SCIENTIA
FORESTALIS

Determinação da massa molar de taninos vegetais através da técnica da cromatografia de permeação em gel

Tannins molar mass determination using gel permeation chromatography technique

Angélica de Cássia Oliveira Carneiro[1], Benedito Rocha Vital[2], Ana Márcia Macedo Ladeira Carvalho[3], Aylson Costa Oliveira[4], Bárbara Luísa Corradi Pereira[5], Bruno Geike de Andrade[6]

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da sulfitação e da hidrólise ácida sobre as massas molares e a polidispersidade dos taninos, extraídos a partir da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden e *Anadenanthera peregrina* Speg. Para avaliar o efeito dos tratamentos os taninos foram modificados empregando-se quatro valores de pH, três tempos de reação e dois tipos de ácido, na presença ou ausência de sulfito de sódio. As massas molares e a polidispersidade dos taninos hidrolisados e, ou, sulfitados, foram determinadas apenas para aqueles que produziram adesivos tânicos com viscosidade inferior a 1500 cP. Para a determinação da massa molar, os taninos foram acetilados. Depois, amostras de 3 a 5 mg de taninos acetilados foram dissolvidas em 1 mL de tetrahidrofurano. As separações cromatográficas foram feitas em um cromatógrafo líquido SHIMADZU LC-10AD, equipado com uma bomba LC10ADvp e detector SPD-10Avp UV a 254 nm. Amostras de 20 µL foram injetadas numa coluna de permeação em gel Shim-pack GPC-802 (8 mm ¢ x 30 mm), empacotada com esferas porosas de gel de copolímeros de estireno-divinilbenzeno. Os taninos foram agrupados e avaliados através de análises multivariadas, empregando-se o método de agrupamento hierárquico simples, com base na distância euclidiana padronizada. Observou-se que a massa molar dos taninos extraídos das cascas de *Anadenanthera peregrina* foi maior que aqueles extraídos das cascas de *Eucalyptus grandis*. Concluiu-se que as massas molares dos taninos das duas espécies foram reduzidas com a hidrólise e sulfitação.

Palavras-Chave: *Eucalyptus grandis*, *Anadenanthera peregrina*,Taninos, Massa molar, GPC, Sulfitação.

Abstract

The objective of this research was to evaluate the effect of sulfitation and acid hydrolysis on molar mass and polydispersity of tannins extracted from *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden e *Anadenanthera peregrina* Speg barks. To evaluate the treatments effects, tannins were modified employing four pH values and three reaction times in the presence or absence of sodium sulfite. The molar weight and polydispersity of hydrolyzed and/or sulfited tannins were determined only for those that produced adhesives with a viscosity smaller than 1500 cP. For the determination of molar weight the tannins were acetylated. Then, samples of 3-5 mg acetylated tannins were dissolved in 1 mL of tetrahydrofuran. The chromatography separations were done in a liquid chromatographer SHIMADZU LC-10AD, equipped with LC10ADvp pump and a SPD-10Avp UV detector to 254 nm. Samples of 20 µL were injected in a Shim-pack GPC-802 (8 mm ¢ x 30 mm) gel permeation column, packed up with gel porous spheres of styrene-divinylbenzene copolymer. The tannins were grouped by multivariate analyses, using a simple agglomerative hierarchically method based on standard Euclidean distance. It was noticed that the molar mass of *Anadenanthera peregrina* bark tannins was higher than those extracted form *Eucalyptus grandis* bark. It was concluded that tannin molecular masses form both species were reduced by the hydrolysis and sulfitation

Keywords: *Eucalyptus grandis*, *Anadenanthera peregrina*, Tannins, Molar mass, GPC, sulfitation.

[1]Engenheira Florestal, Professora Doutora do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - 36570-000 - Viçosa, MG - E-mail: cassiacarneiro@ufv.br

[2]Engenheiro Florestal, Professor Doutor do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - 36570-000 - Viçosa, MG - E-mail: bvital@ufv.br

[3]Engenheira Florestal, Professora Doutora do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - 36570-000 - Viçosa, MG - E-mail: ana.marcia@ufv.br

[4]Estudante de Graduação de Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - 36570-000 - Viçosa, MG - E-mail: aylsoncosta@gmail.com

[5]Estudante de Graduação de Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - 36570-000 - Viçosa, MG - E-mail: babicorradi@gmail.com

[6]Estudante de Graduação de Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - 36570-000 - Viçosa, MG - E-mail: bruno.andrade@ufv.br

INTRODUÇÃO

O interesse pelos adesivos oriundos de fontes naturais aumentou após a crise do petróleo na década de 1970. A partir dessa data, várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de substituir, parcial ou totalmente, os adesivos comerciais convencionais, tais como uréia-formaldeído e fenol-formaldeído, e dentre as fontes naturais destacam-se os taninos vegetais, por terem capacidade de reagir com o formaldeído e, também, pela facilidade de extração.

E visando o melhor aproveitamento dos resíduos gerados na indústria madeireira, a casca da árvore do gênero *Eucalyptus* e da espécie *Anadenanthera peregrina* é uma alternativa para a extração de taninos, o que poderá reduzir o volume dos resíduos e dar maior valor agregado à casca. Vale ressaltar que apesar do volume de casca da espécie *Anadenanthera peregrina* ser menor em relação ao obtido a partir do gênero *Eucalyptus*, as mesmas apresenta alto conteúdo de taninos, o faz com que essa espécie se torne grande potencial para extração e produção de adesivos taninos.

Existem várias definições para o termo taninos, mas segundo Waterman e Mole (1994), provavelmente a definição mais aceitável é a de (BATE-SMITH E SWAIN 1962 apud MOLE 1994) que classificaram os taninos vegetais como compostos fenólicos solúveis em água, tendo peso molecular entre 500 e 3.000 e que, ao lado de reações fenólicas usuais, têm a propriedade de precipitar alcalóides, gelatinas e outras proteínas.

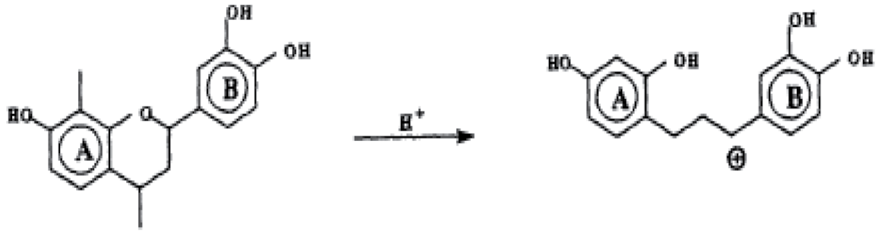
Adesivos para madeira, à base de taninos e derivados, apresentam viscosidade elevada e vida útil de trabalho curta, acarretando problemas na aplicação industrial. Entretanto, tais dificuldades podem ser contornadas, através da sulfitação e da hidrólise ácida e, ou, alcalina dos taninos, uma vez que essas técnicas reduzem a viscosidade dos adesivos tânicos, porque hidrolisa gomas hidrocoloidais de alto peso molecular e açúcares, bem como provoca o rompimento das ligações interflavonóides, ocasionando a abertura do anel heterocíclico da unidade flavonóide (PIZZI, 1983), conforme pode ser observado na Figura 1.

No entanto, nem sempre elas são aplicadas com sucesso, devido, principalmente, à diferença do conteúdo fenólico entre as espécies e o tamanho da molécula dos taninos.

Conhecendo-se as massas molares dos taninos pode-se avaliar o grau de eficiência e/ou extensão da hidrólise e sulfitação sobre a molécula de taninos. Assim, a determinação das massas molares dos taninos é um passo importante na síntese dos adesivos, uma vez que afeta a viscosidade e o tempo de cura.

A cromatografia de permeação em gel (CPG) é o método mais utilizado para determinar as massas molares dos taninos e a sua distribuição no polímero. Várias propriedades dos polímeros, que são importantes para a sua processabilidade e aplicações, estão diretamente relacionadas com as massas molares específicas.

A cromatografia de permeação em gel é um meio de separação de componentes individuais de uma amostra complexa. A solução da amostra permeia através dos poros de um material em gel, com seleção das moléculas da amostra, de acordo com seus tamanhos efetivos na solução (seus volumes hidrodinâmicos). (COLLINS *et al.*, 1990). Entre as diferentes técnicas cromatográficas, essa é, em geral, a mais simples e a mais amplamente utilizada na análise dos taninos. Normalmente, a cromatografia de permeação de gel é executada com polímeros não polares e solventes orgânicos. A separação cromatográfica depende, exclusivamente, do tamanho molecular do polímero, sem influência de outros fenômenos, como adsorção, partição ou troca de íon; logo, o uso da cromatografia por permeação de gel é um método rápido, simples e apropriado para o estudo do peso molecular médio das moléculas poliméricas.



Fonte: Sowunmi *et al.* (2000).

Figura 1. Mecanismo de hidrólise ácida dos taninos.
Figure 1. Acid hydrolysis mechanism of tannins.

A distribuição da massa molar é obtida quando o sistema é calibrado com padrões. Por isso, a distribuição da massa molar é um fator limitado pela avaliabilidade da calibração com os padrões e, normalmente, o padrão usado é o poliestireno, por não serem encontradas as massas molares dos próprios taninos (HEMINGWAY; KARCHESY, 1989). Mori (2000), estudando as massas molares dos taninos de *Eucalyptus grandis*, ressalta que a presença de grupos hidroxilas da molécula de taninos pode promover interações por adsorção no gel ou ligação intermolecular por união com hidrogênio, o que conduz à estimação incorreta da massa molar média por peso (MW). Estes fenômenos podem ser minimizados com o uso de fases móveis mais polares, como dimetilsulfóxido, dimetilformamida e tetrahidrofurano. Outro procedimento é proteger os grupos hidroxilas como derivados acetilados, derivados metilados ou derivados silil (CADAHIA *et al.*, 1996).

O uso simultâneo de um eluente, como tetrahidrofurano, com derivados acetilados, gera resultados melhores para estudos das distribuições e das massas molares dos taninos e outros biopolímeros, por exemplo, lignina. Viriot e Scalbert (1994) derivatizaram os taninos com anidrido acético e piridina (1:1) e verificaram que a acetilação com a mistura de anidrido acético-piridina de um mesmo elagitanino resultou num único produto de cada composto, que é parcialmente degradado se o excesso de reagentes for destruído por adição de água ou metanol; observou-se, portanto, maior estabilidade com os derivados peracetilados.

Soto *et al.* (2001) avaliaram o efeito da composição de misturas de solventes para a extração de poliflavonóides da casca de Pinus radiata. As frações obtidas foram caracterizadas por cromatografia de permeação em gel. As amostras de taninos foram acetiladas de acordo com o método utilizado por García-Vallejo e os produtos acetilados, analisados por CPG. Foram utilizadas três colunas, conectadas em série, à temperatura de 60 °C e fluxo de 0,4 mL/min. THF foi usado como fase móvel e a detecção foi a 280 nm. A curva de calibração foi feita com padrões de poliestireno.

Mori (2000) determinou as massas molares dos taninos após a sulfitação ácida dos taninos das cascas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus* saligna e *Eucalyptus* urophylla. Nesse experimento, o autor verificou que, para as três espécies estudadas, a reação de sulfitação diminuiu a massa molar; ocorreu, ainda, uma diminuição maior da massa molar quando os taninos foram submetidos à reação de sulfitação ácida. Constatou, também, que os polímeros de taninos da casca das três espécies de eucaliptos são polidispersos.

Fechtal e Riedl (1993) determinaram as massas molares dos taninos de três espécies (*Acacia mollissima*, *Eucalyptus adstringens* e *Eucalyptus sideroxylon*), antes e depois da sulfitação dos taninos. Verificaram uma redução de 40, 34 e 59%, respectivamente, nas massas molares após a sulfitação dos taninos. Para tanto, primeiramente, os taninos foram acetilados com piridina/anidrido acético (1:1) e imersos em banho quente por quatro horas, tendo a reação continuado por 12 horas à temperatura ambiente. Para os compostos que apresentaram traços de água, fez-se necessária a adição de um excesso de anidrido acético na mistura da reação. Tetrahidrofurano, contendo 0,4% de ácido tricloroacético, foi usado como eluente.

Garro *et al.* (1996) utilizaram o ácido gálico como modelo de taninos hidrolisáveis, reagindo-os com formaldeído em diferentes valores de pH, razão molar, temperatura e diferentes tempos de reação; os produtos obtidos dessas reações foram analisados após acetilação por cromatografia de permeação em gel.

Willians *et al.* (1983) determinaram a massa molar média numérica e a polidispersidade dos taninos da casca de Pinus taeda, encontrando os seguintes valores: 1.560 e 1,26, respectivamente. A calibração foi feita com padrões de poliestireno.

O presente estudo objetivou avaliar o efeito do tratamento ácido e da sulfitação sobre as massas molares e a polidispersidade dos taninos, extraídos a partir da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden e *Anadenanthera peregrina* Speg.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os taninos empregados neste experimento foram extraídos da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden e de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina* Speg), provenientes de plantios da Universidade Federal de Viçosa – Viçosa-MG, com idade de 20 e 35 anos, respectivamente. As cascas foram moídas em moinho martelo e, em seguida, peneiradas, recolhendo-se a fração que passou na peneira de 15mm e foi retida na peneira de 10mm. Depois de peneiradas, foram acondicionadas em sacos plásticos, com teor de umidade médio de 15%.

Extração dos taninos

Para a extração dos taninos da casca de *Eucalyptus grandis* utilizou-se a metodologia empregada por Carneiro (2002), por ter apresentado maior rendimento em taninos. A extração foi feita em autoclave à temperatura de 70 °C, por um período de 3 horas, adicionando-se 4,5% de sulfito de sódio à água de extração. Utilizou-se uma relação licor/casca de 20:1.

Para a extração dos taninos da casca de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*), inicialmente determinou-se o rendimento gravi-métrico em taninos para determinar a influência do sulfito de sódio, como sal extrator. As extrações foram feitas em autoclave de laboratório, à temperatura de 100 °C, por um período de 3 horas, usando uma relação licor/casca de 20:1.

Os extratos tânicos, tanto de *Eucalyptus grandis* quanto de angico-vermelho, foram distribuídos em bandejas de alumínio e levados à estufa a uma temperatura de 70 °C, até secagem total. Os taninos foram moídos até granulometria de 100 mesh, para proceder a sulfitação e hidrólise ácida, e posteriormente a produção dos adesivos para determinação da viscosidade.

Sulfitação dos taninos

Para a sulfitação, os taninos foram dissolvidos em água, adicionando 5% de sulfito de sódio, sobre a massa seca. Essa mistura foi levada a uma placa aquecedora, com agitação mecânica constante, em capela de fluxo laminar, variando-se o tempo de reação de 30, 60 e 90 minutos.

Hidrólise dos taninos

Os taninos foram solubilizados em água e hidrolisados com ácido acético concentrado ou ácido clorídrico a 10 N. O controle da extensão da hidrólise foi feito, ajustando-se o pH dos taninos e o tempo de reação. Empregaram-se tempos de 30, 60 e 90 minutos e os seguintes valores de pH: 3, 4, 5 e 6 (pH dos taninos não-hidrolisados).

Produção dos adesivos

Para a produção de adesivos, foram utilizadas as soluções aquosas, contendo os taninos sulfitados e, ou, hidrolisados e, também, os taninos brutos, ou seja, sem modificação química. Para tanto, os taninos foram misturados em solução com o agente endurecedor formaldeído, na concentração de 10% em relação à massa seca de sólidos, agitando-o com um bastão de vidro por 1 minuto. Em todos os tratamentos, utilizou-se 10% de formaldeído em relação à massa seca de sólidos. A viscosidade dos adesivos foi obtida a uma temperatura média de 25oC empregando-se um viscosímetro Brookfield-LV (splinder 3), com velocidade de rotação de 12 rpm, em amostras de aproximadamente 300 mL, em três repetições.

Cromatografia de permeação em gel (CPG)

Para determinar a massa molecular dos adesivos à base de taninos hidrolisados e, ou, sulfitados, selecionaram-se aqueles com viscosidade inferior a 1500 cP. Aplicando-se este critério, foram obtidas onze amostras para a espécie *Eucalyptus grandis* e 30 amostras para angico-vermelho. Este procedimento foi adotado porque a viscosidade dos adesivos acima de 1500 cP impede o seu uso na indústria de aglomerados e compensados.

Para a determinação das massas moleculares dos taninos brutos (testemunha), ou seja, sem sofrer reação de hidrólise e, ou, sulfitação, foram feitas extrações com 30 g de cascas de *Eucalyptus grandis* e angico-vermelho, separadamente, em uma mistura de água-metanol (20:80), à temperatura ambiente, por um período de 24 horas. Após a extração, o extrato metanólico foi filtrado em membrana de poliestireno com porosidade igual 0,45 μm. Depois, o extrato foi levado a um aparelho de rotavapor a 40 °C, para remoção do metanol. A fração aquosa foi, então, liofilizada.

Foram liofilizadas também alíquotas de 3 g dos taninos sulfitados e, ou, hidrolisados.

Após a liofilização, amostras de 20 mg, tanto dos taninos brutos (testemunha) quanto os taninos hidrolisados e/ou sulfitados, foram acetiladas para posterior determinação da massa molecular.

Para a acetilação, os taninos foram reagidos com anidrido acético e piridina (1,2:1) durante 1 hora, a 70 °C, em banho-maria. A mistura foi deixada em repouso por 12 horas, para completa acetilação. Após esse período, recolheu-se o precipitado obtido; e para aqueles que não apresentavam precipitado visível, a mistura foi levada a um funil de separação, adicionando-se 4 mL de éter-di-etílico e 3 mL de água destilada. Recolheu-se a fase éter, e esta foi evaporada em estufa, com ventilação forçada, à temperatura de 38 °C. Para remoção da piridina residual, foi necessária a lavagem dos taninos acetilados com tolueno (1 mL); essa operação foi repetida três vezes, para total remoção da piridina. O tolueno foi evaporado numa atmosfera de nitrogênio.

Para proceder as determinações das massas moleculares no cromatógrafo líquido, primeiramente amostras de 3 a 5 mg de taninos acetilados foram dissolvidas em 1 mL de tetrahidrofurano. As separações cromatográficas foram feitas em um cromatógrafo líquido SHIMADZU LC-10AD, equipado com uma bomba LC10AD-vp e detector SPD-10Avp UV a 254 nm. Amostras de 20 µL foram injetadas numa coluna de permeação em gel Shim-pack GPC-802 (8 mm ¢ x 30 mm), empacotada com esferas porosas de gel de copolímeros de estireno-divinilbenzeno. Utilizou-se tetrahidrofurano como fase móvel, à taxa de fluxo de 0,7 mL/min. A temperatura do forno foi mantida a 30 °C.

Os cromatogramas obtidos foram analisados com o auxílio de um programa fornecido pela SHIMADZU, obtendo-se o MN (massa molar média numérica), o MW (massa molar média por peso) e a polidispersidade.

A curva de calibração foi estabelecida com a mistura-padrão de poliestireno, com massas moleculares variando de 486 a 9.000, fornecida pela SUPELCO.

Análise estatística dos dados

Os taninos foram agrupados e avaliados através de análises multivariadas, empregando-se o método de agrupamento hierárquico simples, com base na distância euclidiana padronizada. Para análise das massas molares, aplicou-se este procedimento a 11 amostras de taninos de *Eucalyptus grandis* e 30 amostras de *Anadenanthera peregrina*, de acordo com a seleção dos tratamentos, ou seja, aqueles que tiveram viscosidade média igual ou inferior a 1500 cP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da massa molar média

A Tabela 1 apresenta os valores das massas molares e a polidispersidade dos taninos de *Eucalyptus grandis* e angico-vermelho (*A. peregrina*) após a sulfitação e, ou, hidrólise ácida. Vale ressaltar que a técnica de cromatografia de permeação em gel foi aplicada apenas para os taninos hidrolisados e, ou, sulfitados que apresentaram viscosidade abaixo de 1.500 cP.

Os resultados da análise estatística descritiva, para as massas molares e a polidispersidade dos taninos de *Eucalyptus grandis*, estão na Tabela 2, onde se pode observar que a polidispersidade foi a variável que mais contribuiu para a similaridade dos tratamentos, sendo o maior valor encontrado para o tratamento 4 (1,86) e o menor, para o tratamento 1 (1,13).

Tabela 1. Massa molar média numérica (Mn), massa molar média por peso (Mw) e polidispersidade (DP=Mw/Mn) dos taninos de *Eucalyptus grandis*, após sulfitação e, ou, hidrólise ácida.
Tabela 1. Arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP=Mw/Mn) of *Eucalyptus grandis* tannins, after sulfitation and, or, acid hydrolysis.

Tratamentos	Tempo Reação (minutos)	Tipo de Ácido	pH	Sulfito de Sódio	MN	MW	DP
1	30	-------	6 (bruto)	5%	596	678	1,13
2	30	Acético	3	------	288	401	1,39
3	30	Acético	3	5%	224	340	1,51
4	60	Acético	4	------	256	477	1,86
5	60	Acético	3	------	142	236	1,65
6	60	Acético	4	5%	162	197	1,21
7	60	Acético	3	5%	162	192	1,18
8	90	Acético	4	------	260	332	1,27
9	90	Acético	3	------	184	271	1,47
10	90	Acético	4	5%	192	296	1,56
11	90	Acético	3	5%	143	245	1,71

(Bruto) = não-hidrolisado

Tabela 2. Análise estatística descritiva para massa molar média numérica (Mn), massa molar média por peso (Mw) e polidispersidade (DP=Mw/Mn) dos taninos de *Eucalyptus grandis* após a sulfitação e, ou, hidrólise ácida.
Table 2. Descriptive statistical analysis for arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP=Mw/Mn) of *Eucalyptus grandis* tannins, after sulfitation and acid hydrolysis.

Variável	Estatística Descritiva – *Eucalyptus grandis*						
	Válido	Média	Mínimo	Máximo	Variância	Desvio-Padrão	Erro-Padrão
MN	11	237,18	142,00	596,00	16.648,56	129,03	38,90
MW	11	333,18	192,00	678,00	20.517,76	143,24	43,19
DP	11	1,45	1,13	1,86	0,06	0,24	0,07

As massas molares para os taninos de *Eucalyptus grandis*, sulfitados e hidrolisados, foram menores que as dos taninos não-modificados quimicamente, ou seja, extraídos em água-metanol, que tiveram massa molar média por peso igual a 1.964, mostrando a eficiência da sulfitação e da hidrólise sobre os taninos.

Para melhor visualização da dissimilaridade entre os tratamentos, estabelecidos com base nas massas molares e na polidispersidade dos taninos, pode-se observar, na Figura 2, o dendrograma no qual se verifica a formação de vários grupos.

Observa-se, na Figura 2 e na Tabela 1, que o adesivo 1 (testemunha), produzido com taninos não-hidrolisados, ficou isolado dos demais, apresentando a maior massa molar média numérica, evidenciando que a hidrólise ácida reduziu o tamanho da molécula dos taninos de *Eucalyptus grandis*. Observa-se, também, que ocorreu maior similaridade entre os tratamentos 6 e 7, que apresentaram massas molares iguais.

O gráfico de dispersão dos taninos de *Eucalyptus grandis* encontra-se na Figura 3, onde se constatou o efeito da hidrólise e da sulfitação, em relação aos taninos não-hidrolisados (testemunha) extraídos com água-metanol.

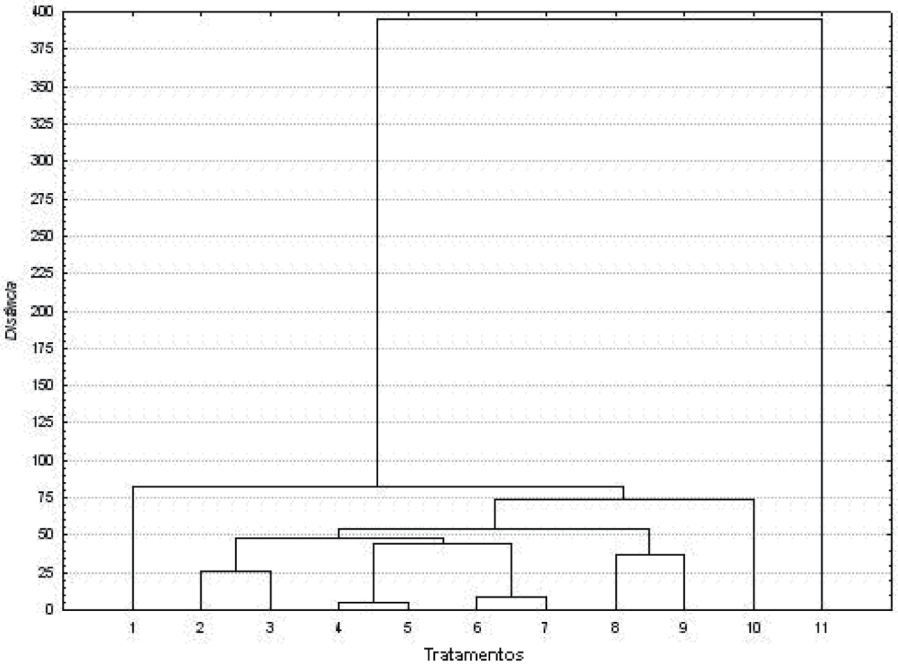


Figura 2. Dendrograma construído a partir das distâncias euclidianas padronizadas para massa molar média numérica (Mn), massa molar média por peso (Mw) e a polidispersidade (DP=Mw/Mn) dos taninos de *Eucalyptus grandis*.

Figure 2. Dendrogram built from Euclidean distances standardized for arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP=Mw/Mn) of *Eucalyptus grandis* tannins.

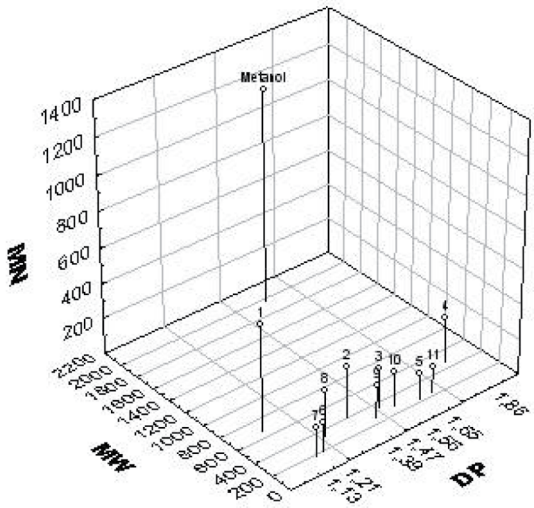


Figura 3. Dispersão dos 11 tratamentos produzidos com taninos de *Eucalyptus grandis* e taninos extraídos em água-metanol, tendo como base na massa molar média numérica (MN), massa molar média por peso (MW) e a polidispersidade (DP).

Figure 3. Dispersal of 11 treatments produced with *Eucalyptus grandis* tannins and tannins extracted in water-methanol, based on arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP).

Avaliando os tratamentos realizados com 60 minutos de reação, nota-se que houve efeito da sulfitação sobre a massa molar média numérica dos taninos. Observa-se, também, efeito da hidrólise dos taninos sobre a massa molar dos mesmos, sendo esses menos expressivos quando se avaliam os taninos hidrolisados e não-sulfitados. Esse fato se deve, principalmente, a massa molar média numérica encontrado para o tratamento 4, que apresenta valor acima dos demais, não condizendo com os outros resultados. Provavelmente, na etapa de acetilação dos taninos estes não foram acetilados completamente e saíram primeiro da coluna, uma vez que os taninos de massa molar maior eluem primeiro, o que pode ter provocado a superestimação do valor real. Outra pressuposição poderia ser a ineficiência da hidrólise por erro experimental, que pode ser pelo menos em parte, comprovado pela alta polidispersidade encontrada para os taninos.

Para os taninos reagidos durante 90 minutos, observa-se que tanto a sulfitação quanto a redução do pH de hidrólise dos taninos contribuíram para a redução de sua massa molar média numérica, o que ficou mais evidente quando mudou-se o pH de hidrólise, ou seja, a redução do pH causou maior quebra da molécula dos taninos, mostrando, assim, a efetividade da hidrólise.

Analisando os taninos hidrolisados e com pH igual a 3, observa-se que presença do sulfito de sódio reduziu, ainda mais, a massa molar dos taninos. Verifica-se que o tempo de reação dos taninos também reduziu o massa molar, exceto no tempo de reação igual a 60 minutos. Mori *et al*. (2001) encontraram massa molecular média por peso igual a 231 para os taninos sulfitados, extraídos da casca de *Eucalyptus citriodora*. Observa-se, na Tabela 1, que o tratamento 11 apresentou uma massa molar média por peso próximo ao encontrado por esses pesquisadores.

Para os taninos hidrolisados com pH igual a 4, nota-se que a adição do sulfito de sódio reduziu as massas molares dos taninos, o que provavelmente contribuirá para a produção de adesivos menos viscosos e mais eficientes nas reações com o formaldeído, além de facilitar a aplicação dos mesmos. De acordo com Fechtal e Riedl (1993), a sulfitação dos taninos quebra as ligações interflavo-nóides e, conseqüentemente, reduzi a viscosidade dos adesivos, o que pode ser comprovado neste trabalho, onde foram encontradas viscosidades menores que 750 cP para os adesivos tânicos sulfitados. Para os adesivos produzidos com taninos hidrolisados com pH igual a 4 e na ausência do sulfito de sódio, a massa molar média numérica diminuiu com o aumento do tempo de reação dos taninos; o mesmo não foi verificado para os produzidos com taninos sulfitados.

Conforme pode ser observado na Tabela 1, as moléculas tânicas são polidispersas, ou seja, têm cadeias com diferentes comprimentos, o que mostra que a hidrólise e a sulfitação não quebraram os taninos de forma uniforme, isto é, não os deixaram monodispersos. Cadahia *et al*. (1996) verificaram que os taninos da casca de *Eucalyptus camaldulensis* também são polidispersos, com valor próximo de 2,58.

Na Tabela 3, estão os valores das massas molares e a polidispersidade dos taninos de angico-vermelho, após sulfitação e hidrólise ácida.

Os resultados da análise estatística descritiva para as massas molares e polidispersidade dos taninos de angico-vermelho estão na Tabela 4, onde se pode observar que a polidispersidade foi a variável que mais contribuiu para a similaridade dos tratamentos, sendo o maior valor encontrado para o tratamento 10 (3,13) e o menor, para o tratamento 14 (1,105).

Para melhor visualização da dissimilaridade entre os tratamentos, estabelecidos com base na massa molar média numérica, massa molar média por peso e na polidispersidade, pode-se observar, na Figura 4, o dendrograma no qual se verifica a formação de um grande grupo.

Observa-se pelo dendrograma que os tratamentos 1 e 15 ficaram isolados dos demais, apresentando polidispersidade igual a 1,37 e 1,54, respectivamente.

O gráfico de dispersão dos taninos de angico-vermelho encontra-se na Figura 5, onde se constata o efeito da hidrólise e da sulfitação em relação aos taninos não-modificados quimicamente (testemunha) extraídos em água-metanol, que teve massa molar média por peso (MW) igual a 2752.

Analisando os taninos não-hidrolisados (1, 2, 7, 8, 15 e 16), nota-se que aqueles produzidos com os taninos sulfitados apresentaram massas molares menores, evidenciando o efeito da sulfitação sobre os taninos. Observa-se que o tempo de reação dos taninos reduziu a massa molar com exceção daqueles reagidos durante 90 minutos. Fechtal e Riedl (1993) encontraram peso molecular igual a 1.016 para os taninos sulfitados de *Acacia molissima*.

Tabela 3. Massa molar média numérica (Mn), massa molar média por peso (Mw) e polidispersidade (DP=Mw/Mn) dos taninos de *Anadenanthera peregrina*, após sulfitação e, ou, hidrólise ácida dos taninos.
Table 3. Arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP=Mw/Mn) of *Anadenanthera peregrina* tannins, after sulfitation and, or, acid hydrolysis.

Tratamentos	Tempo Reação (minutos)	Tipo de Ácido	pH	Sulfito de Sódio	MN	MW	DP
1	30	------	6 (bruto)	-----	1.013	1.397	1,37
2	30	------	6 (bruto)	5%	448	1.247	2,78
3	30	Acético	4	------	456	1.376	3,02
4	30	Acético	3	------	448	1.392	3,11
5	30	Acético	4	5%	454	1.324	2,91
6	30	Acético	3	5%	348	807	2,31
7	60	------	6 (bruto)	------	420	1.288	3,06
8	60	------	6 (bruto)	5%	370	1.152	3,11
9	60	Acético	5	-------	446	1.309	2,93
10	60	Acético	4	-------	289	908	3,13
11	60	Acético	3	-------	366	892	2,43
12	60	Acético	5	5%	466	1.289	2,76
13	60	Acético	4	5%	425	1.227	2,88
14	60	Acético	3	5%	336	810	1,05
15	90	------	6 (bruto)	-----	1.144	1.763	1,54
16	90	-------	6 (bruto)	5%	464	1.158	2,49
17	90	Acético	4	------	383	985	2,57
18	90	Acético	3	------	683	1.455	2,13
19	90	Acético	4	5%	428	1.243	2,90
20	90	Acético	3	5%	403	1.182	2,92
21	30	Clorídrico	4	------	415	1.289	3,10
22	30	Clorídrico	3	------	483	1.390	2,88
23	60	Clorídrico	4	------	432	1.194	2,76
24	60	Clorídrico	3	------	391	1.028	2,62
25	60	Clorídrico	4	5%	463	1.171	2,52
26	60	Clorídrico	3	5%	443	1.178	2,66
27	90	Clorídrico	4	-----	451	1.280	2,56
28	90	Clorídrico	3	------	435	1.264	2,90
29	90	Clorídrico	5	5%	419	1.229	2,92
30	90	Clorídrico	3	5%	406	1.095	2,69

(Bruto) = não-hidrolisado.

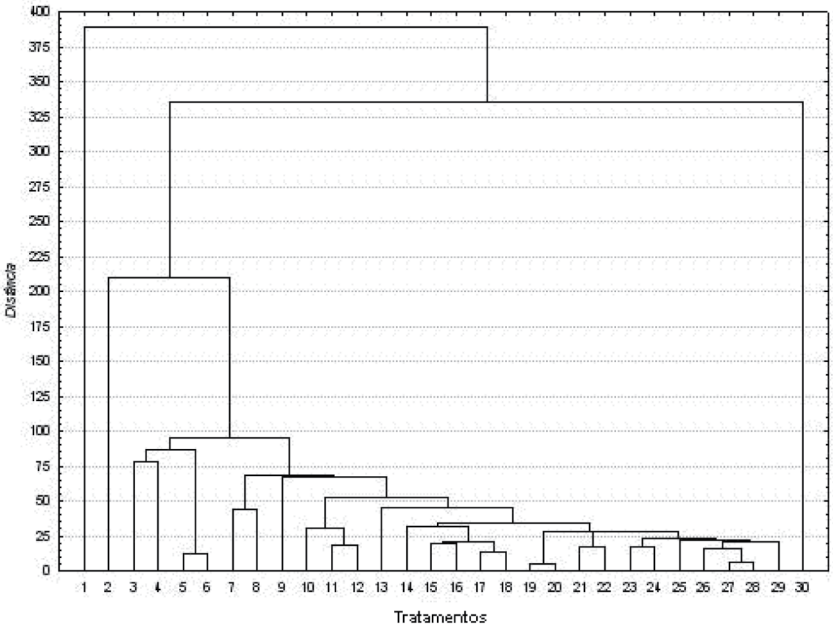


Figura 4. Dendrograma construído a partir das distâncias euclidianas padronizadas para a massa molar média numérica (Mn), massa molar média por peso (Mw) e polidispersidade (DP=Mw/Mn) dos taninos de *Anadenanthera peregrina*.
Figure 4. Dendrogram built from Euclidean distances standardized for arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP=Mw/Mn) of *Anadenanthera peregrina* tannins.

Tabela 4. Análise estatística descritiva para massa molar média numérica (Mn), massa molar média por peso (Mw) e polidispersidade (DP=Mw/Mn) dos taninos de *Anadenanthera peregrina*, após a sulfitação e a hidrólise ácida dos taninos.

Table 4. Descriptive statistical analysis for arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP=Mw/Mn) of *Anadenanthera peregrina* tannins, after sulfitation and acid hydrolysis.

Variável	Estatística Descritiva – Angico-Vermelho						
	Válido	Média	Mínimo	Máximo	Variância	Desvio-Padrão	Erro-Padrão
MN	30	470,93	289,00	1.144,00	31.766,20	178,23	32,54
MW	30	1.210,73	807,00	1.763,00	40.259,24	200,65	36,63
DP	30	2,63	1,05	3,13	0,26	0,51	0,09

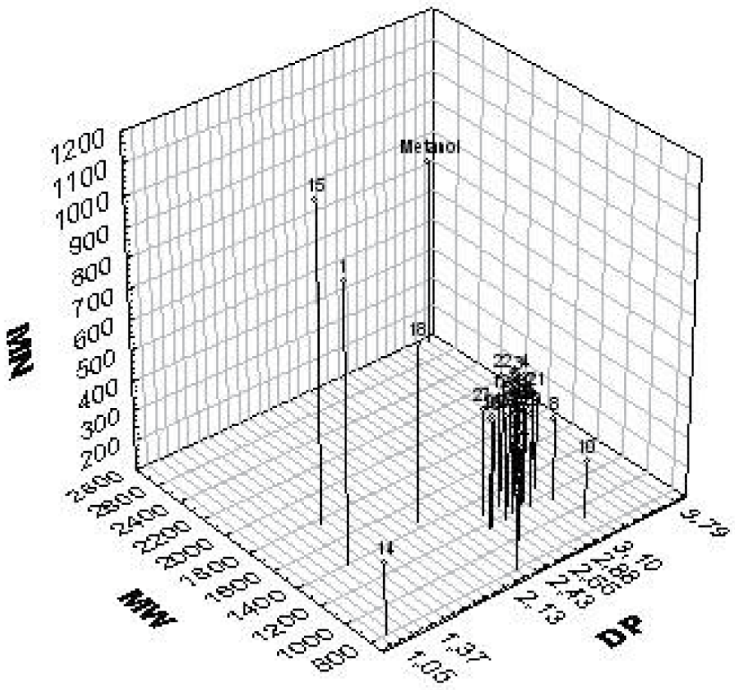


Figura 5. Dispersão dos 30 tratamentos produzidos com taninos de *Anadenanthera peregrina* e taninos extraídos em água-metanol, tendo como base a massa molar média numérica (MN), massa molar média por peso (MW), e a polidispersidade (DP).

Figure 5. Dispersal of 30 treatments produced with *Anadenanthera peregrina* tannins and tannins extracted in water-methanol, based on arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP).

Quanto ao tipo de ácido utilizado para hidrólise dos taninos de angico-vermelho, verifica-se que para os taninos hidrolisados com pH igual a 4 e na ausência de sulfito de sódio a utilização do ácido acético foi mais eficiente na hidrólise dos mesmos, a exceção dos taninos reagidos durante 30 minutos. Para os taninos hidrolisados com pH igual a 3 e sem sulfito, o ácido clorídrico foi mais eficiente para a hidrólise dos taninos, a exceção dos taninos com o tempo de reação de 60 minutos.

Analisando os taninos de angico-vermelho hidrolisados com pH igual a 4 e sulfitados, nota-se que aquele produzido com taninos reagidos durante 30 minutos apresentou o maior a massa molar média por peso, em relação as reagidos com os tempos de 60 e 90 minutos.

Observa-se que para os taninos de angico-vermelho hidrolisados com pH igual a 3 e sulfitados não houve diferenças nas massas molares dos mesmos, nos tempos de 30 e 60 minutos de reação, quando se utilizou o ácido acético para hidrólise. Para os taninos sulfitados e hidrolisados com ácido clorídrico com pH igual a 3 verifica-se não ocorreu efeito expressivo do tempo de reação sobre as massas molares dos taninos.

Quanto ao efeito do pH de hidrólise dos taninos sobre a massa molar média numérica observa-se que, com exceção do tratamento 18, os demais tiveram efeito do pH de hidrólise, ou seja, a redução do pH contribuiu, de modo geral, para a redução do tamanho da molécula tânica e para a polidispersidade. Esse fato mostra que, à medida que se diminuiu o pH dos taninos, provavelmente ocorreu, também, maior quebra da molécula. Vale ressaltar que uma hidrólise muito drástica pode desestruturar a molécula tânica e, conseqüentemente, diminuir sua reatividade com o formaldeído.

De modo geral, a hidrólise e a sulfitação, provavelmente, promoveu a hidrólise de algumas substâncias não-tânicas e também a redução da massa molar dos taninos, conseqüentemente, a viscosidade foi reduzida, o que permitirá o uso dos adesivos tânicos de angico-vermelho em escala industrial, para produção de chapas de aglomerado e compensado.

Na Tabela 5, estão apresentados a massa molar média numérica, massa molar média por peso e a polidispersidade dos taninos não-modificados quimicamente, de *Eucalyptus grandis* e angico-vermelho, após extração com água-metanol, e do tanino comercial de acácia-negra.

Tabela 5. Massa molar média numérica (MN), massa molar média por peso (MW) e a polidispersidade (DP). (DP=Mw/Mn) dos taninos de *Eucalyptus grandis* e angico-vermelho (após extração em metanol-água), e do tanino comercial de *Acacia mearnsii* (acácia-negra).

Table 5. Arithmetical molecular weight (Mn), middle molecular weight (Mw) and molar mass distributions (DP=Mw/Mn) of *Eucalyptus grandis* and *Anadenanthera peregrina* tannins (after extraction in metanol-water) and *Acacia mearnsii* commercial tannin.

Taninos	MW	MN	DP
Acacia mearnsii (Acácia-negra) – comercial	806	295	2,73
Eucalyptus grandis: água-metanol	1.964	1.206	1,62
Anadenanthera peregrina (Angico-vermelho): água-metanol	2.752	724	3,79

Observa-se que a massa molar média numérica dos taninos extraídos das cascas de angico-vermelho foi maior que aqueles extraídos das cascas de *Eucalyptus grandis*. Vale ressaltar que os adesivos produzidos com esses taninos, ou seja, sem modificação química, tiveram viscosidade média acima de 3000 cP. A massa molar média numérica do tanino comercial de acácia-negra foi de 806; provavelmente, este baixo valor encontrado se deve a alguma modificação química já ocorrida nesses taninos para a síntese do adesivo.

CONCLUSÃO

Os taninos não-modificados de angico-vermelho apresentaram massas molares maiores que os de *Eucalyptus grandis*.

As massas molares dos taninos das duas espécies foram reduzidas com a hidrólise ácida e sulfitação, devido à quebra das ligações interflavonóides.

A diminuição do pH de hidrólise dos taninos ocasionou redução na massa molar, ou seja, quanto menor o pH dos taninos menor a massa molar.

De modo geral, a massa molar dos taninos sulfitados foi ligeiramente menor em relação aos demais tratamentos.

O tempo de reação não influenciou significativamente a massa molar dos taninos, evidenciando uma similaridade entre as massas molares para os diferentes tempos de reação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, à Universidade Federal de Viçosa, ao Laboratório de Análises de Sementes Florestais – LASF/UFV e ao Laboratório de Painéis e Energia da Madeira – LAPEM/UFV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CADAHÍA, E; CONDE, E; VALLEJO, M.G.; SIMON, B.F. Gel permeation chromatograph study of the molecular weight distribution of tannins in the wood, bark and leaves of *Eucalyptus* spp. **Chromatographia**, Berlin, v.42, n.1, p.95-100, 1996.

CARNEIRO, A.C.O. **Efeito da sulfitação dos taninos de *E. grandis* e *E. pellita* para produção de chapas de flocos**. 2002. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

COLLINS. C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 4.ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1990. p.97 115.

FECHTAL, M.; RIEDL, B. Use of *Eucalyptus* and *Acacia molissima* bark extract formaldehyde adhesives in particleboard manufacture. **Holzforschung**, Berlin, v.47, n.4, p.349-357, 1993.

GARRO-GALVEZ, J.M. *et al*. Gallic acid as a model of tannins in condensation with formaldehyde. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v.274, p.149-163, 1996.

HEMINGWAY, R.W.; KARCHESY, J.J. **Chemistry and significance of condensed tannins**. New York: Plenum, 1989. 553 p.

MORI, C. *et al*. Uso de taninos da casca de três espécies de *Eucalyptus* na produção de adesivos para colagem de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa, v.25, n.1, p.19-28, 2001.

MORI, F. A. **Caracterização parcial dos taninos da casca e dos adesivos de três espécies de eucaliptos**. 2000. 73p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

PIZZI, A. **Wood Adhesives: Chemistry and Technology**. New York: Marcell Dekker, 1983. 364p

SOTO, R. *et al*.. Extraction of polyflavonoids from *Pinus radiata* D. Don bark. Evaluation of effects of solvents composition and of the height on tree bark. **Boletin de la Sociedad Chilena de Quimica**, Concepción, v.46, n.1, p.41-49, 2001.

SOWUNMI, S.; et. al. Differential scanning calorimetry of hydrolysed mangrove tannin. **Polymer International**, Londres, v.49, p.574-578, 2000.

VIRIOT, C.; SCALBERT, A. Methylations, acetylation and gel permeation of hydrolysable tannins. **Journal of chromatograph**, Amsterdam, n.662, p.77-85, 1994.

WATERMAN, P.G.; MOLE, S. **Analysis of phenoloc plant metabolites**. London: Blackwell Scientific Publications, 1994. 238 p.

WILLIANS, V. M. *et al*. Molecular weight profiles of proanthocyanidin polymers. **Phytochemistry**, Amsterdam, v.22, n.2, p.569 572, 1983.

Recebido em 08/07/2009
Aceito para publicação em 29/06/2010