



## Obtenção de taninos a partir do extrato hidroalcoólico de folhas e flores de *Lippia alba*

Aline Poyer<sup>1</sup> Leticia Schaefer<sup>2</sup> Sirlei Dias Teixeira<sup>3</sup>  
Raquel Dalla Costa da Rocha<sup>4</sup>

07 abr. 2015

Resumo – A planta *Lippia alba* é um arbusto aromático comumente conhecida como erva-cidreira, é amplamente estudada entre os gêneros *Lippia* devido as suas propriedades medicinais. Busca-se conhecer a química do metabolismo de plantas devido a vasta quantidade de estruturas químicas encontradas em seus constituintes orgânicos. Dentre os metabólitos, estão os flavonoides, compostos polifenólicos, que agregam várias classes de metabólitos, entre eles os taninos. Taninos são compostos amplamente distribuídos entre as plantas, são largamente utilizados em indústrias de curtimento de couro, indústrias farmacêuticas, e ainda são utilizados como floculantes ou coagulantes. Em função de sua estrutura química, os taninos são classificados em hidrolisáveis - possuem ligações ésteres passíveis de sofrerem hidrólise, e em taninos condensados, que são moléculas mais resistentes a fragmentação, e apresentam estrutura polimérica. Objetivando a obtenção de taninos das folhas e flores de *Lippia alba*, foram feitos testes qualitativos com solventes e concentrações diferentes, a fim de averiguar qual o melhor solvente para obter resultados significativos. Os resultados obtidos a partir das extrações e da utilização dos métodos de quantificação são considerados bons resultados se levado em consideração que a maioria dos estudos realizados sobre a planta *L. alba* possuem resultados muito próximos dos obtidos neste trabalho, sabendo-se que a melhor resposta obtida foi com o sistema de solvente 6:4 (álcool:água) da folha, sendo que o primeiro dia foi o de melhor rendimento em teor de taninos condensados através das metodologias utilizadas.

Palavras-chave: plantas. metabólitos. reação de Stiasny.

### 1. INTRODUÇÃO

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

Os taninos são substâncias com sabor adstringente, amplamente distribuído entre as plantas, favorecendo a sua proteção contra ataques de fungos, bactérias, vírus e ainda contra herbívoros em geral, são compostos conhecidos por apresentarem gosto amargo, odor repulsivo, e ainda por sua alta

1 aline\_poyer@hotmail.com, UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

2 UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

3 UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

4 UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.



capacidade de causar intoxicações em animais. São compostos fenólicos solúveis em água, com peso molecular entre 500 e 3.000 u.m.a. e podem ser extraídos de várias espécies florestais (AMORIM et al., 2005).

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

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

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

Ganha destaque sendo a mais estudada dentre o gênero *Lippia*, segundo Gomes (2011) estas plantas possuem incontáveis propriedades medicinais. Possui propriedades sedativas, melhora a qualidade do sono, podendo ser utilizada como antidepressivo, analgésico e antiespasmódico.

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

Sobre o estudo de plantas, Lewinsohn (2005) estima-se que a biota conhecida no Brasil está entre 170 e 210 mil espécies, representando cerca de 9,5% da

biota mundial.

Os produtos naturais são muito utilizados em diferentes indústrias, estas fontes estão disponíveis abundantemente, oferecendo assim muitas possibilidades de se encontrar substâncias com diferentes interesses.

O estudo foi feito com a planta *L. alba* que é uma espécie de planta medicinal amplamente encontrada e possui cerca de 175 gêneros e 2800 espécies, distribuídas especialmente em climas tropicais e subtropicais do hemisfério sul.

*L. alba* é um subarbusto que possui ramos finos, longos, arqueados e esbranquiçados. Suas folhas são inteiras, de cerca de 3 a 6 cm de comprimento, e suas flores são azul-arroxeadas de eixo curto e tamanho variável, como demonstrada na Figura 1



Figura 01 – Imagem da planta *Lippia alba*. Fonte: <<http://planetasustentavel.abril.com.br/blog/biodiversa/files/2013/08/Lippia-alba.jpg>> Aces-sado em : 22 de jul. 2014

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

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



taninos.

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

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

Os flavonoides se constituem em um grupo de grande distribuição na natureza. São grupos de compostos polifenólicos e esta classe possui vários estudos importantes, dentre as quais, a principal é a de possuir ação antioxidante (SIMÕES et al., 2010). Os compostos tânicos são estudados dentro da classe dos flavonoides e podem ser amplamente encontrados em plantas e vegetais, ocorrendo nas raízes, nas folhas, casca, flores, sementes e na seiva e também são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e outros produtos vegetais. A adstringência ocorre devido à precipitação de glicoproteínas salivares, levando à perda do poder lubrificante, Bruneton (1991 apud CASTEJON, 2011, p. 4).

Os taninos são compostos fenólicos, e reagem facilmente formando ligações de hidrogênio, intra e intermoleculares, Monteiro et al. (2005 apud CASTEJON, 2011, p. 4). Estes compostos oxidam facilmente, tanto por enzimas vegetais específicas

quanto por influência de metais, como por exemplo, o cloreto férrico, o qual ocasiona o escurecimento de suas soluções, Mello e Santos (2001 apud CASTEJON, 2011, p. 5).

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

Dentro do grupo dos taninos, existem os hidrolisáveis que são quase que restritos às espécies Choripetalae das dicotiledôneas e os taninos condensados, que estão distribuídos amplamente em plantas lenhosas (SIMÕES et al., 2010).

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

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

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

Os taninos hidrolisáveis possuem ligações ésteres como demonstrado na Figura 2, essas ligações são passíveis de sofrerem hidrólise por ácidos ou enzimas,



como demonstrado nos métodos, em solução eles desenvolvem coloração azul com cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ). Este grupo de taninos pode ser encontrado em elevadas concentrações principalmente em madeiras, cascas de árvores, galhos e folhas (MULLER-HARVEY, 2001 apud BERNARDES et al., 2011).

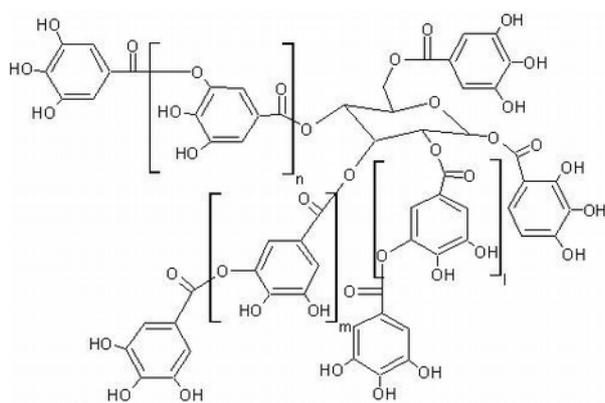


Figura 02 – Estrutura de tanino hidrolisável.

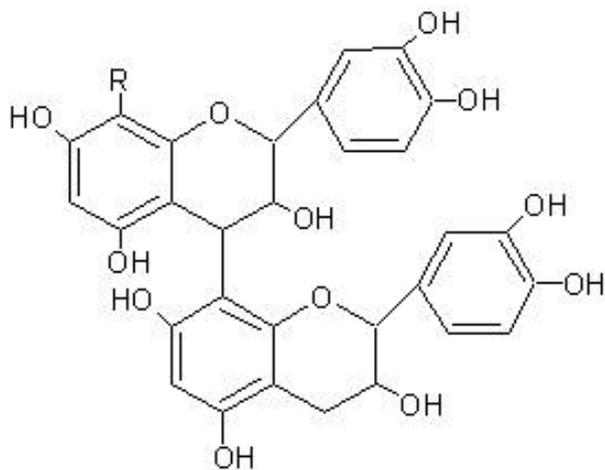


Figura 03 – Estrutura do tanino con-densado fla-van-3-ol.

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

Os taninos condensados podem ser encontrados em

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

Os taninos condensados, sob tratamento com ácidos tendem a se polimerizar em substâncias vermelhas que são insolúveis, chamadas de flobafenos. Em solução, reagindo com  $\text{FeCl}_3$ , desenvolvem uma coloração verde, assim como o catecol (SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, 2009).

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

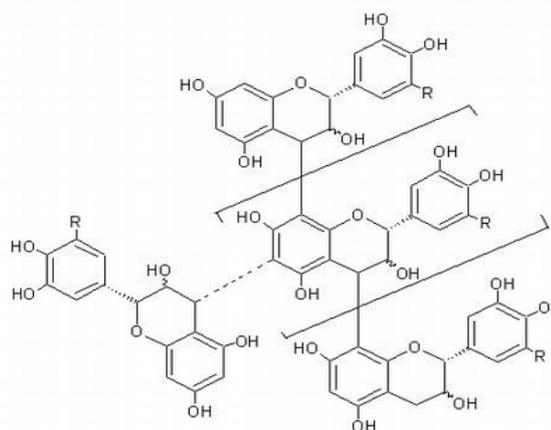


Figura 04 – Modelo de estrutura dos taninos condensados

Conforme Figura 4 é representando a estrutura de um determinado tipo de tanino condensado, ressaltando que o esqueleto destes são estruturas flavonoídicas,



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

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

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

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

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

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

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

temperaturas e pressões baixas.

Alguns estudos além de utilizarem a extração com água quente, para melhorar a extração fazem uso de sais como, sulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ), carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) e metabissulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) (PAES, 2013), contudo, fala-se que o solvente mais utilizado na extração de tanino é a acetona a 70% em meio aquoso, contendo 0,1% de ácido ascórbico, devido a acetona ser o mais eficiente solvente para a extração de proantocianidinas e o ácido ascórbico é adicionado à solução para prevenir a oxidação dos taninos durante a extração, JONES et al. (1976 apud BEELEN et al., 2008, p. 9).

Porém para este estudo foram utilizadas flores e folhas da planta *L. alba* e para escolha do método de extração, foram feitos estudos preliminares utilizando testes qualitativos com diversos tipos de solventes em diferentes concentrações. Levou-se em conta também, que um dos principais métodos para identificação, tanto de hidrolisáveis como de condensados, é o de Stiasny, onde sua reação é descrita conforme Equação 1.



Esse método consiste em se utilizar uma combinação de ácido clorídrico concentrado e formaldeído (1:2).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção do material vegetal

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

### 2.2. Obtenção dos extratos

Para o desenvolvimento da CCD foi utilizada placa Os extratos foram obtidos através de uma mistura



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

### 2.3. Preparo de soluções para os testes

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

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

### 2.4. Reação de Stiasny

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

### 2.5. Testes de detecção

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

Já no método para a detecção de taninos hidrolisáveis, foi utilizado 10 mL do filtrado da reação feita anteriormente, sendo acrescentado 5 g de

acetato de sódio e algumas gotas de FeCl<sub>3</sub> a 1% em metanol. Quando a coloração azul era observada, considerava-se como indicação de que a reação teve resultado positivo para taninos hidrolisáveis.

### 2.6. Extração de taninos

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

### 2.6. Quantificação de taninos

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

#### *Determinação do Teor de Extrativos Totais (TE)*

Para caráter quantitativo após realizadas as extrações, os resíduos das flores e folhas, foram secas em estufa a 103 °C ± 2, para a determinação do teor de extrativos totais em solução hidroalcoólica. A seguir, a equação 2 usada para o cálculo:

$$TE = \left( \frac{Pi - Pf}{Pf} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde:

TE é o teor de extrativos totais em porcentagem;  
Pi é o peso inicial da amostra;  
Pf é o peso seco em estufa, após as extrações, em grama.

#### *Conteúdo de Taninos Solubilizados em Solução hidroalcoólica*

Para determinação do conteúdo em taninos foi



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

Esta reação pode ser calculada da seguinte forma (equação 3).

$$IS = \left( \frac{M2}{M1} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

IS é o índice de Stiasny;  
M1 é a massa de sólidos na proporção utilizada de extrato;  
M2 é a massa do precipitado tanino – formaldeído.  
Teor de sólidos totais em porcentagem (TST)

O teor de sólidos totais será calculado da seguinte forma, equação 4.

$$TST = \left( \frac{PS}{PU} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde:

TST é o teor de sólidos totais em porcentagem;  
PS é o peso da amostra seca;  
PU é o peso inicial da amostra.  
Teor de taninos presentes em solução (TTC)

O teor de taninos presentes na solução será determinado a partir da seguinte equação, equação 5.

$$TTC = \left( \frac{IS}{TST} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde:

TTC é o teor de taninos na solução obtido em porcentagem;  
IS é o peso de tanino na solução em gramas;  
TST é o teor de sólidos totais em porcentagem.  
Teor de taninos em flor e folha seca (TTF)

O teor de taninos em flor e folha secas será obtido pela equação 6.

$$TTF(\%) = (TE - TTC) \quad (6)$$

Onde:

TTF é o teor de taninos em flor e folha obtidos em porcentagem;  
TE é o teor de extrativos totais em porcentagem;  
TTC é o teor de taninos na solução obtido em porcentagem.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

**Tabela 01** – Proporções utilizadas de % água + % de álcool etílico, para estudo do melhor extrato obtido, em termos de conteúdo de taninos.

90 + 10%
80 + 20%
70 + 30%
60 + 40%
50 + 50%
40 + 60%
30 + 70%
20 + 80%
10 + 90%

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

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



como mostra a Tabela 1, e em seguida, as imagens dos testes realizados.

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

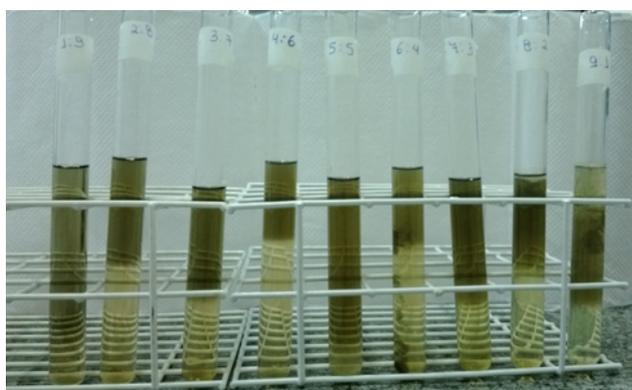


Figura 05 – Testes qualitativos realizados com a flor, utilizando como solvente de extração, álcool:água em diferentes proporções, apresentadas respectivamente da esquerda para a direita, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1.

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

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

horas, é descrito por Trugilho et al. (2003).

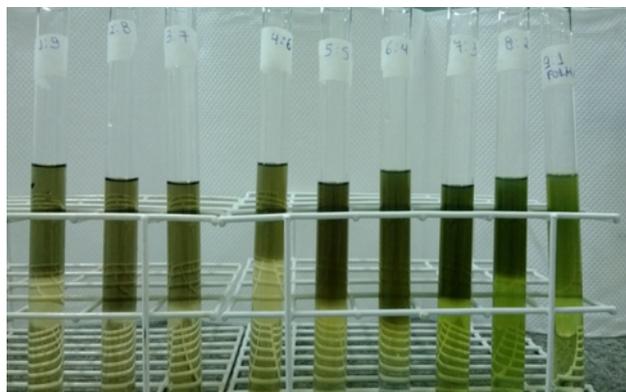


Figura 06 – Testes qualitativos realizados com a folha, utilizando como solvente de extração, álcool:água em diferentes proporções, apresentadas respectivamente da esquerda para a direita, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1.

Os dados obtidos, descritos nas Tabelas 2, 3 e 4, foram separados de acordo com os dias de extração, primeiro, segundo e terceiro dias, a fim de comparar os resultados, no sentido de verificar, quantos dias no mínimo, seriam necessários para obtenção da maior quantidade possível (em massa) de tanino, pois segundo Efig (2008 apud MANTOVANI, PORCU, 2009, p. 3) ao estudar compostos secundários cita que a baixa quantidade destes compostos pode ocorrer devido à interferência ambiental.

Tabela 02 – Proporções utilizadas de % água + % de álcool etílico, para estudo do melhor extrato obtido, em termos de conteúdo de taninos.

%	Flor (T)*	Flor (S)*	Folha 7:3 (T)	Folha 7:3 (S)	Folha 6:4 (T)	Folha 6:4 (S)
IS	0,119	1,050	0,499	0,038	0,433	0,414
TST	36,820	36,820	37,100	37,100	40,110	40,110
TTC	0,323	2,851	1,347	0,104	1,081	1,032
TTF	1,500	-1,000	0,700	1,900	2,300	2,400

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

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

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

A fim de se obter os valores em massa, de tanino, com a maior exatidão possível, a Tabela 2 demonstra que após a secagem a 103 °C fez-se uma média entre os valores da massa de três unidades de papéis filtros vazios, pois se sabe que ao ser submetido a temperaturas elevadas o mesmo perde massa, principalmente em razão de perda de umidade. O valor médio obtido foi de 0,121 g.



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

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

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

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

**Tabela 03** – Resultados obtidos no segundo dia de extração.

%	Flor (T)*	Flor (S)*	Folha 7:3 (T)	Folha 7:3 (S)	Folha 6:4 (T)	Folha 6:4 (S)
IS	0,277	0,019	0,249	0,596	2,601	0,631
TST	36,820	36,820	37,100	37,100	40,110	40,110
TTC	0,753	0,054	0,674	1,606	6,480	1,572
TTF	1,000	1,700	1,400	0,500	-3,100	1,800

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

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

(IS) índice de Stiasny, (TST) Teor de sólidos totais, (TTC) Teor de taninos presentes em solução

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

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

Ao comparar-se os resultados para a folha no sistema

de solvente 7:3, constata-se que ao utilizar o método (T), o resultado mostrou-se mais eficiente, 1,4% de rendimento. Já para o sistema de solvente 6:4, notou-se que o maior teor de taninos foi obtido pelo método (S), tendo como rendimento 1,8%.

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

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

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

**Tabela 04** – Resultados obtidos no terceiro dia de extração.

%	Flor (T)*	Flor (S)*	Folha 7:3 (T)	Folha 7:3 (S)	Folha 6:4 (T)	Folha 6:4 (S)
IS	1,010	0,753	0,807	0,442	0,985	0,512
TST	36,820	36,820	37,100	37,100	40,110	40,110
TTC	2,740	2,044	2,176	1,192	2,456	1,277
TTF	-0,960	-0,200	-0,100	0,800	0,900	2,100

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

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



temperatura ambiente, e repouso por 24 horas (T).

Os resultados negativos obtidos nas Tabelas 2, 3 e 4, atribui-se a possíveis erros no momento da pesagem do papel filtro, após a secagem em estufa.

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

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

#### 4. CONCLUSÃO

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

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

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

### Obtain tannins from hydroalcoholic extract to leaves and flowers of *Lippia alba*

Abstract – The *Lippia alba* plant is an aromatic bush commonly known as lemon balm and widely studied of the *Lippia* genera due to its medicinal properties. Aim is to know the chemist metabolite plants, due to the vast amount of chemical structures found in their organic constituents. Among the metabolites are the flavonoids, polyphenolic compounds, which add various classes of metabolites, including tannins. Tannins are compounds widely distributed among plants, are widely used in leather tanning and pharmaceutical industries, and are still used as flocculants or coagulants. According to their chemical structure, they are classified as hydrolysable tannins – that have ester bonds which may undergo hydrolysis - and condensed tannins, that are more resistant to fragmentation of molecules and have polymeric structure. In order to obtain tannins from *Lippia alba* leaves and flowers, qualitative tests with solvents and different concentrations were performed so as to determine which is the best solvent to obtain significant results. The results obtained from the use of extraction and quantification methods are considered good results when it is considered that most of the studies on the *alba L.* plant have very similar results obtained in this work, it was observed that the best response was obtained with a solvent system 6: 4 (alcohol: water) of the sheet, and the first day was the best yield of condensed tannin content by the methods used.

Keywords: plants. metabolites. Stiasny reaction.



## REFERÊNCIAS

- AMORIM, E. L. C. et al. TANINOS: Uma abordagem da Química a Ecologia. **Rev. Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892–896, 2005.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Rev. Alim. Nutr.** Araraquara, v. 15, n. 1, p. 63–72, 2004.
- BEELEN, P.M.G.; PEREIRA, J. M.F.; BEELEN, R. N. Avaliação de Taninos Condensados em Plantas Forrageiras. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 2008, João Pessoa.
- BERNARDES, N. R. et al. Quantificação dos teores de taninos e fenóis totais e avaliação da atividade antioxidante dos frutos de aroeira. **Rev. Vértices**, Campos dos Goytacazes, v. 13, n. 3, p. 117–128, 2011.
- CAMÊLO, L. C. A. et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de ervacidreira-brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.]. **Rev. Scientia Plena**, v. 7, n. 5, 2011.
- CASTEJON, F. V. **Taninos e Saponinas**. Disponível em <[http://portais.ufg.br/uploads/67/original\\_semi2011\\_fernanda\\_castejon\\_1c.pdf](http://portais.ufg.br/uploads/67/original_semi2011_fernanda_castejon_1c.pdf)>. Acesso em: 16 jul. 2014.
- CENTRO DE INTELIGÊNCIA EM FLORESTAS Disponível em: <[http://www.ciflorestas.com.br/texto.php?p=nao\\_madeireiros](http://www.ciflorestas.com.br/texto.php?p=nao_madeireiros)>. Acesso em: 04 jan. 2014.
- COSTA-LOTUFO, L. V. et al. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Rev. Virtual Química**, v. 2, n. 1, ago. 2010.
- COSTA, P. R. R.; Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: Candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. **Rev. Virtual Química**, v. 1, n. 1, fev. 2009.
- DIAS, R. A. L.; SOUZA, P. S.; ALSINA, O. L. S. Efeito da temperatura de secagem sobre o rendimento na extração de taninos totais e óleos essenciais de hortelã (*Mentha x vilosa* Hudson). **Rev. Brasileira de Farmácia (RBF)**, 2012.
- GARCÉS, M. I. P. et al. Morfología, anatomía, ontogenia y composición química de metabolitos secundarios en inflorescencias de *Lippia alba* (Verbenaceae). **Rev. Biol. Trop.** v. 58, n. 4, p. 1533–1548, dez. 2010.
- GEISSMAN, T. et al. **Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism**. U.S.A: Freeman, Cooper & Company, 1969.
- GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Rev. Eclética Química**, v. 36, n. 1. São Paulo, 2011.
- KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H.. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.
- LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Quantas espécies há no Brasil?. **Rev. Megadiversidade**, v. 1, n. 1, jul. 2005.
- MANTOVANI, D.; PORCU, O. M. Avaliação fitoquímica do extrato de *Lippia Alba* para utilização como antioxidante natural em alimentos. **Revista Tecnológica**, v. 18, p. 69–74, 2009.
- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza, CE: Editora UFC, 1997.
- PAES, J. B. et al. Taninos condensados da casca de angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*) extraídos com soluções de hidróxido e sulfato de sódio. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 3, p. 22–27, jul/set. 2013.
- PANSERA, M.R, et al. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira e Farmacognosia**. v. 13, n. 1, p. 17–22, jan/jun. 2003.
- PLANETA SUSTENTÁVEL Disponível em: <<http://planetasustentavel.abril.com.br/blog/biodiversa/files/2013/08/Lippia-alba.jpg>> Acesso em: 22 de jul. 2014
- SILVA, J.; BELTRÃO, F. A. S.; BEELEN, P. G. Caracterização dos taninos condensados da maniçoba e de duas espécies afins. In: IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste da Educação Tecnológica, 2009, Belém.
- SIMÕES, O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2010.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. Disponível em: <[www.sbfagnosia.org.br/Ensino/taninos.html](http://www.sbfagnosia.org.br/Ensino/taninos.html)>. Acesso em: 11 nov. 2013.
- TRUGILHO, P. F. et al. Determinação do teor de taninos na casca de *Eucalyptus* spp. **Cerne**, Lavras, v. 9, n. 2, p. 246–254, jul./dez. 2003.
- YOSHIHARA, E. Uso de fontes de taninos condensados no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Apta Regional, Pesquisa e Tecnologia**, v. 8, n. 2, jul./dez. 2011.



Correspondência:

Aline Poyer

aline\_poyer@hotmail.com, UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

Recebido: 30/07/2014

Aprovado: 07/04/2015

Como citar: POYER, Aline; SCHAEFER, Leticia; TEIXEIRA, Sirlei Dias; ROCHA, Raquel Dalla Costa da.

(NBR 6023) Obtenção de taninos a partir do extrato hidroalcoólico de folhas e flores de *Lippia alba*. **Syn. Scy. UTFPR**, Pato Branco, v. 10, n. 1, p. 140–151, jan./mar. 2015. ISSN 2316-4689 (Eletrônico). Artigos convidados da SIMTEQ 2014, Pato Branco-PR. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/synscy>>. Acesso em: DD mmm. AAAAA.

DOI: “em processo de registro”

Direito autoral: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.