taninos Condensados, para otimizar o processo com respeito ao número de Stiasny, X_c e X_t devem ser mantidos em seus níveis baixos. Assim sendo, a diminuição das duas variáveis sugere um beneficiamento no aumento da pureza dos extratos.

Diante disso, é possível sugerir que embora o tempo de extração e a concentração do solvente aumentem e extraiam mais taninos condensados, este cenário facilita também a extração de outros compostos não-tânicos que reduzem a pureza do extrato e, conseqüentemente, o Índice de Stiasny, trazendo o comportamento oposto entre as respostas.

A relevância da razão mássica apenas para o IS é dado muito importante para o processo de extração na visão industrial. Se o objetivo do preparo do extrato fosse apenas remover a maior quantidade possível de taninos condensados das cascas da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), o aumento da quantidade de material utilizados na extração não traria resultados satisfatórios, e uma menor quantidade de cascas poderia produzir um extrato com teor de taninos semelhantes, como pode ser visto nos resultados dos ensaios 02 e 04 (ver Tabela 7), que apresentam o mesmo tempo e composição de solvente, diferindo apenas na razão mássica. O ensaio 02, com TTC de 26,17%, utilizou apenas 10g de casca, enquanto o ensaio 04 com TTC de 23,30% utilizou o triplo da quantidade de matriz. Assim sendo, a remoção de taninos condensados não foi afetada significativamente pelo aumento na quantidade de cascas e, neste mesmo cenário, o Índice de Stiasny no experimento 02 é mais elevado que o 04, pois a utilização de uma menor quantidade de cascas dificulta a extração de outros componentes da casca, elevando a pureza do extrato. Este resultado configura um ganho econômico considerável para o setor industrial já que extrair com três vezes menos

material resulta em um extrato com TTC quase constante e com melhor índice de pureza.

5.3.2 Análise de Variância (ANOVA)

As variáveis independentes foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA) para avaliação estatística de validação e predição de modelos matemáticos com limite de confiança de 95%. Como pode ser visto na Tabela 8, para ambas as respostas o modelo foi significativo já que o $F_{\text{tabelado}} < F_{\text{calculado}}$. Observou-se também que as variáveis apresentaram coeficientes de correlação (R^2) acima de 0,90 para ambas variáveis resposta, representando que mais de 90% dos dados podem ser explicados pelos modelos gerados e, por consequência, o bom ajuste deste aos dados.

Tabela 8 – Análise de Variância para as variáveis TTC e IS na extração de taninos condensados das cascas de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*).

Variáveis Dependentes	R^2	Ajuste	F_{cal}	F_{tab}	Teste F
TTC	0,92	0,88	25,63	3,70	6,90
IS	0,98	0,96	105,53	3,70	28,50

Fonte: Própria (2018)

Além disso, os dados foram submetidos à análise de regressão linear múltipla e os modelos matemáticos gerados para o Teor de Taninos Condensados e o Índice de Stiasny estão representados na Tabela 9, pelas Equações (IV) e (V), respectivamente.

Tabela 9 – Modelos matemáticos gerados por regressão linear múltipla para TTC e IS em função dos fatores tempo (X_t), razão mássica casca/água (X_r) e concentração de solvente (X_c).

Equação	Modelo matemático gerado
(IV)	TTC: $25,51 + 2,45X_t - 0,06X_r + 4,38X_c - 0,39X_tX_r - 1,17X_tX_c + 0,86X_rX_c$
(V)	IS: $85,82 - 1,74X_t - 1,37X_r - 5,88X_c + 0,09X_tX_r - 0,87X_tX_c + 0,29X_rX_c$

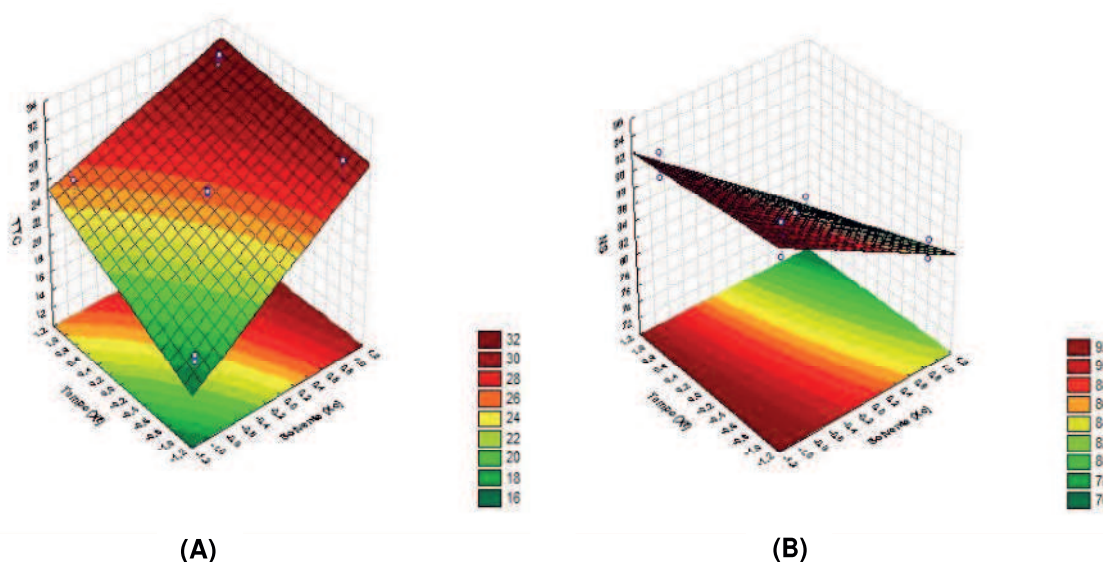
Fonte: Própria (2018)

5.3.3 Metodologia de Superfície de Resposta

A Metodologia de Superfície de Resposta (do inglês, *Response Surface Methodology* ou RSM) é uma técnica matemática e estatística de modelagem gráfica para análise do modo como o comportamento de vários fatores afetam as variáveis respostas de modo a otimizá-la (GALDÁMEZ, 2002; MONTGOMERY, 2013).

O Teor de Taninos Condensados não sofreu influências da variável razão mássica casca/água (X_r) tornando a análise RSM inviável para modelagem gráfica envolvendo este fator. Dessa forma, apenas as variáveis concentração de solvente (X_c) e tempo (X_t) foram avaliadas e o resultado está ilustrado na Figura 14 (A). Observa-se que o maior rendimento de TTC alcançado, representado pela área vermelha mais escura, ocorre quando há um aumento simultâneo de ambos fatores. Examinado a Tabela 7 este cenário descreve exatamente os ensaios 06 e 08, que utilizaram os níveis mais altos para estas duas variáveis independentes, como sugerido também pelo diagrama de Pareto na Figura 13 (A), concedendo os maiores TTCs entre os pontos fatoriais, com valores de 30,62% e 31,68%; respectivamente.

Figura 14 – Superfície de Resposta para (A) Teor de Taninos Condensados e (B) Índice de Stiasny em função de (X_c e X_t).



A Figura 14 (B) apresenta o gráfico de superfície do Índice de Stiasny para a concentração do solvente e o tempo de extração. Como já demonstrado pelas tendências do gráfico de Pareto (Figura 13(B)), IS em função de X_c e X_t apresenta o comportamento oposto aos Teores de Taninos Condensados. Observando a Figura 14 (B), a região de maior relevância desta variável resposta ocorre com a diminuição tanto da concentração quanto do tempo. Este fato pode ser observado pela Tabela 7, nos mesmos ensaios, 06 e 08. Estes experimentos, que apresentaram os maiores Teores de Taninos Condensados, possuem também os menores Índices de Stiasny dentre os pontos fatoriais, 78,40% e 76,21%; respectivamente.

Os comportamentos em relação à concentração do sal apresentados pelas Figuras 14 (A) e (B) são antagônicos por uma mesma razão. A adição de sulfito de sódio (Na_2SO_3), processo conhecido como sulfitação, provoca expansão dos sítios hidrofílicos dos taninos, como explicado por Sousa (2015), beneficiando maior extração dos mesmos (TTCs mais altos). No entanto, promove simultaneamente a elevação da polaridade do líquido de extração, induzindo a remoção de outros compostos também solúveis e, por consequência, aumentando a quantidade de materiais não-tânicos no extrato bruto. Por essa razão, a pureza diminui e o Índice de Stiasny apresenta valores reduzidos.

O trabalho de Aires; Carvalho; Saavedra (2015), que desenvolveram o processo de otimização para extração de taninos condensados em peles de *Castanea sativa*, utilizou o Na_2SO_3 em concentrações entre 0-8% demonstrou que para 0% e 1%, a extração de taninos condensados foi máxima, enquanto o aumento para 2% provocou um decréscimo de três vezes na quantidade de taninos extraídos e a partir de 4%, os níveis já se mostraram indetectáveis. Diante disso, é possível afirmar que o aumento na quantidade de sal, embora modifique a estrutura dos TCs para uma melhoria na extração, não garante o aumento nos teores extrativos desses compostos, sendo necessário encontrar uma quantidade adequada, otimizando não apenas a extração, mas controlando o custo do processo em escala industrial.

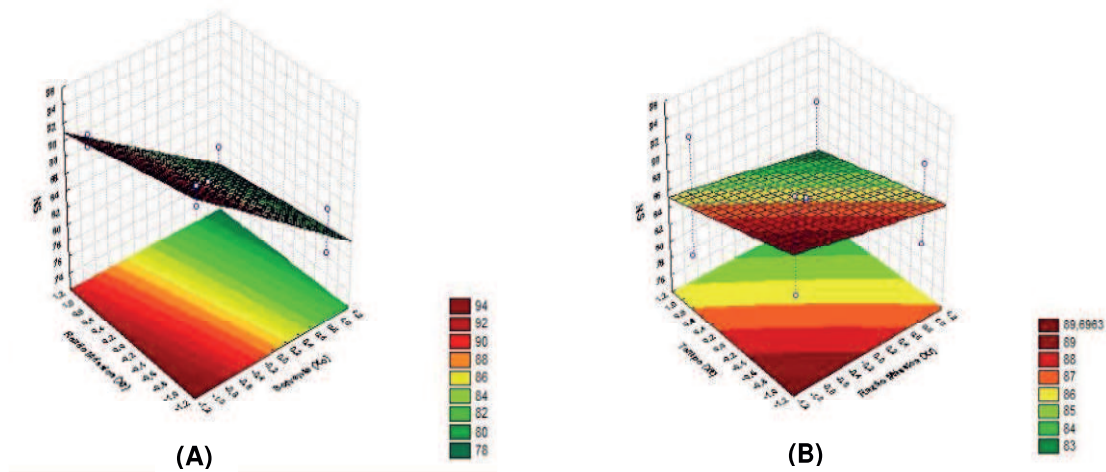
Da mesma forma que para a concentração de solvente, o tempo apresenta um comportamento divergente entre o TTC e o IS, sendo o primeiro beneficiado com seu aumento e o segundo, com a sua diminuição. A elevação do Teor de Taninos Condensados com o aumento do tempo é baseada no contato matriz/solvente por maiores períodos, que facilita sua extração. No entanto, o uso de temperaturas elevadas, como a utilizada neste trabalho (100°C), limitam os valores para esta variável, pois extrações por tempos prolongados, normalmente acima de 120 min, elevam a exposição do extrato ao oxigênio arriscando promover oxidação dos compostos fenólicos ou ainda a extração de enzimas dos tecidos vegetais capazes de destruí-los, como é explicado na pesquisa de Chew et al. (2011) e Lopes et al. (2015).

Existem trabalhos, como os apresentados por Sousa (2015), Aires; Carvalho; Saavedra (2015) e Calegari et al. (2016) em que utilizam tempos superiores a 4h para o processo de extração, mas que no entanto utilizam de temperaturas máximas de 85°C .

Este é um resultado de alta relevância para a projeção em escala industrial, visto que muita energia pode ser economizada no processo, além dos aprendizados sobre a preservação do extrato em relação a estas variáveis. Já para o Índice de Stiasny, que demanda a diminuição do tempo para melhores resultados desta variável resposta, é afetado por altas temperaturas por longos períodos pois beneficiam a extração de outros compostos indesejáveis, como gomas, pectinas e hemiceluloses; e podem provocar hidrólise dos fenóis, como é explicado por Lopes et al. (2015), diminuindo a razão tânico/não-tânicos e, por consequência, a pureza (IS) do extrato.

Na Figura 15 (A), tem-se, por sua vez, a análise de influência dos fatores concentração do solvente e razão mássica casca/água. A região de otimização é atingida à medida que se tem a diminuição conjunta dos dois fatores, reafirmando as previsões dos gráficos de Pareto para a manutenção de seus níveis baixos. Ao se analisar a Tabela 7, nota-se não apenas que todos os ensaios que utilizaram apenas água como solvente possuem seus IS superiores aos que utilizaram sal, assim bem como as maiores purezas foram alcançadas pelos ensaios 01 e 02, que apresentam ambos fatores em nível baixo, com valores de 94,41% e 92,28%, respectivamente.

Figura 15 – Superfícies de Resposta para o Índice de Stiasny (A) em função de (X_c e X_r) e (B) em função de (X_r e X_t).



Já a análise das variáveis X_r e X_t , representada pela Figura 15 (B), possuiu comportamento análogo ao observado para X_c e X_r . Neste caso é possível perceber que a melhor condição para beneficiar o IS é a diminuição dos fatores razão mássica casca/água e tempo, também previsto pelo diagrama de Pareto na seção 5.3.2. Na

Tabela 7 de resultados do planejamento fatorial, vê-se que este comportamento é representado pelos ensaios 01 (utilizando água como solvente) e 05 (na presença de sulfito de sódio), em que ambos os fatores encontram-se em seus níveis baixos e apresentam os maiores Índices de Stiasny entre os pontos fatoriais de acordo com o solvente.

A pureza do extrato, que como foi demonstrado pelas Figuras 15 (A) e (B), que aumenta com o decréscimo destas três variáveis (X_c , X_r , e X_t), pode ser justificada pela descrição encontrada em Chew et al. (2011) e Lopes et al. (2015). Os autores afirmam que, a partir de 3 horas de processo, a extração não apresenta mais mudanças significativas nos Teores de Taninos Condensados, uma vez que o equilíbrio entre o líquido e o material de extração se estabelece. Desse modo, o aumento da razão mássica não beneficia a remoção de TCs no extrato, já que o estado de equilíbrio funciona como fator limitante para a solubilidade destas moléculas no solvente, mantendo a parte tânica representada no Índice de Stiasny praticamente constante.

Por outro lado, como a temperatura utilizada é moderadamente elevada, outros compostos podem ser removidos apenas por auxílio da exposição ao calor, aumentando assim a porção não-tânica do IS, e, por consequência, diminuindo-o. Além disso, a sulfitação provoca um aumento na extração de taninos condensados mesmo com o aumento nas cascas, mas também extrai espécies indesejadas e afeta o Índice de Stiasny negativamente, como pode ser visto em conjunto pelo gráfico MSR da Figura 15 (A) e os resultados do IS nos ensaios 02 e 04 (Tabela 7) em que, na presença apenas de água, a diminuição da razão mássica não só extraiu mais taninos, como também assegurou uma maior pureza (IS superior) do extrato e entre os ensaios 05 e 07, que utilizaram sal, apesar de a diminuição da razão mássica provocar redução no TTC, assegurou o aumento da pureza.

Estes resultados também mostra que as indústrias podem, utilizando menos matriz, alcançar resultados igualmente satisfatórios de qualidade de taninos condensados e ainda economizar nos custos do processo com a matéria-prima.

6. CONCLUSÕES

Em conformidade com os resultados obtidos, o ensaio 02 apresentou as melhores condições em termos de custo-benefício e qualidade no preparo dos extratos, sendo observado que longos tempos associados à presença de sulfito de sódio forneceram maiores rendimentos de Teores de Taninos Condensados, porém o sal beneficiou a extração conjunta de compostos não tânicos, diminuindo, conseqüentemente, o grau de pureza.

Por meio do método de Stiasny foi possível atestar que a espécie *Mimosa tenuiflora* apresenta potencial para extração de taninos condensados em escala industrial.

Deve-se ressaltar que a variável razão mássica não foi significativa para o Teor de Taninos Condensados e que o seu aumento afetou negativamente o Índice de Stiasny, resultando em extratos com menor pureza. De acordo com o planejamento fatorial 2^3 com três repetições no ponto central deste processo, foi possível avaliar todos os fatores e suas interações influentes na extração.

Por fim, foi visto que apenas a quantidade necessária de tempo, concentração de solvente e razão mássica resultam em um material com alto Teor de Taninos Condensados e eleva pureza, simultaneamente, sendo inviável a manipulação aleatória das variáveis deste processo.

REFERÊNCIAS

- AIRES, A.; CARVALHO, R.; SAAVEDRA, M. J. Valorization of solid wastes from chestnut industry processing: Extraction and optimization of polyphenols, tannins and ellagitannins and its potential for adhesives, cosmetic and pharmaceutical industry. *Waste Management*, v. 48, p. 457 – 464, 2015.
- ARAÚJO, L. V. C.; LEITE, J. A. N.; PAES, J. B. Estimativa da produção de biomassa de um povoamento de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret. Com cinco anos de idade. *Biomassa e Energia*, v. 1, n. 4, p. 347 –352, 2004.
- ARBENZ, A.; AVÉROUS, L. Chemical modification of tannins to elaborate aromatic biobased macromolecular architectures. *Green Chemistry*, v. 17, n. 5, p. 2626 – 2646, 2015.
- ARON, P. M.; KENNEDY, J. A. Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Journal of Nutrition and Food Research*, v. 52, n.1, p. 79 – 104, 2008.
- ASHOK, P. K.; UPADHYAYA, K. Tannins are Astringent. *Journal of Pharmacognosy and Photochemistry*, v. 1, n. 3, p. 45-50, 2012.
- AZEVÊDO, T. K. B. et al. Qualidade dos taninos de jurema-preta (*Mimosa Tenuiflora*) para a produção de adesivo tanino formaldeído. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 507 – 514, Junho 2015. ISSN 0103-9954.
- BAKKE, I. A. et al. Regeneração natural de jurema-preta em áreas sob pastejo de bovinos. *Revista Caatinga*, v. 19, n. 3, p. 228 – 235, Setembro 2006.
- BARRETO, D.; BONILLA, P. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa). *Ciencia e Investigación*, v. 20, n. 1, p. 3 –8, Setembro 2017. ISSN 1609-9044.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. *Brazilian Journal of Food and Nutrition*, Araraquara, v. 15, n. 1, p. 63 – 72, 2004.
- BERTAUD, F. et al. Development of green adhesives for fibreboard manufacturing, using tannins and lignin from pulp mill residues. *Cellulose Chemistry and Technology*, v. 46, n. 7 – 8, p. 449 – 455, 2012.
- BINDON, K. A. et al. Factors affecting skin tannin extractability in ripening grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 5, p. 1130 – 1141, 2014.
- CALEGARI, L. et al. Quantificação de taninos nas cascas de jurema-preta e acácia-negra. *Brazilian Journal of Forestry Research*, Colombo, v. 36, n. 85, p. 61 – 69, 2016.
- ÇAM, M.; AABY, K. Optimization of Extraction of Apple Pomace Phenolics with Water by Response Surface Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n.16, p. 9103 – 9111, 2010.

- CAMARGO, F. A. Obtenção e caracterização das blendas de ligninas (sulfonadas, bagaço da cana de açúcar e eucalipto) e taninos com poli(3-hidroxi-butarato-3-hidroxi-valerato)/PHBV. 2009. 115 p. Tese (Engenharia Química) — Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- CARNEIRO, A. C. O. et al. Parâmetros cinéticos de adesivos produzidos a partir de taninos de *Anadenanthera peregrina* e *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, v. 36, n. 4, p. 767 – 775, 2012.
- CORCORAN, M. P.; MCKEY, D. L.; BLUMBERG, J. B. Flavonoids Basics: Chemistry, Sources, Mechanisms of Action, and Safety. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, v. 31, n. 3, p. 176 – 189, 2012.
- CHEW, K. K. et al. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. *International Food Research Journal*, Selangor, v. 18, n. 2, p. 571-578, 2011.
- CHUPIN, L. et al. Characterisation of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannin extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. *Industrial Crops and Products*, n. 49, p. 893 – 903, 2013.
- DERKYI, N. S. A. *Optimization of Polyphenols Extraction Using Response Surface Methodology and Application of Near Infrared Spectroscopy to Phenolic Content Analysis of Pine Bark*. 2010. 193 p. Tese (Chemical Engineering) — Faculty of Chemical and Materials Engineering, Kabwe, 2010.
- FRAZIER, R. A. et al. Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 51, n. 2, p. 490 – 495, 2010.
- GALDÁMEZ, E. V. C. *Aplicação das técnicas de planejamento de análise de experimentos na melhoria da qualidade de um processo de fabricação de produtos plásticos*. 2002. 121 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade São Paulo, São Carlos, 2002.
- GARCÍA, D. E. et al. Modification of condensed tannins: from polyphenol chemistry to materials engineering. *New Journal of Chemistry*, v. 40, n. 1, p. 36 – 49, 2015.
- HOONG, Y. B. et al. Characterization of Acacia mangium polyflavonoid tannins by MALDI-TOF mass spectrometry and CP-MAS C13 NMR. *European Polymer Journal*, n. 46, p. 1268 – 1277, 2010.
- HUDDLESTON, D. A.; GABEL, R. K.; WILLIAMSON, C. D. *Method for reducing fluid loss from oilfield cement slurries using vinyl graphited wattle tannin*. United States: [19], 1992. Patent number: US5134215.
- HUMMER, W.; SCHREIER, P. Analysis of Proanthocyanidins. *Molecular Nutrition and Food Research*, v. 52, n. 12, p. 1381 – 1398, 2008.
- KASSIM, J. N.; HUSSIN, M. H. Determination of total phenol, condensed tannin and flavonoid contents and antioxidant activity of *Uncaria gambir* extracts. *Majalah Farmasi Indonesia*, v. 1, n. 22, p. 50 – 59, 2011.

- KHANBABAE, K.; REE, T. V. Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports Journal*, v. 18, n. 6, p. 641 – 649, 2001.
- KRAUS, G. A.; MAURY, W. *Tannin inhibitors of HIV*. United States: [s.n.], 2013. Patent Number: US 2013/0252909 A1.
- KUMAE, R.; VAITHIYANATHAN, S. Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, v. 30, n. 1-2, p. 21 – 38, 1990.
- LAMB, L. H.; DECUSATI, O. G. *Manufacturing process for quaternary ammonium tannate, a vegetable coagulant/flocculating agent*. United States: [s.n.], 2002. Patent number: US 6478986 B1.
- LEE, H. et al. *Adhesive composition comprising tannin, polyethylene glycol, and water, lower alcohol or thereof*. France: [11], 2015. Patent Number: EP 2 617 792 A2.
- LOCHAB, B.; SHUKLA, S.; VARMA, I. K. Naturally occurring phenolic sources: monomers and polymers. *Journal of Royal Society of Chemistry Advances*, v. 4, n. 42, p. 21712 – 21752, 2014.
- LOPES, P. J. G. et al. Produtividade em cascas e taninos condensados de jurema-preta. *Nativa*, v. 3, n. 2, p. 95 – 101, Junho 2015. ISSN 2318-7670. 2015.
- MANGRICH, A. S. et al. Química verde no tratamento de águas: uso de coagulante derivado do tanino de *Acacia Mearnsii*. *Revista Virtual de Química*, Curitiba, v. 6, n. 1, p. 2 – 15, julho 2014.
- MEDEIROS, J. X. *Quantificação de substâncias tânicas em Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan, Mimosa tenuiflora (Willd) Poir e Acacia mearnsii De Wild. Utilizando distintas metodologias*. 2015. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2015.
- MONTGOMERY, D. C. *Design and analysis of experiments*. 8. ed. [S.l.]: Wiley, 2013.
- OKUDA, T.; ITO, H. Tannins of constant structure in medicinal and food plants – hydrolysable tannins polyphenols related tannins. *Molecules*, v. 16, n. 3, p. 2191 – 2217, 2011.
- PAES, J. B. et al. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no Semi-Árido brasileiro. *Cerne*, v. 12, n. 3, p. 232 – 238, 2006.
- PING, L. et al. Extraction of condensed tannins from grapes pomace for use as wood adhesives. *Industrial Crops and Products*, v. 33, n. 1, p. 253 – 257, 2011.
- PIZZI, A. *Tannins: Major Sources, Properties and Applications*. In Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources. 1. ed. Oxford: Elsevier, 2008. v. 1, p. 179 – 199.
- QUIDEAU, S. et al. Plant polyphenols: Chemical properties, Biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 50, n. 3, p. 586 – 621, 2011.

- RIVERA-ARCE, E. et al. Therapeutic effectiveness of a *Mimosa tenuiflora* cortex extract in venous leg ulceration treatment. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, n. 3, p. 523 – 528, 2007.
- SANTOS, A. N. *Desenvolvimento de um coagulante orgânico catiônico preparado com extrato de Mimosa tenuiflora para tratamento de água*. 2017. 65 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.
- SANTOS, A. N. et al. *Biocoagulante a base de extrato de Mimosa tenuiflora para tratamento de águas e efluentes industriais*, 2017. Categoria: Produto e Processo. Instituição onde foi depositada: INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial. País: Brasil. Natureza: Patente de Invenção. Número do registro: BR1020170139913. Data de depósito: 28/06/2017. Depositante/Titular: Universidade Estadual da Paraíba.
- SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: a review. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, v. 91, n. 1, p. 21 – 40, 2001.
- SIENIAWSKA, E.; BAJ, T. *Tannins*. In: Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy. 1. ed. Academic Press: Elsevier, 2017. v. 1, cap. 10.
- SOSA, E. H.; NAVARRO, B. A.; CASTEJÓN, Y. M. Estudio de estabilidad fisico-química e identificación fitoquímica de extractos etanólicos de *Trichilia hirta* (meliaceae). *Revista Cubana de Química*, v. 12, n. 1, p. 22 – 26, 2010. ISSN 0258-5995.
- SOUSA, T. B. *O uso de taninos de espécies florestais no tratamento de água para abastecimento*. 2015. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- SOUZA, R. S. O. et al. Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora* [Willd.] Poir.): a Review of its traditional use, phytochemistry and pharmacology. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 51, n. 5, p. 937 – 947, Outubro 2008.
- WHITE, T. Tannin : Their Occurrence and Significance. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 8, n. 238, p. 377 – 385, 1957.