

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Centro de Desenvolvimento Tecnológico**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.**



**Tese**

**DISPOSITIVO PORTÁTIL PARA QUALIFICAR TANINOS E  
FLAVONÓIDES**

**José Euclides Rodrigues Beltran**

Pelotas, 2019

**José Euclides Rodrigues Beltran**

**DISPOSITIVO PORTÁTIL PARA QUALIFICAR TANINOS E  
FLAVONÓIDES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Margarete Regina Freitas Gonçalves

Pelotas, 2019

José Euclides Rodrigues Beltran

## **Dispositivo Portátil Para Qualificar Taninos e Flavonóides**

Data da Defesa: 18 de março de 2019

### **Banca examinadora:**

---

Profa. Dra. Margarete Regina Freitas Gonçalves (Orientadora)  
Doutora em Engenharia, área de concentração em Ciência dos Materiais, pela  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

---

Profa. Dra. Alice Gonçalves Osorio  
Doutora em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais pela Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul.

---

Profa. Dra. Camila Franco  
Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul.

---

Prof. Dr. Rubens Camaratta  
Doutor em Engenharia, área de concentração em Ciência e Tecnologia dos  
Materiais, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

---

Prof. Dr. Tiago Moreno Volkmer  
Doutor em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais pela Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul.

## **Agradecimentos**

Primeiramente a Deus por ter me permitido alcançar mais esse objetivo na vida, e por ter me dado, persistência e força para continuar firme e determinado nesse caminho.

A minha família, por acreditarem em mim, dando-me, estrutura e incentivo para que eu pudesse sempre ir adiante nessa jornada. E também pela paciência durante o período em que estive ausente.

À Universidade Federal do Pelotas (UFPel), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, pela oportunidade de ter realizado este trabalho na condição de doutorando.

A Coordenação de Inovação Tecnológica da UFPel, em especial ao Professor Dr. Rafael G. Lund e demais colaboradores pelo carinho e gentileza que sempre me foram dispensados, profissionalismo e dedicação no encaminhamento de patente do Dispositivo para Qualificar Taninos e Flavonóides.

A Professora Dra. Margarete Regina Freitas Gonçalves pela orientação, por ter acreditado em mim, na minha proposta de trabalho, pela amizade, seriedade, profissionalismo, carinho e atenção dedicados durante todo período em que estive aqui na cidade Pelotas.

A Professora. Dra. Poliana Pollizello Lopes do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pela colaboração no início desse trabalho e pela cordialidade dispensada durante todo período em que necessitei da sua ajuda.

Ao Professor Dr. Paulo Edelvar Corrêa Peres pela amizade, força, incentivo para realização deste trabalho, na cedência de um espaço no Laboratório de Parasitologia e Microbiologia Oral da UFSM na realização desse trabalho.

As bibliotecas da Universidade Franciscana (UFN) e da Faculdade Metodista (FAMES), pelo apoio e gentileza de todos seus colaboradores, que foram essenciais para realização desse trabalho.

## Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura do tanino hidrolisável.....	16
Figura 2 - Estrutura do tanino condensado.....	18
Figura 3 - Demonstração esquemática das estruturas envolvidas na polimerização na formação de taninos em plantas vasculares pelo <i>tannosome</i> .....	19
Figura 4 - Estrutura química básica dos Flavanóides.....	21
Figura 5 - Representação esquemática da obtenção de luz branca em LEDs...29	
Figura 6 - Nova configuração do LED com a tecnologia do fósforo remoto .....30	
Figura 7 - Representações espectrais de luz branca usando LEDs .....30	
Figura 8 - Esquema de LEDs tipo chips de 3 Watts .....32	
Figura 9 - Fluxograma das etapas de trabalho.....	34
Figura 10 - Teste do Cloreto Férrico 1% usado na identificação de taninos e flavonóides nos extratos vegetais das folhas testadas. ( a) extrato sem o reagente; (b) extratos com reagente após 30 segundos (c) extratos com reagente após 3 minutos. ....	35
Figura 11 - Desenho esquemático do dispositivo com definição das vistas e do espaço interno do estojo plástico.....	37
Figura 12 Circuito elétrico utilizado na montagem do dispositivo.....	38
Figura 13 - Cabo USB (Universal Serial Bus), tipo A.....	39
Figura 14 - Potenciômetro linear - modelo 100 K. ....	39
Figura 15 - LED branco 3W -3,4v/6500K.....	40
Figura 16 – Tabela de cores indicativas da presença de taninos e flavonóides..42	
Figura 17 – Imagens externas do dispositivo DQTF.....	43
Figura 18 - Testes com folhas de Jambolão ( <i>Syzygium Cumini</i> ) e folhas de Erva-Mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> ). (a) tubos expostos a luz fluorescente; (b) tubos expostos a luz do LED branco do dispositivo.....	44
Figura 19 - Identificação da presença de taninos. (a) Extratos vegetais das amostras diluídos em água; (b) soluções obtidas após a reação com o cloreto férrico.....	49
Figura 20 – Identificação da presença de flavonóides com o dispositivo DQTF no Amendoim vermelho (a), na Marcela (b) e na Camomila (c). ....	49
Figura 21 – Versão atual do dispositivo DQTF, datada de 06/03/2019.....	53

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Cores emitidas pelos LEDs em função do semicondutor .....	28
Tabela 2 - Análise da presença de taninos com o dispositivo DQTF. ....	46
Tabela 3 - Análise da presença de taninos disponibilizada pela SETA S. A.....	47
Tabela 4 - Análise da presença de taninos com o dispositivo DQTF.....	48
Tabela 5 - Testes feitos com o dispositivo DQTF.....	50

## Resumo

BELTRAN, José Euclides Rodrigues. **Dispositivo portátil para qualificar Taninos e Flavonóides**. 2019. 73f. Tese. PPGCEM/UFPel

Os taninos e flavonóides são substâncias químicas pertencentes ao grupo dos polifenóis (ácidos fenólicos, estibenos e lignanos, etc.), que podem ser encontrados na maioria dos vegetais terrestres e resíduos agrícolas. Estas substâncias classificam-se em dois grupos, taninos condensados e taninos hidrolisáveis, e um novo grupo surgiu recentemente, os florotaninos, oriundos de algas marrons. Atualmente, os taninos e os flavonóides têm sido tema de estudo de diversos pesquisadores devido a sua importância na área da saúde humana e animal, em razão do seu potencial farmacológico para a produção de medicamentos e melhoria no controle do gás metano ruminal. Até o presente momento, os métodos qualitativos utilizados para a identificação dessas substâncias em extratos vegetais, geralmente, não permitem evidenciar com clareza o tipo de tanino prevalente. Em consideração a essa condição, nesse trabalho buscou-se aperfeiçoar um dos métodos existente para a identificação de taninos e flavonóides, o Teste do Cloreto Férrico, a partir do desenvolvimento de um equipamento portátil dotado de uma metodologia inovadora capaz de realizar análises fitoquímicas para qualificar taninos e revelar a presença de flavonóides em vegetais de interesse industrial farmacêutico, biológico, automobilístico, etc.. A metodologia proposta permite análise rápida e confiável, maior número de análises em um menor período de tempo, baixo custo financeiro e operacional e elimina o uso de reagentes nocivos ao meio ambiente, visto que a identificação é feita por meio de feixes de luz emitidos a partir de um LED (Light Emitting Diode) de luz branca de baixa voltagem, alta intensidade e com baixa interferência de feixes de luz externa. O equipamento foi testado em diferentes espécies vegetais, tendo sido obtido resultados positivos em todas as análises feitas, o que possibilitou o pedido de patente de produto tecnológico no INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial sob o número BR102017004374-6.

**Palavras-Chave:** taninos, flavonóides, LED de luz branca, dispositivo portátil, análise fitoquímica qualitativa.

## Abstract

BELTRAN, José Euclides Rodrigues. **Portable device to qualify Tannins and Flavonoids**. 2019. 73f. Tese. PPGCEM/UFPel

Tannins and flavonoids are chemicals belonging to the group of polyphenols (phenolic acids, stibenes and lignans, etc.), which can be found in most terrestrial plants and agricultural residues. These substances are classified into two groups, condensed tannins and hydrolysed tannins, and a new group emerged recently, the florotannins, from brown algae. Currently, tannins and flavonoids have been the subject of study of several researchers due to their importance in the area of human and animal health due to their pharmacological potential for drug production and improvement in methane ruminal gas control. To date, the qualitative methods used to identify these substances in plant extracts generally do not allow a clear evidence of the prevailing type of tannin. In consideration of this condition, this work sought to improve one of the existing method for the identification of tannins and flavonoids, the Ferric Chloride Test, from the development of a portable equipment equipped with an innovative methodology capable of performing phytochemical analyzes to qualify tannins and reveal the presence of flavonoids in plants of pharmaceutical, biological, automotive industrial interest, etc. The proposed methodology allows rapid and reliable analysis, greater number of analyzes in a shorter period of time, low financial and operational costs and eliminates the use of reagents harmful to the environment, since the identification is made by light beams emitted from low-voltage, high-intensity white light emitting diode (LED) and with low interference from external light beams. The equipment was tested in different plant species, and positive results were obtained in all analysis, which made possible the application of a patent for a technological product at INPI under number BR102017004374-6.

**Key words:** tannins, flavonoids, white light LED, portable device, qualitative phytochemical analysis.

## Sumário

Lista de Figuras.....	4
Lista de Tabelas.....	5
Resumo.....	6
Abstract.....	7
1. Introdução .....	10
1.1 Objetivos.....	12
1.1.1 Objetivo Geral.....	12
1.1.2 Objetivos Específicos .....	12
1.1.3 Estrutura as tese.....	12
2. Revisão bibliográfica .....	14
2.1 Taninos e flavonóides.....	14
2.1.1 Taninos.....	14
2.1.1.1 Classificação.....	16
2.1.1.2 Propriedades e aplicação .....	19
2.1.2 Flavonóides .....	20
2.1.3 Identificação de taninos e flavonóides em extratos vegetais .....	22
2.1.3.1 Análise qualitativa.....	22
2.1.3.2 Análise quantitativa.....	26
2.2 Emprego de LED para detecção de compósitos fitoquímico. ....	28
2.2.1 Diodo Emissor de Luz (LED) .....	28
2.2.2 O uso de LEDs em análises químicas .....	31
3. Materiais e métodos.....	34
3.1 Pré-testes .....	35
3.2 Desenvolvimento do dispositivo.....	36

3.2.1	Procedimentos de montagem .....	36
3.2.2	Cálculos das características do resistor (potenciômetro) .....	40
3.2.3	Avaliação do mecanismo de funcionamento do dispositivo .....	41
3.2.4	Metodologia de análise .....	41
4.	Resultados e discussão.....	43
4.1	Dispositivo portátil para qualificar taninos e flavonóides - DQTF.....	43
4.2	Testes para verificar a eficiência do dispositivo .....	43
4.2.1	Testes com folhas de Jambolão ( <i>Syzygium Cumini</i> ) e Erva-Mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> ).	43
4.2.2	Testes com cascas do caule de árvores produtoras de taninos comerciais.	45
4.2.3	Testes com amostras de produtos tânicos comerciais. ....	47
4.2.4	Testes com flores e películas de sementes .....	48
4.4	Patente de produto tecnológico .....	52
4.5	Aprimoramento do dispositivo.....	52
5.	Conclusões.....	54
6.	Trabalhos futuros .....	56
7.	Referencias bibliográficas .....	57
Anexo 1	.....	68
Anexo 2	.....	69
Anexo 3	.....	71
Apêndice	.....	72

## 1. Introdução

A análise qualitativa para identificar taninos e flavonóides tem sido realizada por diferentes métodos: teste da gelatina, reação de acetato de chumbo a 10% e o teste do cloreto férrico a 1%, conforme sugere a Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009). Entretanto esses métodos não são precisos.

Baseado nessa evidência, observou-se que os métodos qualitativos (teste da gelatina, teste da reação com acetato de chumbo e o teste do cloreto férrico a 1%), usualmente, utilizados para identificar o tipo de tanino em vegetais não permitiam evidenciar com clareza qual dos tipos prevalecia nas amostras dos extratos vegetais, visto que a análise está fundamentada no uso de fonte de luz natural que, em muitos casos, se apresenta com um foco luminoso insuficiente, baixa intensidade de luz e com incidência de raios luminosos de comprimento de onda variável, que tornam indistinguível a prevalência do tipo de tanino e a existência de flavonóide nas amostras. Tais fatos fazem com que a análise tenha que ser repetida mais de uma vez, gerando desperdício de material, perda de tempo e aumento nos custos dos testes. Para uma maior precisão nos resultados os métodos qualitativos que utilizam-se de formulações a base de chumbo que, também, apresentam problemas como um tempo maior para a execução das análises e agressividade ao meio ambiente.

Em vista dos fatos acima citados e após o desenvolvimento de uma fase de pré-testes, na qual se estudou a obtenção de substâncias extraídas de vegetais para uso em processos de inibição de corrosão de metais, surgiu a ideia de criação de um equipamento capaz de facilitar a identificação de taninos e flavonóides.

O estudo sobre os possíveis metabólicos vegetais anticorrosivos levaram ao interesse de pesquisar sobre taninos e flavonóides, que, segundo a bibliografia, comprovadamente, atendiam aos objetivos do trabalho.

Focada nas deficiências identificadas nos métodos fitoquímicos de qualificação de fenóis, desenvolveu-se o dispositivo apresentado neste trabalho

com uma metodologia inovadora capaz de identificar e qualificar, em extratos vegetais e resíduos agrícolas, o tipo de tanino e a presença de flavonóides de forma rápida e segura, com confiabilidade de resultados e efetiva redução do emprego de produtos químicos danosos ao meio ambiente. A metodologia utilizada está referenciada na revisão bibliográfica de normas recomendadas e de artigos científicos que tratam do tema.

As análises feitas com o dispositivo estão embasadas no fato de que os taninos e os flavonóides, por serem substâncias polifenólicas, quando em contato com o reagente a base de cloreto férrico diluído em água destilada, sofrem processo de oxidação formando sais de ferro que são mais facilmente identificados na análise colorimétrica.

Na condição usual e atual do teste de cloreto férrico a oxidação e o escurecimento dos extratos vegetais visualizados com a luz natural dificultam distinguir o tipo de tanino presente na amostra (condensado ou hidrolisável) ou a presença de flavonóides. Para melhorar a análise, optou-se pela utilização da luz branca emitida a partir de um LED que conduz a uma revelação de cores perceptíveis no espectro visível pelo olho humano e possibilita a comparação destas com os parâmetros do sistema de cores subtrativas proposto pela Commission Internationale L'Eclairage<sup>1</sup>.

Com o dispositivo foram feitas análises em diferentes tipos de vegetais da flora medicinal e em produtos florestais madeireiros de uso comercial que comprovaram a eficácia do equipamento e possibilitaram a obtenção de uma patente de invenção de produto tecnológico inscrita na Coordenação de Inovação Tecnológica da UFPel no dia 03/03/2017, sob o número BR102017004374-6.

---

<sup>1</sup> Comissão Internacional de Iluminação é uma autoridade internacional sobre espaços de luz, iluminação e cor, criada em 1933.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo Geral**

Obtenção de um equipamento com uma metodologia inovadora para a realização de análises fitoquímicas destinadas a detectar qualitativamente tipos de taninos e de flavonóides presentes em vegetais e resíduos agrícolas.

### **1.1.2 Objetivos Específicos**

Para atingir o objetivo geral da pesquisa foram definidas como metas a serem realizadas:

- Obter um equipamento com uma metodologia inovadora de análise, capaz de solucionar as deficiências encontradas no método qualitativo atualmente empregado para qualificar taninos e flavonóides em vegetais e resíduos agrícolas;
- Obter um equipamento, leve, com baixo custo operacional e financeiro e de fácil manuseio;
- Obter um equipamento alimentado por fontes de energia elétrica recarregável de baixa voltagem;
- Obter um equipamento portátil para uso em atividades didáticas (ensino e pesquisa), comercial e industrial.

### **1.1.3 Estrutura as tese**

A tese subdivide a revisão de literautura em três capítulos. Os capítulos estão assim constituídos:

Capítulo 1 – Contém a introdução, objetivos e a estrutura da tese.

Capítulo 2 – Trata da revisão bibliográfica sobre taninos e flavonóides, no que tange a sua origem, composição, propriedades, aplicação e métodos de identificação e extração; e sobre o emprego de LED para identificação de compostos fitoquimicos

Capítulo 3 – Apresenta os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento do dispositivo – DQTF

Capítulo 4 – Análise dos resultados da parte experimental envolvendo o emprego do dispositivo portátil e o pedido do registro de patente.

Capítulo 5 – Conclusões.

## **2. Revisão bibliográfica**

### **2.1 Taninos e flavonóides**

Taninos e flavonóides são substâncias químicas encontradas na maioria dos vegetais e em alguns resíduos agrícolas. Suas propriedades oxidantes tem efeitos terapêuticos no tratamento de doenças e na produção de cosméticos e, atualmente, tem sido utilizados para reduzir o gás metano ruminal em rebanhos bovinos. (WITZIG, et. al. 2018).

Os taninos, além do uso terapêutico, são muito empregados no curtimento natural de couros, na agricultura ecológica, na preparação de floculantes para o tratamento de águas, associado a outras substâncias como os carboidrato atuam no controle da adstringência e clarificação de bebidas. (MAMET, et al. 2018).

Por serem materiais de interesse das indústrias de curtimento, anticorrosivos, floculantes, bebidas e plásticos, etc., nas últimas décadas, inúmeras pesquisas vem sendo desenvolvidas visando o aumento das fontes de obtenção e de aplicação de taninos e flavonóides.

#### **2.1.1 Taninos**

O termo tanino, provavelmente, foi introduzido pelo químico e fisiologista francês Armand Séguin, no final do século XVII, quando descreveu as substâncias extraídas de vegetais usados para preparar peles de animais em couro tratado (BELE et al., 2010).

Os taninos são compostos químicos naturais, denominados metabólicos secundários, pertencentes ao grupo de polifenóis que reagem quimicamente, oxidam com grande facilidade, interagem com enzimas vegetais específicas e precipitam metais, como por exemplo, o cloreto férrico, ocasionando escurecimento em soluções com extratos vegetais, independente da estrutura química tânica (MELLO e SANTOS, 2001).

Os taninos tem peso molecular entre 500 e 30.000, podendo chegar até 30.000 Da. ( FALCÃO e ARAUJO, 2014). Eles estão presentes em todas as partes dos vegetais, tais como: cascas, troncos, frutos, vagens de frutas, superfície das folhas e raízes (MANÉ et al., 2007; RICCI et al., 2015).

Segundo Mello e Santos (2001), a maioria dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob forma de ésteres ou de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares. Essas substâncias apresentam capacidade de interagir e precipitar macromoléculas como proteínas e atuam como conservantes de produtos confeccionados em couro (COMBS,2016). Essa condição que os taninos tem de ligam a proteínas, fundamentam a propriedade de serem identificados por testes de precipitação de gelatinas (MELLO e SANTOS, 2001; VICRERY,1981).

O tanino é encontrado no tecido vivo do vegetal sobretudo em solução nos vacúolos. Quando a célula envelhece e perde seu conteúdo protoplasmático, o tanino é absorvido na parede celular e no tecido morto, onde se acumula em quantidades consideráveis<sup>2</sup>.

A acácia-negra é a espécie florestal mais conhecida como produtora de tanino vegetal.

Na natureza a concentração de taninos e flavonóides dentre outros metabólicos secundários é inconstante entre vegetais da mesma espécie, da mesma forma que ocorre também uma variação entre as partes dos vegetais. Segundo Belle et al. (2010), o teor de tanino varia entre as diferentes partes de uma planta. No trabalho os pesquisadores puderam constatar que, geralmente, as cascas possuem maior concentração de tanino, seguido das folhas, sementes, raízes e rizomas. Outros fatores que interferem na concentração de taninos nas plantas são as variações sazonais e ambientais, por exemplo: disponibilidade de água, temperatura, intensidade de luz e qualidade do solo (FRUTOS et al., 2004).

De acordo com Scalbert (1991), os taninos apresentam-se com concentrações que variam de menos de 2% a mais de 20% do peso seco dos vegetais e sua presença protege as plantas do ataque de herbívoros,

---

<sup>2</sup> [http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1424/1/CM\\_COALM\\_2012\\_2\\_01.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1424/1/CM_COALM_2012_2_01.pdf)

aumentando a resistência contra patógenos, contra o processo de degradação da madeira e, além disso, também protege contra a radiação UV, conforme divulgado por Brillouet, et al. (2013).

### 2.1.1.1 Classificação

Os taninos estão classificados de acordo com a sua estrutura química em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (ALQAHTANI et al., 2013). Ambos são comuns em várias plantas terrestres, sendo que os taninos hidrolisáveis originam-se a partir de grupos ésteres de poli - 3, 4, 5-trihidroxiarólo (galotaninos e elagitaninos) e os taninos condensados tem duas bases estruturais em flavan-3-ol (proantocianidinas).

Há outra classe de taninos encontrados em algas marrons denominados de florotaninos (diclorotanatos) que são derivados do floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno) (DUVAL, 2015 e ARBENZ, 2015).

Os taninos hidrolisáveis são compostos poliésteres de um grupo-OH fração de açúcar que esterifica com ácido fenólicos (Figura 1). Estes apresentam um núcleo central de poliol acilado, geralmente, um hidrato de carbono, e formam várias unidades de ácido polifenólico que estão ligadas através de ligações éster por um número variável de ácido gálico ou elágico e seus derivados formando compostos fenólicos de alto peso molecular (GRASEL et al., 2016; DEHGHAN e KHOSHKAM, 2012).

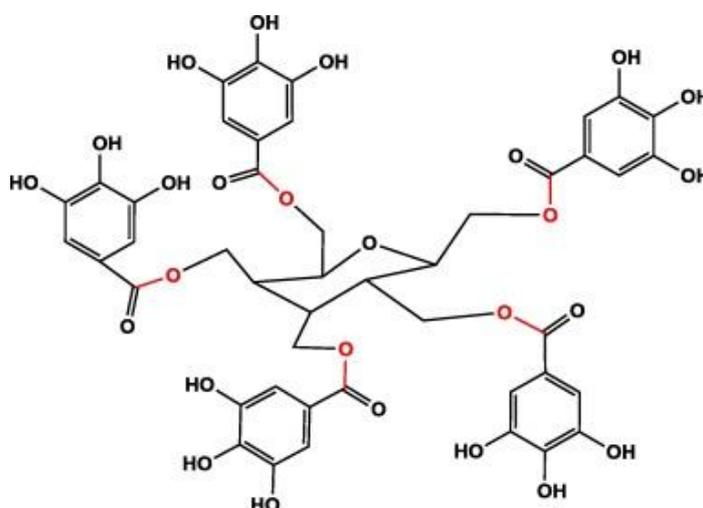


Figura 1 - Estrutura do tanino hidrolisável

Fonte: Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production (2019).

Os taninos hidrolisáveis têm a capacidade de serem fracionados hidroliticamente nos seus componentes básicos. Isto ocorre devido as suas ligações ésteres, serem susceptíveis de se romperem por hidrólise sob condições ácidas e básicas. Assim, geralmente, eles são classificados em duas subcategorias principais denominadas de galotaninas e elagitaninos.

No que se refere a localização e a origem intracelular da síntese de taninos hidrolisáveis foram desenvolvidos, através de técnicas imunocitoquímicas, dois anticorpos que reconhecem como antígenos os compostos pentagaloilglucose e a enzima galoiltransferase, catalisadora de taninos hidrolisáveis.

Esta técnica foi empregada por apresentar uma alta especificidade e um grande poder de precisão para encontrar e regiões nos cloroplastos, nos amiloplastos, na parede celular e em espaços intercelulares que apresentaram locais de formação e deposição de taninos hidrolisáveis nas folhas de *Quercus robus* L. e *Tellima grandiflora* (Pursh.) Dough.

Os taninos condensados, também chamados de proantocianidinas, são as substâncias orgânicas de maior presença nos vegetais, que apresentam diferentes estruturas e massa molecular, devido a variada composição de monômeros flavonóides, a posição de ligação interflavonóides e as modificações com substituintes não flavonóides (HÜMMER E SCHREIER, 2008).

Quimicamente os taninos condensados são definidos como oligômeros e polímeros formados na estrutura básica de flavan-3-ol (FALCÃO e ARAÚJO, 2013, 2014; MANÉ et al., 2007; RICCI et al., 2015), mais frequentemente ligados por uma ligação de carbono interflavan (Figura 2). Suas moléculas são mais resistentes à fragmentação em contato com ácidos ou enzimas e tendem a polimerizar em substâncias vermelhas insolúveis, chamadas flobafenos.

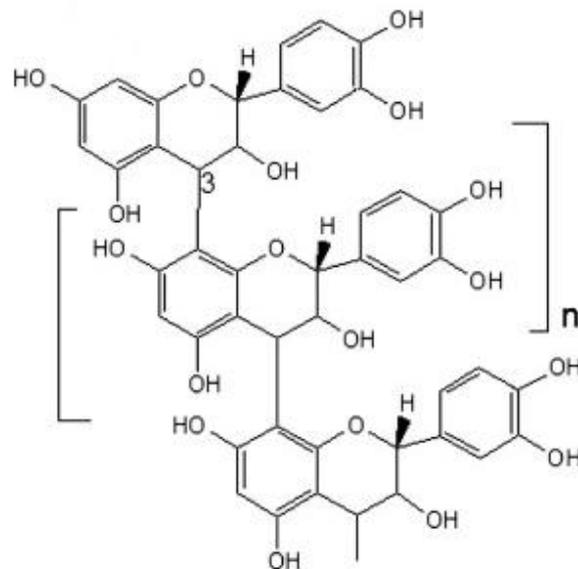


Figura 2 - Estrutura do tanino condensado

Fonte: Tannin-based biosorbents for environmental applications – A review (2016).

Os principais taninos condensados em alimentos incluem as procianidinas, prodelfinidinas, e propelargonidinas, com subunidades de catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina e epiafelazina (KENNEDY, 2003).

Recentemente, estudos foram realizados por Brillouet et al. (2013) com o objetivo de entender melhor a origem dos taninos condensados em plantas vascularizadas, denominadas *Tracheophyta*. Como resultado, os pesquisadores verificaram que a polimerização dos taninos depende do progresso da jornada dos tannosomos que ocorre em três estágios: tannosômico, *shuttle* e o estágio vacuolar das membranas vegetais. Ficou evidenciado que a ontogênese dos taninos ocorre a partir do tanossomo, estrutura essa que dá origem a organela clorofílica e propicia a polimerização de taninos condensados, na sequência atua com um agente transportador até o vacúolo contínuo nas células vegetais, conforme mostra a figura 3.

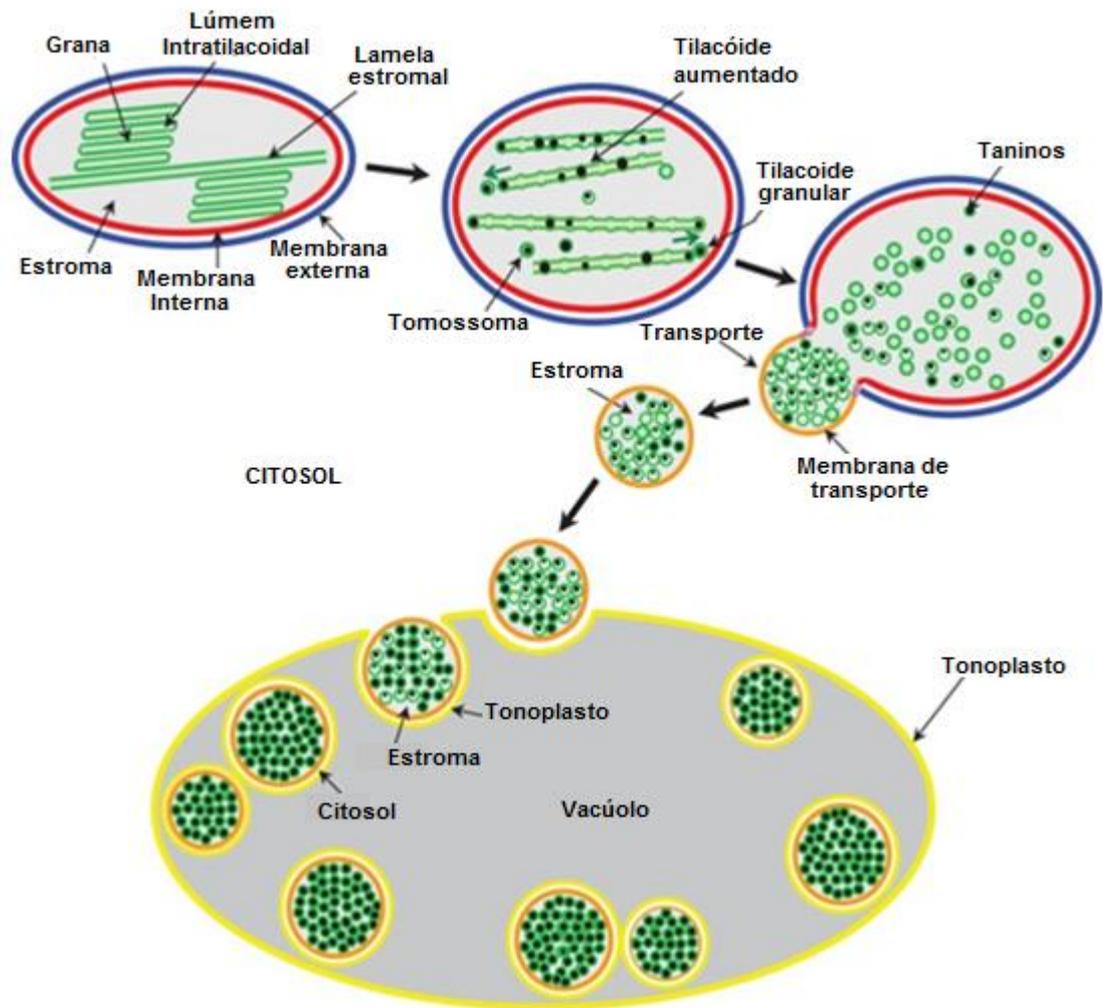


Figura 3 - Demonstração esquemática das estruturas envolvidas na polimerização na formação de taninos em plantas vasculares pelo *tannosome*.

Fonte: Brillouet et al., [Ann Bot](#) . 2013. Oct. 112 (6): p.1003-1014.

Os Florotaninos (diclorotanatos) são compostos polifenólicos formados por polimerização de unidades de clorglucinol Singh (2013) que, geralmente, são encontrados em algas marinhas e apresentam baixo peso molecular (650 kDa) se comparados com os taninos vegetais. As propriedades químicas e os papéis fisiológicos putativos referentes aos taninos florotaninos nas algas são semelhantes aos dos taninos nas plantas vasculares.

### 2.1.1.2 Propriedades e aplicação

Há séculos, as plantas medicinais ricas em taninos são usadas para tratar tecidos inflamados ou ulcerados Akinpelu et al, (2006) e para o curtimento do

couro animal que vai para a indústria produtora de calçados, luvas, roupas, estofamento de móveis e demais artigos (COVINGTON, 2009; e LAURENTI et al., 2016).

Além disto, o tanino também está presente nas frutas (uva, maçã, pera, maracujá, romã, açaí, etc.) e em muitos outros alimentos como o cacau, cravo, canela, nozes, amêndoa, feijão vermelho, pele de amendoim, etc.

Na produção vinícola, os taninos são considerados a espinha dorsal dos vinhos, atribuindo à bebida estrutura e longevidade devido a sua ação conservante.

Estudos recentes realizados sobre a aplicação do tanino mostram que este pode ser usado como floculante e coagulante em tratamentos de águas residuais (BELTRÁN-HEREDIA et al., 2010, 2011, 2012), como quelante de íons metálicos, (KUMAR, 2013), como anticorrosivo (PERES et al., 2012); para a produção de adesivos (SPINA et al., 2013a,b), na produção de produtos farmacêuticos e formulações farmacêuticas para tratar doenças ligadas ao antienvhecimento e de origem degenerativas (FRAZIER et al., 2010; QUIDEAU et al., 2011), na fabricação de espumas rígidas (BASSO et al., 2011, 2013, JANA et al., 2014; YUSO et al., 2014, AIRES et al., 2016), como agentes precipitantes de proteínas (LIU, 2013) e como antioxidantes em produtos alimentares (LOPEZ-ANDRES, 2013).

Na pecuária o uso de taninos de forma controlada ajuda na produtividade animal. Estudos realizados por Orlandi (2015) mostraram que a adição do extrato de tanino da *Acacia mearnsii* na dieta alimentar de novilhos reduziu as taxas de Nitrogênio na urina e melhorou o suprimento de aminoácidos.

### **2.1.2 Flavonóides**

Flavonóides são compostos formados por uma parte glicona (açúcar) e uma aglicona. São conhecidos mais de 5000 flavonóides e sua nomenclatura deriva do latim *flavus*, que significa amarelo. Eles estão presentes em todas as plantas angiospermas e muitas gimnóspermas.

Os flavonóides pertencem a um grande grupo de metabólitos secundários de plantas, são muito utilizados em saúde humana devido às suas atividades

biológicas e farmacológicas (DEGHAN, 2012). A estrutura química básica do flavonóide (Figura 4) considera o compartilhamento de um esqueleto de carbono comum de dois anéis de benzeno unidos por uma ponte de 3 carbonos ( $C_6-C_3-C_6$ ), .

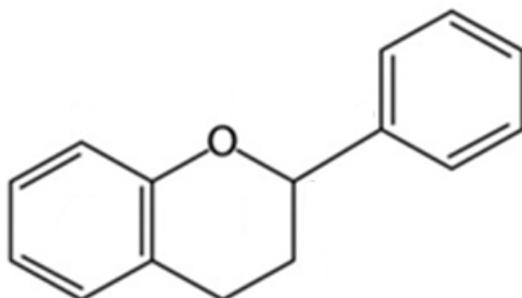


Figura 4 - Estrutura química básica dos flavonóides

Fonte: Flavonoids mediated 'Green' nanomaterials: A novel nanomedicine system to treat various diseases – Current trends and future perspective (2018).

De acordo com estudos realizados por Wagner e Hrazdina (1984), Hrazdina et al. (1987), Burbulis e Winkel-Shirley(1999 ); Saslowsky e Winkel-Shirley (2001), após a utilização de técnicas de fracionamento sub-celular com gradiente de sacarose, biologia molecular e abordagens imunocitoquímicas foi constatado que os flavonóides foram sintetizados a partir de fenilpropanóides por meio de um complexo multienzimático ligado fracamente à face citosólica do retículo endoplasmático vegetal, embora estudos anteriores, feitos por Constabel (1969), Chafe e Durzan (1973) e Parham e Kaustinen (1977), com o emprego da Microscopia Eletrônica de Varredura – MET, já tinham considerado essa mesma hipótese para a polimerização dos taninos.

Os flavonóides estão presentes em diferentes partes das plantas, desde flores até sistemas radiculares. Eles têm funções biológicas complexas e muitas vezes desconhecidas. Além de seu papel no desenvolvimento das plantas e adaptação das mesmas ao meio ambiente, eles atuam como agentes antimicrobianos, pigmentos de proteção à luz e raios UV, proteção contra patógenos e herbívoros, regulação do crescimento e da reprodução vegetal e controle do transporte de auxinas. Eles também são responsáveis pela coloração das flores o que proporciona a atração de insetos para polinização e a dispersão de sementes (KLEINDT et al., 2010; PETRUSSA et al., 2013).

Na indústria farmacêutica, os flavonóides são utilizados na composição de medicamentos devido a sua atividade promotora de saúde e seus benefícios terapêuticos. Dentre os efeitos promotores da saúde estão a melhora do bem-estar, redução das chances de danos ao aparelho cardiovascular, aumento da visão, melhora na circulação sanguínea e no sistema imunológico. Com relação as aplicações terapêuticas os bioflavonóides atuam em várias doenças: inflamatórias, cardiovasculares, respiratórias, diabetes, etc. (RENGASAMY et.al., 2018).

Segundo relato de Xu (2018), por apresentarem teores elevados de di-hidroxifenilo e de tri-hidroxifenilo, os polifenóis atuam como modificadores de superfície em diversos materiais através de ligações químicas covalentes e não covalentes, isso tem sido a causa de pesquisas na engenharia de materiais, que desenvolvem pesquisas sobre revestimentos de superfície.

De acordo com Reitzer (2018), os flavonóides e taninos, assim como outras substâncias do grupo polifenólico, vêm sendo testados na produção de biomateriais do tipo composto liberável a ser usado como revestimento imobilizador de superfície.

### **2.1.3 Identificação de taninos e flavonóides em extratos vegetais**

Os taninos e flavonóides, de acordo com Tondi e Petutschnigg (2015), são compostos polifenólicos facilmente extraídos com água em quase todas as plantas e, em alguns casos, pode-se utilizar solventes orgânicos para a obtenção de concentrações mais elevadas.

No tocante a identificação de taninos e flavonóides as formas usadas são variadas, sendo, para isto, utilizados métodos qualitativos e quantitativos.

#### **2.1.3.1 Análise qualitativa**

De acordo com a Associação Brasileira de Farmacognosia, três métodos são apresentados para identificar qualitativamente os taninos, sendo eles:

- teste da gelatina, que é usado para identificar taninos totais, em casos que ocorram a precipitação do extrato vegetal;
- teste do acetato de chumbo, que é utilizado para identificar apenas a presença de taninos hidrolisáveis; e
- teste do cloreto férrico, que é utilizado para identificar as duas classes de taninos (hidrolisáveis e condensáveis) e flavonóides.

Dos três testes qualitativos, o que causa maiores danos ao meio ambiente é o teste do acetato de chumbo, devido ao produto químico utilizado (chumbo), e outro, o da gelatina, não possibilita análise específica dos taninos. Estas duas constatações foram a principal motivação para o estudo do aprimoramento do teste do cloreto férrico que resultou em uma nova metodologia de análise qualitativa para taninos e flavonóides e na obtenção do dispositivo portátil a ser apresentado nessa tese.

Quanto aos flavonóides, os testes específicos para qualificá-los, geralmente, seguem protocolos diferenciados e se utilizam de análises químicas a partir de Reação com Cloreto com Alumínio, Reação de Shinoda, Reação de Taubouk, Reação de Pew, que utilizam em suas formulações produtos químicos como o hidróxido de sódio, Metanol, hidróxido de cloro, etc..

Embora a literatura seja escassa com relação ao uso do cloreto de férrico como reagente para detectar flavonóides convém salientar que o trabalho conduzido por Bhandary et al. (2012) em suas pesquisas para qualificar a presença de flavonóides em 1g de cascas do amendoim Bambara (*Vigna subterrena*) demonstrou que foi possível fazer uso desse reagente quando utilizou-se de algumas gotas de solução de cloreto férrico a 40%, e obteve êxito quando verificou a coloração vermelho escura como indicativo da presença de flavonóides.

Com relação ao modo de preparo do reagente para detectar fenólicos por meio do cloreto férrico, a literatura cita a recomendação de Morita e Assunção (2001) que consiste em dissolver 54 g de cloreto férrico em 1000 mL de água e adicionar 4 a 5 gotas de amônia diluída para eliminar o excesso ácido que possa conter os extratos vegetais por pertencerem ao grupo dos polifenóis, todavia não descreve quantas gotas devem ser utilizadas no momento do teste.

A literatura também cita outras formas de preparo de reagentes com sais de ferro para detectar taninos e substâncias fenólicas. Estudos realizados por Kipton et. al. (1982) para verificar a relação cinética do Cloreto Férrico ( $\text{Fe}_3\text{Cl}$ ) e o ácido gálico constatou que quando o Cloreto Férrico ( $\text{Fe}_3\text{Cl}$ ) era adicionado a soluções ácidas de ácido gálico ou de éster metílico de ácido gálico, resultando em uma cor azul escura, o que atribui-se a formação de complexos entre íons de ferro e os grupos hidroxila do ácido gálico.

Em outro estudo experimental, Singh e Kumar (2018) objetivando para mostrar a cinética de formação de complexo entre Cloreto Férrico ( $\text{Fe}_3\text{Cl}$ ) e ácido siríngico, verificaram que quando a concentração equimolar de ( $\text{Fe}_3\text{Cl}$ ) reage com o ácido siríngico, formam-se complexos de cor amarelo-pálido e verde escuro. Em um outro estudo utilizando o ácido cafeíco com a finalidade de avaliar a cinética de formação de complexo Cloreto Férrico ( $\text{Fe}_3\text{Cl}$ ), verificou a formação de complexo de cor verde escuro.

No processo de identificação dos taninos, convém salientar que os sais férricos reagem com as substâncias fenólicas (taninos e flavonóides) contidas em extratos de folhas, frutos, raízes, cascas e caule vegetais, e, por meio de reações cromogênicas<sup>3</sup>, torna-se possível identificar qual dos taninos presente está em maior concentração. Nesse teste, devido a falta de uma fonte luminosa adequada, muitas vezes ocorrem erros de análise. Todavia, a Associação Brasileira de Farmacognosia, para dar mais confiabilidade ao teste, estabelece o mínimo de 10% de cloreto férrico para a análise de vegetais com duas classes de taninos.

Conforme Iqbal et al. (2015) e Haddouchi et al. (2016), em seus estudos relacionados ao rastreio fitoquímico com os vegetais *Ammodaucus leucotrichus* e *Citrullus colocynthis*, utilizaram 8 gotas de solução de cloreto férrico diluído (1%) que foram adicionadas em 1 ml de extrato vegetal dos vegetais em estudo. Após alguns minutos em temperatura ambiente, verificou-se que o cloreto férrico ocasionou uma coloração esverdeada, indicando a presença de taninos

---

<sup>3</sup> Reações que ocorrem entre o composto a ser analisado e o reagente (reagente cromogênico), originando um produto colorido. Fonte: [www.ufrgs.br/leo/site\\_espec/index.html](http://www.ufrgs.br/leo/site_espec/index.html). Acesso em 28/01/2019.

catequéricos, também, conhecido por taninos condensados, e uma coloração azul-escuro revelando a existência de taninos gálicos, também, conhecidos por taninos hidrolisáveis.

De acordo com Hilbert (1954) e Florian (1984), o teste do cloreto férrico para a detecção de taninos é específico para compostos fenólicos e não apenas taninos e está fundamentado no princípio de que os fenólicos reagem com sais de ferro formando um produto de coloração escuro, sendo que o verde escuro é indicativo da presença de taninos condensados e o azul escuro de taninos hidrolisáveis, conforme descrevem os textos da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009) e outros trabalhos de pesquisa com fitoquímicos destinados a qualificar taninos e flavonóides.

Bhat e Al-Daihan (2014) em seus estudos com plantas medicinais de ação antibacteriana, utilizaram o teste do cloreto férrico para identificar taninos e flavonóides de acordo com o que foi proposto por Trease e Evans (, 2002), que menciona a adição de 0,8 mL de extrato vegetal em 10 mL de água destilada e, na sequência, a aplicação de duas a três gotas de solução de cloreto férrico a 1%. Na triagem fitoquímica os pesquisadores identificaram a presença de taninos condensados, devido a formação de coloração verde-escuro, e de taninos hidrolisáveis, devido a formação da cor azul escuro.

Em pesquisas realizadas por Ajayi et al. (2017) para verificar a presença de taninos, flavonóides e outros fitoquímicos em plantas medicinais, também, foi utilizado o método citado por Trease e Evans (2002). Os resultados obtidos com o rastreio fitoquímico foi a coloração verde-acastanhada ou azul-preta indicando a presença de taninos, embora para verificação de flavonóides o reagente utilizado nesse trabalho tenha sido o hidróxido de sódio que mostrou a coloração amarelada.

Em se tratando da qualificação de fenóis e taninos, Yadav e Agarwala (2011) recomendam a adição de solução de cloreto férrico a 2% em 2 mL de extrato puro vegetal e, na sequência, a verificação das possíveis alterações que podem ocorrer na coloração do meio analisado, sendo que a cor azul-verde ou preta é indicativo da presença de fenóis e taninos.

Naima et al. (2015) em seu estudo comparativo do impacto de diferentes métodos para a extração de polifenóis das cascas da *Acacia mollissima barks*, validou a possibilidade de utilizar-se dois métodos considerados tradicionais para extração de taninos; a infusão a quente, a maceração à temperatura ambiente a 20°C e, um novo método para mesma finalidade por meio de microondas.

### **2.1.3.2 Análise quantitativa**

Em suas pesquisas com polifenóis não extrativos Domínguez-Rodríguez et.al, (2017) concluiu que os métodos espectrofotométricos são os mais utilizados para quantificar taninos e flavonóides, por apresentarem benefícios como facilidade de execução e baixo custo dos experimentos (IGNAT,2011). Porém, esses métodos apenas fornecem uma estimativa do total de compostos fenólicos e não fornecem uma medição quantitativa de compostos individuais.

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

Entre os métodos colorimétricos, o método de Folin-Denis é bem reconhecido e largamente usado, mas não faz distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido ascórbico, formando precipitados que interferem na leitura espectrofotométrica (SCHOFIELD, 2001). O método Folin-Denis foi aperfeiçoado e modificado para o (FOLIN e CIOCALTEAU,1927) apud MONTEIRO et al, 2005).

Estudos realizados por Yu e Dahlgren (2000) para a avaliação de métodos quantitativos nas folhas de coníferas, usando Azul da Prússia e Folin-Ciocalteu, revelaram que esse último apresenta maior sensibilidade, para os polifenóis, usando como solvente acetona 50%. Os autores mostraram, ainda,

que o método Azul da Prússia apresentou elevada dependência do tempo de reação, quando comparado ao Folin-Ciocalteu.

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

Em ensaios colorimétricos, o método mais apropriado para a reação com galotaninos e elagitaninos é o método  $KIO_3$ , sendo o método Rodamina específico para ésteres de ácido gálico (MUELLER-HARVEY, 2001; WILSON e HAGERMAN, 1997).

Em espécies de Acer, a reação do reagente- $KIO_3$  produz com galo e elagitaninos um complexo de coloração rosa. Mueller-Harvey (2001) acrescentaram que para misturas complexas de taninos este ensaio não é viável por formar uma reação marrom antes da rosa e ser extremamente dependente da temperatura e duração da reação. Willis e Allen (1998) introduziram modificações no método  $KIO_3$  e recomendaram a investigação de um tempo ótimo de reação (dependendo de cada espécie estudada) e que não é necessário o resfriamento das amostras para o teste, como se acreditava.

Dentre os principais métodos para quantificação e determinação de taninos totais, condensados, hidrolisáveis e compostos fenólicos em geral, está o Folin-Ciocalteu, Azul da Prússia, Ácido-butanol, Vanilina e  $KIO_3$ . Todos esses métodos citados possuem tipo de ensaio químico e colorimétrico. Por essas moléculas apresentarem uma grande variabilidade de estruturas, tanto em taninos condensados como hidrolisáveis, alta reatividade de suas subunidades com materiais oxidativos e com macromoléculas, o processo de isolamento,

identificação e quantificação torna-se bastante complexo (MONTEIRO et al, 2005).

## **2.2 Emprego de LED para detecção de compostos fitoquímico.**

Tendo em vista que no dispositivo de análise qualitativa de taninos e flavonóides a metodologia proposta se utiliza de um diodo emissor de luz (LED), a seguir far-se-á considerações sobre esse produto.

### **2.2.1 Diodo Emissor de Luz (LED)**

LED é uma fonte de luz semicondutora que emite luz visível quando uma corrente elétrica flui através dele. No processo, elétrons no semicondutor recombinam com buracos de elétrons, liberando energia na forma de fótons. Este efeito é chamado eletroluminescência. O semicondutor mais utilizado é o silício.

O emprego de LEDs como fonte de luz possibilita o baixo consumo de energia elétrica (normalmente, operam com tensões elétricas entre 1,5 V e 3,3 V), alto rendimento (devido a baixa dissipação de energia) e maior vida útil (podem ultrapassar facilmente 100 mil horas de uso).

Nos LEDs é possível controlar a cor emitida a partir do tipo de semicondutor utilizado, como demonstrado nos exemplos da tabela 1.

Tabela 1– Cores emitidas pelos LEDs em função do semicondutor

<b>Tipo de semicondutor</b>	<b>Luz emitida</b>
Arsenieto de gálio e alumínio	Vermelha
Fosfato de alumínio, índio e gálio	Amarela
Fosfato de gálio	Verde
Nitreto de gálio	Azul

Os LEDs foram comercialmente disponibilizados no início dos anos 60 (SCHUBERT, 2006), emitindo primeiramente apenas luz vermelha e, posteriormente, a luzes laranja e amarelo. Por volta de 1975 surgiu o LED verde com comprimento de onda ao redor de 550 nm e com maior intensidade de luz. Os LEDs desse período emitiam luz de baixa qualidade, devido a emissão de

fótons em todas as direções que geravam perda de luz e aquecimento nas junções.

Na década de 80, surgiram os LEDs da cor vermelha e âmbar com níveis de intensidade luminosa que permitiram a substituição de lâmpadas na indústria automotiva e os LEDs azuis de curto comprimento de onda, acima de 370 nm.

No início dos anos 90 foi possível obter-se LEDs com menores comprimentos de onda (320 nm) nas cores azul, verde e ciano. E, a partir do ano 2000 foram disponibilizados para fins comerciais os LEDs ultravioleta de baixo comprimento de onda 320 nm (BUI, 2015).

Os LEDs de luz vermelha são utilizados como indicadores de circuitos eletrônicos e em pesquisas agrícolas (YEH, 2014). Os LEDs que atuam na faixa amarela e verde são as fontes de luz mais utilizadas em pesquisas relacionadas a aquicultura e produção de biomassa à base de algas e os LEDs azuis atuam no controle de doenças em plantas (SCHUERGER, 1997) e no cultivo e crescimento de tecidos vegetal (BROWN, 1995).

Os LEDs invisíveis perto da região do infravermelho são usados para controle remoto, abridores automáticos de portas, em telecomunicações de fibra óptica etc... E, particularmente, os LEDs ultravioleta compõem os sistemas de análises de equipamentos de alta resolução em engenharia, bioquímica, biologia molecular etc., e, também, são utilizados em processos de esterilização e desinfecção de laboratórios e ambientes hospitalares.

Os LEDs brancos, também, conhecidos como RGB (*red, green, blue*), foram os últimos a serem lançados no mercado, na década de 1995. Eles são formados por três LEDs: um vermelho, um verde e um azul e por camadas de fósforo remoto (Figura 5).

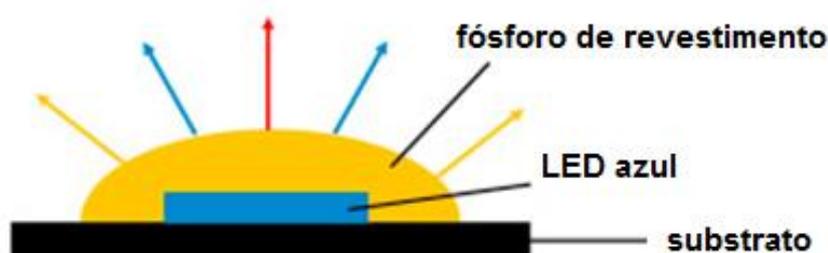


Figura 5 - Representação esquemática da obtenção de luz branca em LEDs.

Fonte: Lub, J.; et.al.(2018) - Synthesis of yellow fluorescent dyes derived from benzoxanthene that can be used in colour converters for remote phosphor LED systems.

Nos LEDs brancos ocorre um espaçamento entre o fósforo remoto e a fonte emissora que é preenchido por uma cápsula com um revestimento altamente refletivo que garante que as ondas refletidas sejam capazes de deixar o dispositivo com poucas perdas óticas, conforme demonstrado na figura 6.

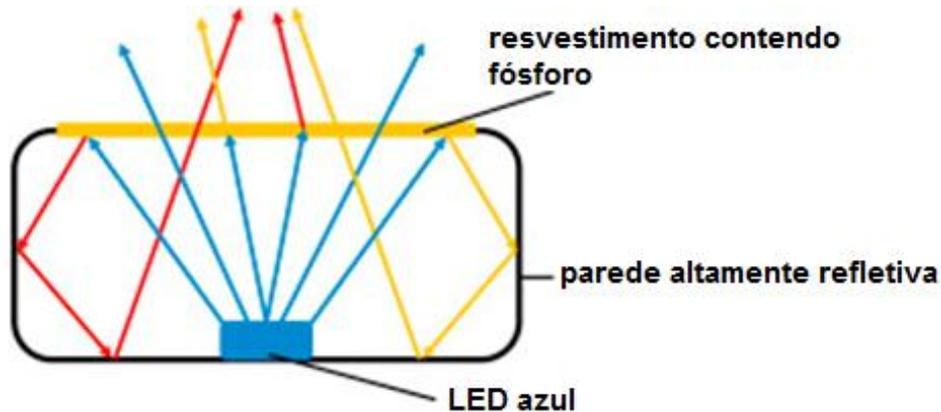


Figura 6 - Nova configuração do LED com a tecnologia do fósforo remoto

Fonte: Lub, J.; et.al.(2018) - Synthesis of yellow fluorescent dyes derived from benzoxanthene that can be used in colour converters for remote phosphor LED systems.

Segundo Schiel (2012), somente com a tecnologia do fósforo remoto foi possível a emissão de luz branca com capacidade suficiente para abranger toda a faixa do espectro visível, conforme demonstrado na figura 7.

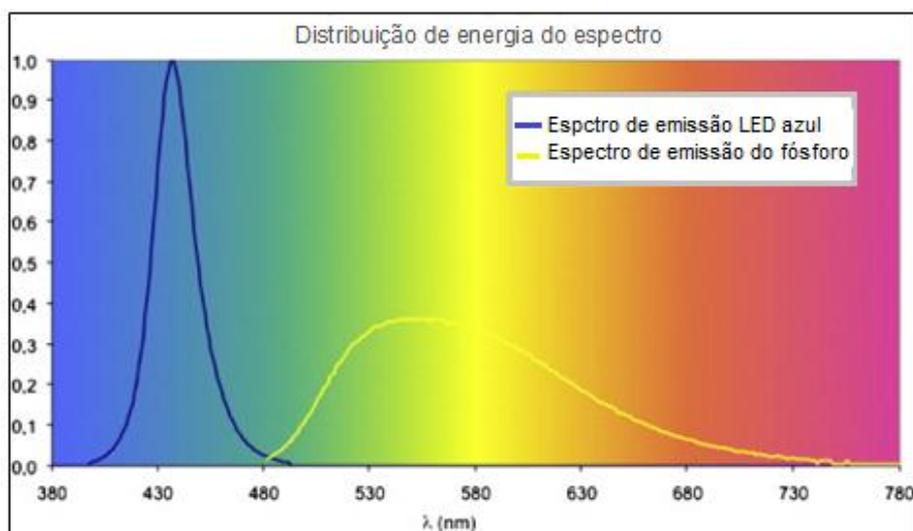


Figura 7 - Representações espectrais de luz branca usando LEDs

Fonte: Elsevier - Light-emitting diodes (LED) for domestic lighting: Any risks for the eye?(2011).

O espectro de um LED azul com bandas entre 390 a 450 nm, quando combinado com uma camada de fósforo remoto emite um feixe de luz branca com abrangência em todo o espectro visível, essa condição torna o LED branco tipo chips um componente ideal para realização de análises colorimétricas para visualização a olho nu.

### **2.2.2 O uso de LEDs em análises químicas**

Nas análises químicas qualitativas de substâncias orgânicas, os métodos colorimétricos possibilitam a identificação por meio visual quando as amostras por absorção entram em contato com um reagente químico específico, capaz de gerar uma cor de intensidade diretamente proporcional à concentração da substância na mistura original (GORDON, 1995). Para que se possa visualizar a coloração obtida após um processo reativo é necessário o uso de fonte luminosa com propriedade satisfatória para interagir com as substâncias contidas nos extratos vegetais e, por meio de transmitância, revelar a cor resultante do processo reativo.

Os LEDs começaram a ser utilizados em análises de substâncias químicas desde o final dos anos 80. Nesta época, as aplicações envolviam, principalmente, medições de absorbância<sup>4</sup> em células de fluxo contínuo.

Do ponto de vista energético, os LEDs são os meios mais eficientes de produção de luz monocromática com foco centralizado, condições estas ideais para dispositivos analíticos de pequeno porte. Estes permitem o ajuste da intensidade da luz e da composição espectral (YEH et. al., 2014), sendo esta característica uma das muitas vantagens que esses componentes eletrônicos oferecem, quando comparados com outras fontes emissoras de luz de estado sólido, para a realização de análises espectroscópicas que se utilizam simplesmente do realce da cor para a identificação de substâncias orgânicas. Além disto, de acordo com Bui (2015) e Macka (2014), outros aspectos como o tamanho reduzido, o baixo custo, a longa vida útil e o baixo ruído reforçam a utilização dos LEDs nos equipamentos da química analítica.

Os primeiros pesquisadores que se utilizaram dos LEDs como fonte espectroscópica foram Hauser e Chiang (1993) que, também, foram pioneiros nos relatos do uso de LED azul.

Os LEDs recomendados para serem utilizados em análises químicas eram constituídos externamente por um terminal anodo (+), um terminal catodo (-) e uma lente plástica, e, internamente, por uma aleta de dissipação, uma base de silício protegida contra ESD - *Electrostatic Discharge*, chips semicondutor InGaN (Nitreto- Índio-Gálio), pequenos filamentos de ouro e uma cápsula de silicone (Figura 8).

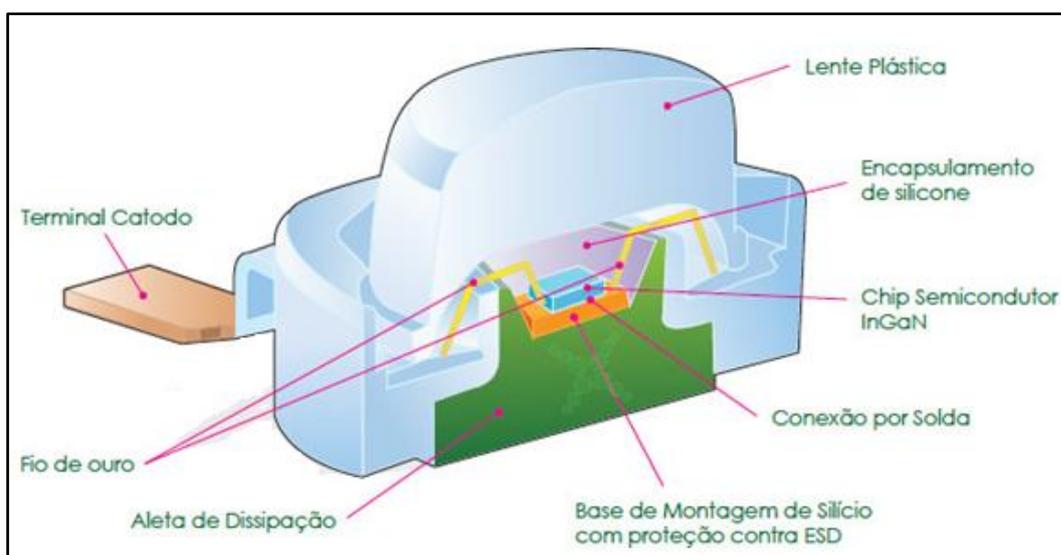


Figura 8 – Esquema de LED tipo chips de 3 Watts.

Fonte: <https://www.iar.unicamp.br/lab/luz/dicasemail/led/dica36.htm>. Acesso: 15/01/2019.

Os LEDs monocromáticos possuem lentes esféricas, ângulos de feixe estreito, alta eficiência de corrente e temperatura entre de 5.000 a 6000 K (Kelvin) com baixa produção de calor. Estes, segundo Bui e Hauser (2015), emitem um feixe luminoso com intensidade suficiente para transpassar um recipiente transparente com soluto contendo substâncias orgânicas e ou inorgânicas de densidade variada, de forma que o feixe luminoso transmitido possa ser detectado pelo olho humano normal (BEHAR-COHEN et.al., 2011) ou por aparelhos de espectrofotometria no espectro visível.

A interação dos LEDs com amostras é fundamentada na Lei de Beer-Lambert (1852), que considera para sua aplicação fatores como: a presença de

feixe luz monocromática, centros absorventes independentemente um dos outros, distribuição homogênea das moléculas na amostra, passagem do feixe de medição completo através da amostra, ausência de dispersão de luz e de reações fotoquímicas na amostra e uma detecção e processamento ideal dos valores de intensidade do feixe luminoso transmitente (MANTELE e DENIZ, 2017).

Com a evolução de componentes eletrônicos, basicamente no que se refere à progressão do comprimento de onda e do controle de intensidade do fluxo luminoso, novas pesquisas relacionadas a química analítica foram sendo realizadas com mais segurança nos resultados (FLASCHKA et al., 1973).

No entanto, ainda que tendo surgido desde 1995, até o presente trabalho, pesquisas com LEDs de luz branca como fonte emissora de luz para análises qualitativas de substâncias orgânicas são raras na literatura científica. Tal fato justifica a pesquisa desenvolvida nessa tese que buscou a partir do uso das propriedades do LED de luz branca realizar a qualificação de taninos e flavonóides de forma eficiente, segura e rápida.

### 3. Materiais e métodos

Para o desenvolvimento do trabalho foram realizadas duas etapas: a fase de pré-testes e a fase de desenvolvimento do dispositivo, conforme demonstrado na figura 9.

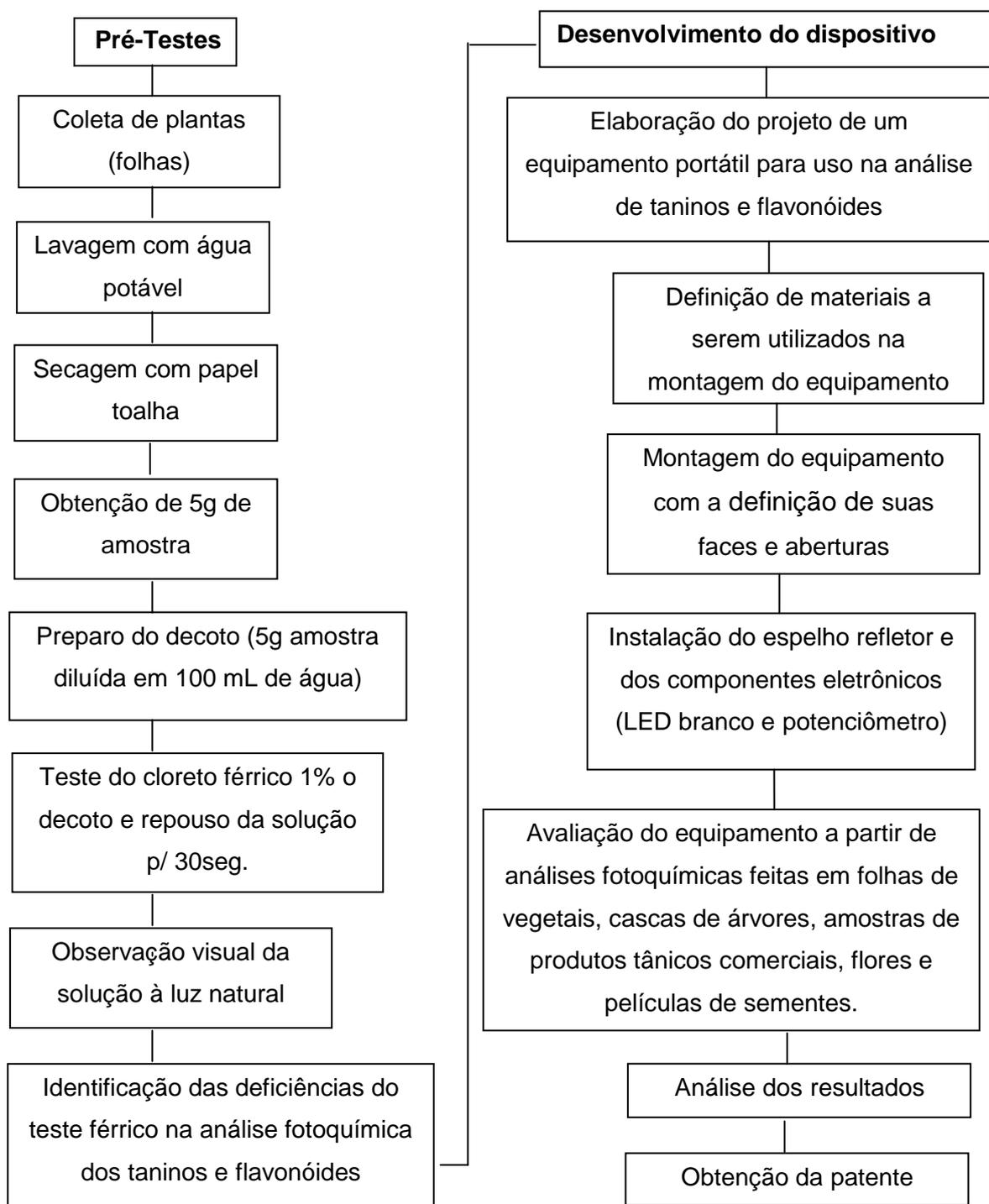


Figura 9: Fluxograma das etapas desenvolvidas no trabalho

Para o desenvolvimento das etapas previstas no fluxograma foram executadas as seguintes tarefas:

### 3.1 Pré-testes

Na fase inicial desse trabalho pesquisou-se a presença de taninos e flavonóides em folhas de plantas.

No processo, foram colhidas folhas de Jambolão (JAM), Erva-Mate (MAT), Goiabeira (GO), Abacateiro (ABA) e Pitangueira (PIT), que foram limpas em água corrente e secas com papel toalha. Posteriormente, das folhas foram retiradas amostras com dimensões de 1 x 1 cm<sup>2</sup>, que foram pesadas em balança de precisão de 5 g e colocadas em um Becker de 100 mL com água destilada para ferver por 15 minutos. Após a fervura, obteve-se uma solução denominada decocto<sup>5</sup> que foi resfriada foi retirado 5 mL e colocado em tubos de ensaio.

O método utilizado para qualificar os taninos e flavonóides presentes nos extratos das folhas testadas foi o Teste do Cloreto Férrico a 1%, indicado pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009), onde em 2 mL da solução resultante do decocto da planta adicionou-se 10 mL de água destilada, e na sequencia colocou-se 03 gotas da solução de FeCl<sub>3</sub> a 1% em etanol, após 30 segundos em agitação houve total impregnação da cor na solução.

A figura 10 apresenta reação em curso do Cloreto Férrico 1% nas soluções obtidas com as folhas testadas.

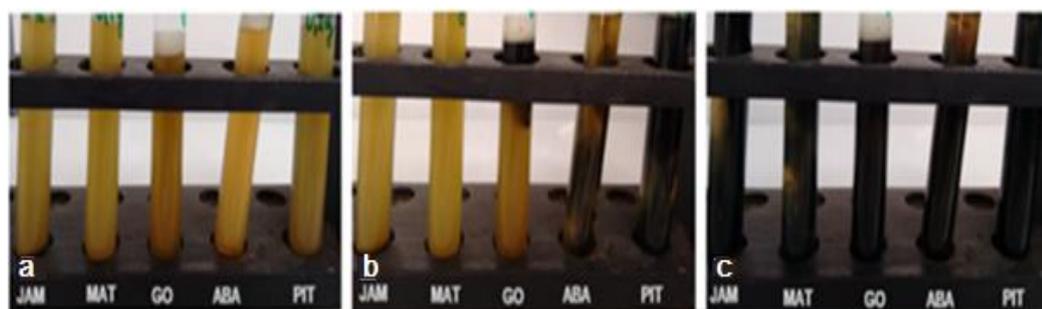


Figura 10 - Teste do Cloreto Férrico 1% usado na identificação de taninos e flavonóides nos extratos vegetais das folhas testadas. ( a) extrato sem o reagente; (b)extratos com reagente após 30 segundos (c) extratos com reagente após 3 minutos.

<sup>5</sup> Preparado farmacêutico obtido por fervura de plantas em água, coando e espremendo, em seguida, o líquido. Fonte: <https://www.infopedia.pt/dicionarios/termos-medicos/decocto>. Acesso 07/03/19

A análise dos resultados mostrou que houve oxidação (escurecimento) das soluções, indicando a presença de metabólicos secundários sem definição do tipo. A imprecisão obtida foi o motivo para o interesse no aprimoramento do método utilizado e para a hipótese de inovação do processo.

### **3.2 Desenvolvimento do dispositivo**

Para a montagem do dispositivo foram adquiridos comercialmente os seguintes materiais:

- um estojo plástico de polietileno (PE) em forma paralelepipedal, dimensões de 152 mm (comprimento); 35 mm (largura); 96 mm (altura); com tampa parafusada.
- um porta-amostra em forma de tudo de ensaio com capacidade para 15 mL.
- um visor de vidro incolor, dimensões de 22 mm (largura) x 68 mm (comprimento).
- um espelho refletor, dimensões de 33 mm (largura) x 98 mm (altura).
- um pino metálico rosqueado para controle de avanço e recuo do espelho refletor.
- uma placa metálica com entrada USB para acessar a fonte de alimentação;
- uma fonte de alimentação elétrica conversora de 110/220 volts para 5 volts;
- um potenciômetro com função liga/desliga, potência de 100 W para controle da intensidade do fluxo luminoso.
- um cabo USB tipo A.
- um LED de luz branca de 3W ; tensão de entrada :3,2 – 3,4volts; corrente de entrada:700 miliampéres.

#### **3.2.1 Procedimentos de montagem**

Para o desenvolvimento do dispositivo foram elaborado desenhos esquemáticos (figura 11) que serviram de base para inter-relacionar os espaços

físicos, definir os materiais mais adequados e orientar na montagem mecânica das peças e componentes eletrônicos.

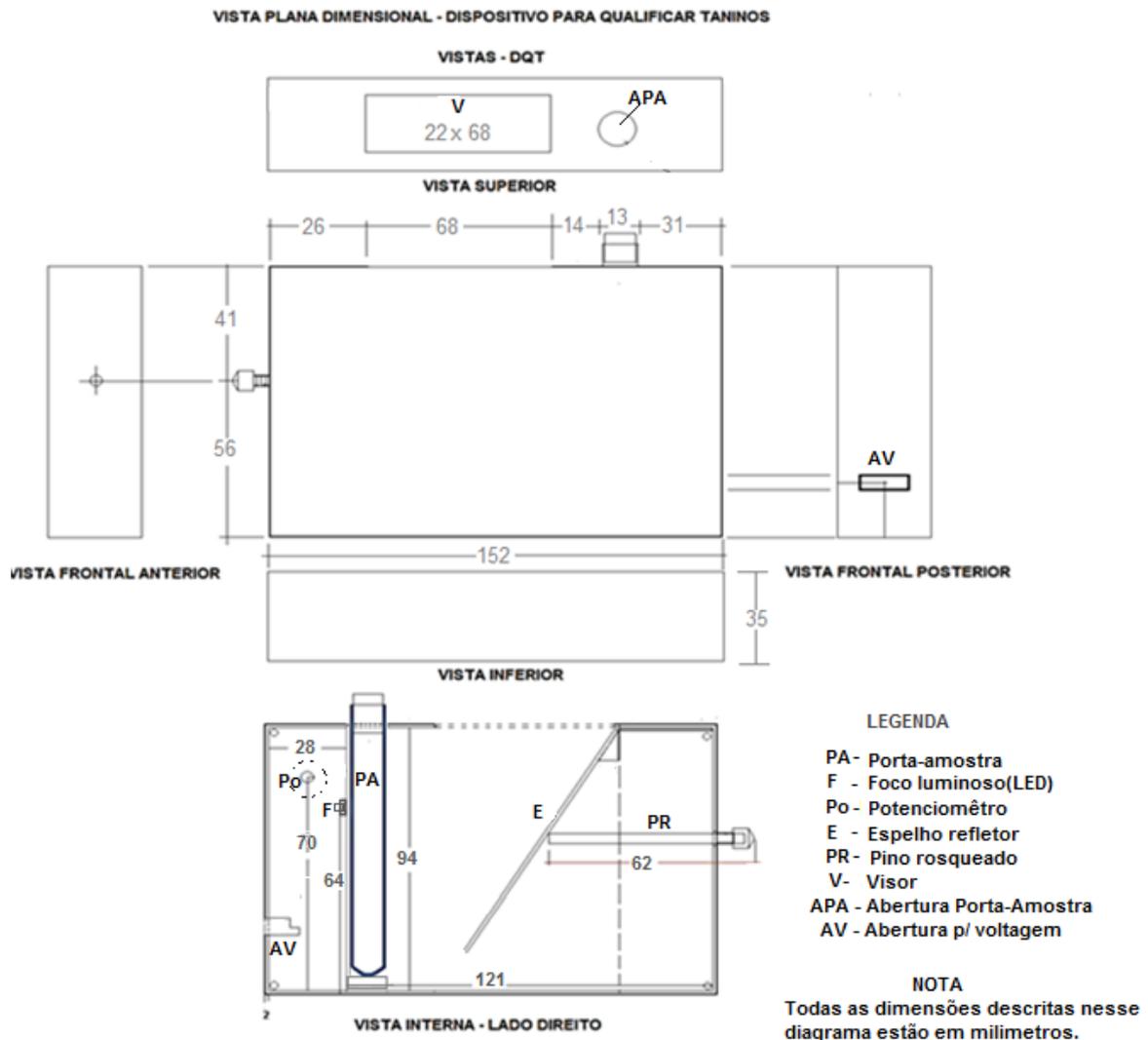


Figura 11 – Desenho esquemático do dispositivo com definição das vistas e do espaço interno do estojo plástico.

O dispositivo foi montado no estojo plástico em duas etapas: Instalação de peças mecânicas e instalação de componentes eletrônicos.

#### 1º) Instalação das peças mecânicas

No estojo plástico fez-se aberturas de acesso na vista superior (Figura 11), ficando estas assim definidas: uma abertura retangular para a visualização das análises, com dimensões iguais a 22 mm x 68 mm, largura e comprimento,

respectivamente; e uma abertura circular para servir de entrada do porta amostra com 13 mm de diâmetro.

Na vista frontal anterior (Figura 11) foi feita uma abertura com 5 mm de diâmetro, para a passagem de um pino rosqueado usado como chave reguladora do espelho refletor.

Na vista frontal posterior (Figura 11) foi feita uma abertura para a colocação da placa metálica a ser ligada ao potenciômetro e a conexão do cabo USB, com dimensões iguais a 0,7 mm x 10 mm; altura e largura, respectivamente; e uma abertura para a saída do pino do potenciômetro, com 4 mm de diâmetro.

A vista inferior permaneceu inalterada.

## 2º) Instalação dos componentes eletrônicos

Para o funcionamento do dispositivo utilizou-se um circuito elétrico alimentado por uma fonte com tensão de 5 volts, obtido por meio um conversor de energia elétrica portátil com entrada de 110-220v; 50-60 Hz; 0,3 A a saída de 5v; 1,55 A, conforme demonstrado na figura 12.

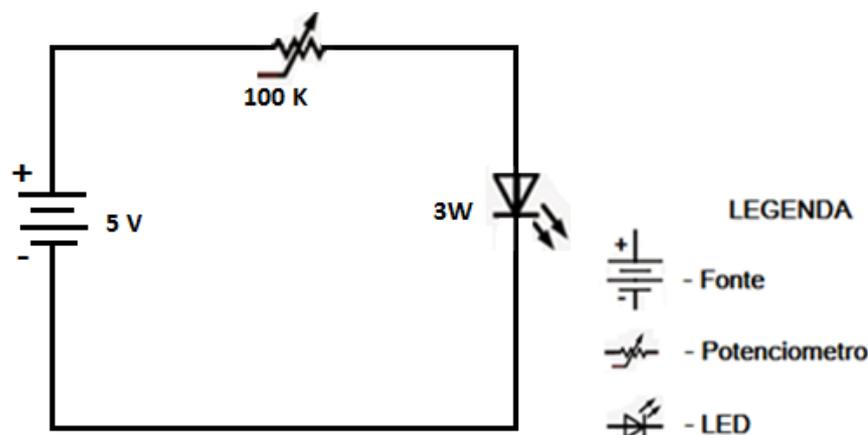


Figura 12 - Circuito elétrico utilizado na montagem do dispositivo

Para a conexão entre a fonte alimentação e o dispositivo utilizou-se um cabo USB tipo A (Figura 13).



Figura 13 - Cabo USB (Universal Serial Bus), tipo A.

No circuito elétrico, foi instalado um potenciômetro linear de 100k (Figura 14) com a função de ligar e desligar o LED de luz branca e, também, de controlar a intensidade do fluxo luminoso de modo a facilitar a visualização das cores nas amostras com diferentes concentrações.



Figura 14 - Potenciômetro linear - modelo 100 K.

Fonte: [www.amazon.com](http://www.amazon.com). Acesso em 01-03-2018.

Um LED branco de 3 W tipo *chips* (Figura 15), responsável pela emissão do fluxo luminoso foi instalado próximo ao porta-amostra de forma que sua face refletora incida na parte central do porta-amostra. Os dados técnicos do LED branco e da resistência do potenciômetro utilizados encontram-se no Anexo 1, p. 68.



Figura 15 - Led branco 3W - 3,4v/6500K.

Fonte: [www.amazon.com](http://www.amazon.com) – acesso em 01-03-2018

### 3.2.2 Cálculos das características do resistor (potenciômetro)

Considerando que o circuito elétrico do dispositivo é alimentado com tensão 5 de Volts, um potenciômetro de 100K e um LED branco de 3W, foi realizado o cálculo da resistência do resistor (potenciômetro).

Com base nas informações técnicas do LED e utilizando-se da equação 1 foi possível calcular a resistência do (resistor) potenciômetro, utilizado no projeto para concepção do dispositivo.

$$R = (V_{CC} - V_{led}) / I \quad (\text{eq. 1})$$

Onde:

R= Resistência ( $\Omega$  - Ohms)

$V_{CC}$ = Tensão da fonte de alimentação (V - Volts)

$V_{led}$ = Tensão do LED (V - volts)

I = Intensidade da corrente do LED (A - ampères)..

A partir do valor da resistência do LED e utilizando-se da equação 2 foi possível determinar a potência do potenciômetro (resistor) e potencia do LED utilizado no circuito do dispositivo.

$$P = V \cdot R \quad (\text{eq. 2})$$

Onde:

P= potência (watts) do potenciômetro

V= tensão de 1,4 volts, correspondente a # entre  $V_{CC}$  e  $V_{led}$

R = resistência do potenciômetro igual a 2,3  $\Omega$  (Ohms).

### 3.2.3 Avaliação do mecanismo de funcionamento do dispositivo

No dispositivo, para uma adequada análise, as distâncias entre a fonte luminosa, o ponto de entrada de luz e o ponto de saída dos raios luminosos em relação ao porta amostra são fundamentais. Após inúmeros testes, para evitar distorções geométricas da imagem, verificou-se ser necessária a distância de:

- 1mm entre a fonte luminosa (LED) e o ponto de entrada do feixe luminoso quando esse incide no porta amostra, para que o feixe mantenha a sua intensidade original e seja absorvido com sua máxima integridade;
- 88 mm entre a saída do feixe luminoso incidente até a face refletora do espelho com inclinação total
- 94 mm entre a saída do feixe luminoso incidente até a face refletora do espelho declinado no ponto máximo

Complementando o aprimoramento para obtenção de uma imagem sem distorções e com propriedade ideais para análise, o interior do dispositivo tem uma coloração preto opaco que atenua a refração da luz do LED de cor branca.

### 3.2.4 Metodologia de análise

No processo, para que ocorram as análises, inicialmente, são obtidos os extratos vegetais que são preparados para a obtenção das soluções à serem analisadas, conforme o método sugerido pela Sociedade Brasileira de farmacognosia (2009).

No preparo das soluções, os extratos são colocados em porta amostras com 3 gotas de Cloreto Férrico a 1% em etanol e deixados em repouso por 30 segundos. Passado o período de repouso, o porta amostra é inserido no dispositivo que é, então, ligado por meio do potenciômetro para permitir a entrada de energia elétrica e do ajuste da intensidade do foco que ocorre na medida em que a chave é girada em sentido horário.

Para a identificação efetiva dos taninos e flavonóides presentes nas soluções utilizou-se a tabela de cores da figura 16, proposta pela Sociedade Brasileira de Farmocognósia (2009)

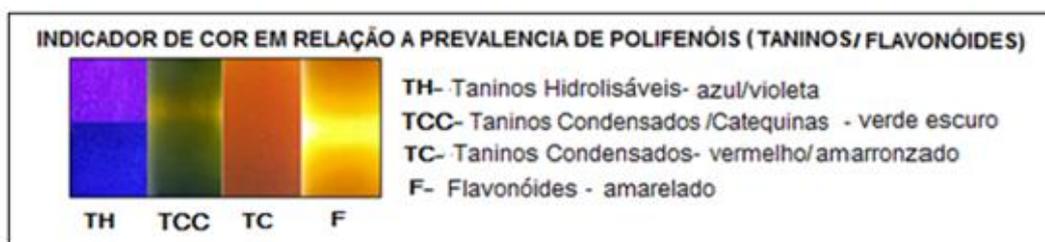


Figura 16 – Tabela de cores indicativas da presença de taninos e flavonóides.

Fonte: [www.sbfgnosia.org.br/Ensino/taninos](http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/taninos). Acesso 08-03-2018

Com o objetivo de testar a eficiência do dispositivo foram feitos testes com folhas de vegetais, com cascas de árvores produtoras de taninos comerciais, com amostras de produtos tânicos comerciais e com flores e películas de sementes.

## 4. Resultados e discussão

### 4.1 Dispositivo portátil para qualificar taninos e flavonóides - DQTF

A figura 17 apresenta imagens do “Dispositivo portátil para qualificar taninos e flavonóides - DQTF”, nas quais é possível ver que o equipamento é de pequeno tamanho, leve e de fácil manuseio. Cabe aqui salientar que, para a sua fabricação, são utilizados materiais de fácil obtenção no mercado, longa vida útil e baixo custo, possibilitando, por isto, comprovada redução do custo de manutenção.



Figura 17 – Imagens externas do dispositivo DQTF

### 4.2 Testes para verificar a eficiência do dispositivo

Os resultados dos testes feitos para análise da eficiência do dispositivo DQTF serão apresentados considerando os diferentes tipos de extratos vegetais

#### 4.2.1 Testes com folhas de Jambolão (*Syzygium Cumini*) e Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*).

Com os extratos vegetais feitos a parti de folhas de jambolão e folhas de erva-mate foram preparadas soluções que foram colocadas em dois tubos de ensaio (Figura 18) um contendo a solução diluída das folhas de Jambolão,

identificado por um círculo branco e o outro com a solução diluída das folhas de Erva-Mate, identificado por um círculo vermelho.

Para comprovar a eficiência do equipamento, neste experimento, fez-se uma análise comparativa usando diferentes fontes de luz. Para tanto, as soluções foram expostas a dois tipos de luminosidade: luz artificial de lâmpadas fluorescentes (Figura 18 a) e luz artificial de LED branco do dispositivo DQTF (Figura 18b).

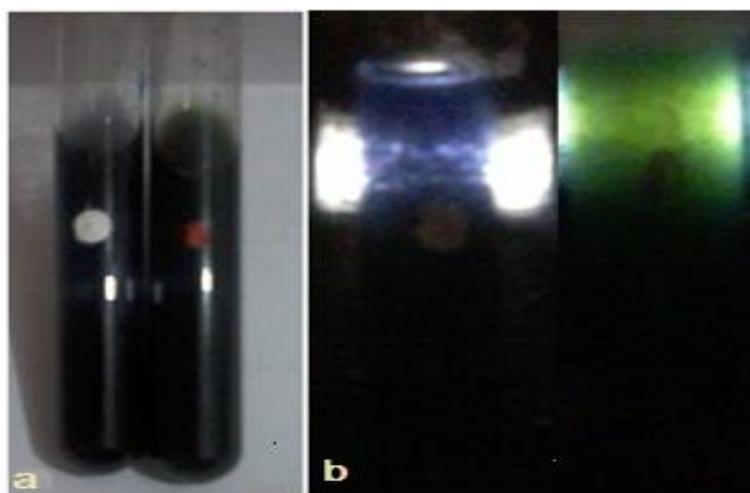


Figura 18 - Testes com folhas de Jambolão (*Syzygium Cumini*) e folhas de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*). (a) tubos expostos a luz fluorescentes; (b) tubos expostos a luz do LED branco do dispositivo.

As análises das soluções através da luz artificial fluorescente (Figura 18a) mostraram-se com colorações indefinidas sem possibilidade de qualificar o tipo de tanino ou flavonóide presente. A justificativa para esse resultado está na intensificação dos raios luminosos gerados no ambiente com luz artificial em razão da intensa coloração causada pela ação do reagente.

Porém, quando analisadas pela luz do LED branco do dispositivo DQTF (Figura 18b), as mesmas amostras puderam ser qualificadas quanto a presença de taninos devido a qualidade de definição das cores, possibilitando com segurança a afirmação da presença de taninos hidrolisáveis (coloração azul) para o Jambolão e de taninos condensados de catequina (coloração verde) para a Erva-Mate. A justificativa para a qualidade de definição das cores está na presença da luz branca do LED que gera raios luminosos de maior espectro e definição.

Cabe aqui salientar que nos referencias bibliográficos são identificados resultados semelhantes aos obtidos no dispositivo DQTF. Como exemplo, cita-se os resultados obtidos por Tavares, et. al. (2016), que em seus estudos para determinar composição de fenólicos em folhas de Jambolão (*Syzygium cumini*), identificou por meio de análises químicas por HPLC a presença de seis ácidos fenólicos e quatro flavonóides sendo o ácido tânico o composto que apresentou maior relevância dentre os demais ácidos fenólicos identificados nos extratos de folha do jambolão.

Também, no trabalho dos pesquisadores Arieta et. al. (2017), que se utilizaram do resíduo de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) para o desenvolvimento de filmes bionanocompósitos à base de PLA-ácido láctico, os resultados mostraram que dentro das principais substancias bioativas da erva-mate constava saponinas e taninos, porém em quantidade menor devido ao processo de extração hidrotérmica utilizado na sua pesquisa, que era realizado em alta temperatura 100°C e por um longo período de tempo ( uma hora).

Outro trabalho que corrobora com os resultados obtidos no dispositivo é o de Kungel, et. al. (2018) que em suas investigações sobre a atividade antioxidante e antimicrobiana de um polissacarídeo purificado da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) relata dentre os diferentes componentes químicos encontrados na erva-mate se destacam os ácidos fenólicos, ácidos cafeíco, ácido clorogênico e seus derivados, além dos flavan-3-ols, como a catequina precursor dos taninos condensados de catequinas.

#### **4.2.2 Testes com cascas do caule de árvores produtoras de taninos comerciais.**

Para esse experimento a empresa produtora de taninos comercial SETA S.A., localizada no município de Estância Velha – RS, em 23/04/2018, enviou cinco cascas de vegetais de diferentes espécies, região, idade, manejo e microclima, moneadas com as letras A, B, C, D e E pelo laboratório de Controle

de Qualidade da própria empresa, para a realização de um teste duplo-cego<sup>6</sup>, conforme e-mail datado no dia 24/04/2018 (Anexo 2, p. 69).

A partir das cascas obteve-se os extratos vegetais que foram, posteriormente, utilizados para a obtenção das soluções à serem analisadas no dispositivo. A tabela 2 apresenta os resultados obtidos, os quais foram enviados para empresa, em 28/04/2018.

Tabela 2 – Análise da presença de taninos com o dispositivo DQTF.

<b>Amostra</b>	<b>Imagem obtida</b>	<b>Classe polifenol</b>
A		Taninos hidrolisáveis
B		Taninos condensados
C		Taninos condensados
D		Taninos condensados
E		Taninos condensados

<sup>6</sup> Estudo duplo-cego ou ensaio clínico em dupla ocultação é um método de ensaio clínico realizado em seres humanos onde nem o examinado nem o examinador sabem o que está sendo utilizado como variável em um dado momento. É comumente usado como critério de validação de práticas experimentais quantitativas em ciência. Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Duplo-cego>. Acesso em 05/03/2019

Em resposta aos resultados obtidos, no dia 07/05/2018, por e-mail, a empresa enviou os resultados dos testes feitos em seu laboratório de Controle de Qualidade (Tabela 3), enfatizando no texto da correspondência o seguinte: “A casca C é de um tipo de pinus, mas não encontrei o registro preciso da espécie. Ela veio da Europa e estava guardada muito tempo aqui no laboratório para testes. Acho que é *Pinus pinea*, mas não posso confirmar. **De qualquer forma, embora não tenha conseguido dizer nos casos onde havia dois tipos de taninos na casca, acertou todas as amostras pensando em tanino majoritário presente na casca.** Este dispositivo pode ser interessante se for portátil e consiga identificar rapidamente a amostra pensando em pesquisas de campo”

Tabela 3 – Análise da presença de taninos disponibilizada pela SETA S. A.

Rótulo	Espécie	% TC*	% TH**
CASCA A	<i>Eucalyptus grandis</i>	35%	35%
CASCA B	<i>Acacia mearnsii</i>	100%	0%
CASCA C	Desconhecida	66%	34%
CASCA D	<i>Pinus elliottii</i>	90%	10%
CASCA E	<i>Acacia mearnsii</i>	100%	0%

Obs.: \*TC – Taninos condensados \*\*TH – Taninos hidrolisáveis

A análise comparativa entre as duas tabelas mostrou que os resultados obtidos no dispositivo DQTF estavam corretos e que o equipamento identificou de modo preciso o tanino de maior concentração.

#### 4.2.3 Testes com amostras de produtos tânicos comerciais.

Nesse experimento, a pedido do autor desse trabalho, conforme documento de solicitação (Apêndice, p. 72), foram utilizadas duas amostras de extratos vegetais de produtos tânicos de uso comercial disponibilizadas pela empresa TANAC S.A., localizada na cidade Montenegro-RS.

Após a preparação das soluções fez-se as análises qualitativas no dispositivo que resultaram na identificação da prevalência de Taninos Condensados nas duas amostras enviadas, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise da presença de taninos com o dispositivo DQTF.

Amostra	Imagem obtida	Classe polifenol
Produto Weibull black		Taninos condensados
Supertan pó		Taninos condensados

#### 4.2.4 Testes com flores e películas de sementes

Esse experimento foi realizado com o objetivo de testar a eficiência do dispositivo DQTF para qualificar taninos em flores das plantas Camomila (*Matricaria recutita*), Marcela (*Achyrocline satureioides*) e na película das sementes do Amendoim Vermelho.

No processo, inicialmente, obteve-se os extratos vegetais que foram diluídos em água destilada e colocados nos porta amostras (Figura 19a), identificados pela letra maiúscula de cada uma das plantas, ou seja, letra C para a Camomila, letra M para a Marcela e letra A para o Amendoim Vermelho.

Posteriormente, propiciou-se a reação com o Cloreto Férrico a 1% (Figura 19b) e, na sequência, fez-se a análise das soluções no dispositivo DQTF.

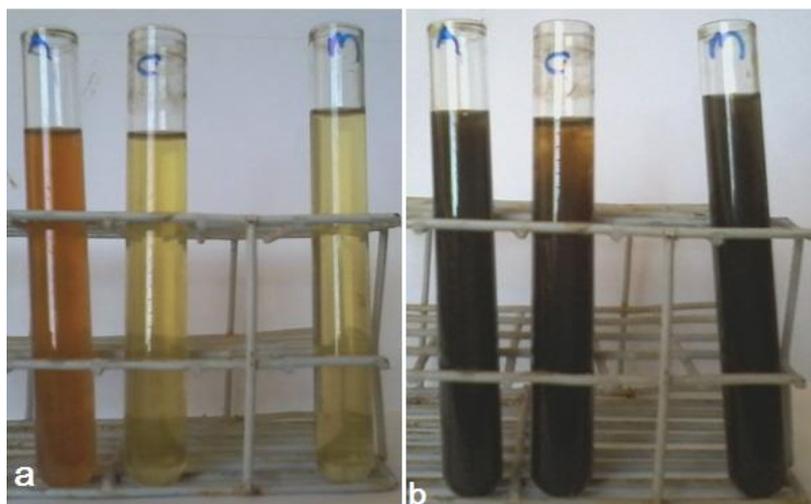


Figura 19 - (a) Extratos vegetais das amostras diluídas em água; (b) soluções obtidas após a reação com o cloreto férrico.

Como resultado, obteve-se a identificação da prevalência de flavonóides (Figura 20) nas soluções testadas.

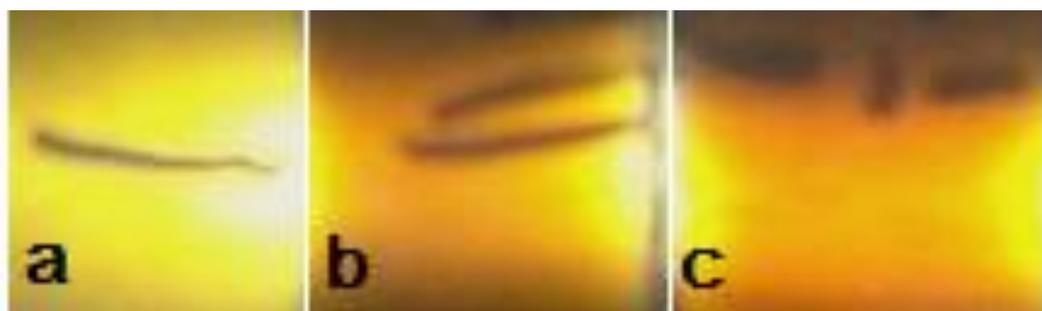
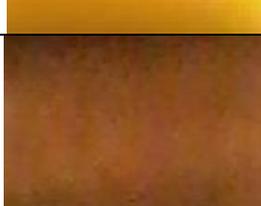
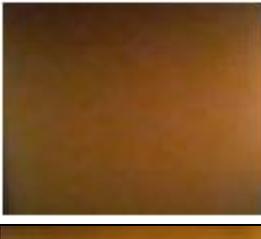


Figura 20 – Identificação da presença de flavonóides com o dispositivo DQTF no Amendoim vermelho (a), na Marcela (b) e na Camomila (c).

Para uma melhor visualização da efetividade do equipamento, na sequência apresenta-se na tabela 5 os resultados já obtidos com o uso do dispositivo DQTF.

Tabela 5 - Testes feitos com o dispositivo DQTF.

<b>Vegetais</b>	<b>Partes</b>	<b>Imagem obtida</b>	<b>Classe polifenol</b>
Erva-Mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> )	folhas		Taninos de Catequina
Jambolão ( <i>Syzygium Cumini Lamarck</i> )	folhas		Taninos Hidrolisáveis
Goiaba ( <i>Psidium guajava</i> ).	folhas		Taninos Hidrolisáveis
Camomila ( <i>Matricaria recutita</i> )	flores		Flavonóides
Marcela ( <i>Achyrocline satureioides</i> )	flores		Flavonóides
Amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> )	película da semente		Flavonóides
Manjerona ( <i>Origanum majorana</i> )	folhas secas		Taninos Condensados

<b>TANAC-</b> Acácia Minosa ( <i>Acacia podalyriifolia</i> ) (Prod. Comercial-Weibull b)	cascas em pó		Taninos Condensados
<b>TANAC-</b> Acácia Minosa ( <i>Acacia podalyriifolia</i> ) Prod. Comercial-Supertan	cascas em pó		Taninos Condensados
<b>SETA-</b> Eucalyptus grandis- <i>W. Hill ex Maiden</i>	cascas		Taninos Hidrolisaveis
<b>SETA-</b> Acácia Negra ( <i>Acácia mearnsii</i> )	cascas		Taninos Condensados
<b>SETA</b> –Pinheiro Manso- ( <i>Pinus pinea</i> )	cascas		Taninos Condensados
<b>SETA-</b> Pinheiro Americano ( <i>Pinus eliotti</i> )	cascas		Taninos Condensados
<b>SETA-</b> <i>Acácia mearnsii</i> ( <i>recém colhida</i> )	cascas		Taninos Condensados

#### **4.4 Patente de produto tecnológico**

Após pesquisa no INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial, sobre equipamentos e métodos patenteados ligados a análises qualitativas de taninos e flavonóides, e com os resultados de análises obtidas com o dispositivo DQTF foi solicitado a Coordenação de Apoio Tecnológico da Universidade Federal de Pelotas o encaminhamento do pedido de patente de Produto Tecnológico, o qual ocorreu na data de 03/03/2017, sendo protocolado com o número 102017004374-6, conforme documento apresentado no Anexo 3, p. 71.

#### **4.5 Aprimoramento do dispositivo**

Na busca por uma maior eficiência do dispositivo para Qualificar Taninos e Flavonóides, no ano de 2018, o equipamento foi aprimorado (Figura 21) a partir da inserção de um sensoriamento que utiliza de uma luz polarizada com foco ajustável e túnel escuro com sensor de refração e cor com tecnologia Mosfet. O circuito utilizado foi todo montado sobre um componente eletrônico programável do tipo node MCU que pode se comunicar com redes Wi-Fi enviando o resultado da detecção. A diferenciação de escala da amostra se faz em uma variação de 512 diferentes cores elevadas ao cubo, normalizadas para flavonóides e taninos conforme literatura. A validação do equipamento está sendo feita utilizando amostras já classificadas em laboratórios certificados. O sistema está funcionando de maneira eficiente e responsivo em questão de segundo. Os testes experimentais estão sendo realizados em Santa Maria, RS, na Universidade Franciscana – UFN, em parceria com o Prof,Dr, Mirkos Ortiz Martins.



Figura 21 – Versão atual do dispositivo DQTF. Imagem obtida em 06-03-2019.

## 5. Conclusões

O término deste trabalho possibilitou obter as seguintes conclusões:

- Os conhecimentos adquiridos sobre taninos e flavonóides, bem como sobre métodos atualmente utilizados em análises fitoquímicas destinadas a qualificação dessas substâncias, foram fundamentais para atingir as hipóteses lançadas na pesquisa desse trabalho, que fundamentaram o produto final obtido, o “Dispositivo de Qualificação de taninos e Flavonóides – DQTF”.
- A busca por melhorias nas análises qualitativas de taninos e flavonóides conduziu a identificação de pontos de incerteza nos métodos atualmente empregados, que foram solucionados com o emprego de materiais simples, existentes no mercado, de fácil obtenção, custo baixo e vida longa.
- Os referidos materiais propiciaram a idealização de um equipamento portátil, leve, de fácil montagem e manutenção, capaz de ser utilizado em atividades de campo ou em laboratórios com a mesma precisão de resultados.
- O processo de fabricação do dispositivo esta embasado nos princípios da absorção e da transmitância da luz de dispositivos duráveis (tais como o espelho e o LED de luz branca) e fáceis de serem substituídos.
- A forma simplificada de manuseio e rápida na obtenção dos resultados torna o dispositivo criado uma ferramenta de extrema importância para o desenvolvimento de atividades de ensino, pesquisa e extensão em Universidade e de atividades em indústrias de couro, alimentos, bebidas, etc..

- Cabe ainda salientar que, no processo de análise proposto, no dispositivo ocorre efetiva redução no consumo do reagente Cloreto Férrico a 1%, o que vem de encontro aos anseios de metodologias de análises químicas menos agressivas ao meio ambiente.
- Os objetivos da presente pesquisa foram atingidos e geraram um produto tecnológico de baixo custo para uso no mercado atual.

Como consideração final, cabe aqui salientar a importância dos trabalhos de pesquisa gerados nos Programa de Pós-graduação que resultam em patentes de produtos tecnológicas, tendo em vista que, como demonstrado no presente trabalho, eles funcionam como estímulos para a busca de novos produtos e, também, para o aprimoramento dos já obtidos.

## **6. Trabalhos futuros**

Considerando que todo o trabalho ainda pode ser melhorado, sugere-se:

- Melhorar o sistema de rotação do espelho refletor;
- Inserir maior intensidade de luz;
- Ampliar as dimensões do visor;
- Considerar a chave de liga/desliga no lado esquerdo do dispositivo.
- Inserir uma câmera na parte interna para captura e transmissão das imagens para telas maiores de outros aparelhos eletrônicos;
- Estabelecer pontos para o controle da intensidade do feixe de luz;
- Projetar um protetor de luz externa para o visor;
- Trocar o porta amostra de vidro por uma cubeta de quartzo;
- Avaliar os aspectos ergonômicos no projeto do produto;

## 7. Referencias bibliográficas

AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V.; **Determinação de taninos em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método do butanol ácido** Quim. Nova, v.26, p.763-76,. 2003.

AIRES, A.; CARVALHO,R.; SAAVEDRA, M.J.; 2016. **Valorization of solid wastes from chestnut industry processing: extraction and optimization of polyphenols, tannins and ellagitannins and its potential for adhesives, cosmetic andpharmaceutical industry.** Waste Manage - New York, N.Y.- 48, p.457–464. 2016.

AJAYIA, E.I.O.; ADELEKE M.A.; ADEWUMIA T.; ADEYEMI A.A.; **Antiplasmodial activities of ethanol extracts of Euphorbia hirta whole plant and Vernonia amygdalina leaves in Plasmodium berghei-infected mice** Journal of Taibah University for Science 11 p.831–835, 2017.

ALQAHTANI, A; TONGKAO-ON, W; LI, K.M.; **Seasonal variation of triterpenes and phenolic compounds in Australian Centella asiatica (L.) Urb [J].** Phytochem Anal. v.26(6), p.436-443, 2015.

AKINPELU, D.A.; ONAKOYA, T.M.; **Antimicrobial activities of medical plants used in folklore remedies in South-western.** Afr. J. Biotechnol. v.5(11), p.1078-108. 2006.

ARBENZ, A.; AVÉROUS L.; **Green Chem.** v.17, p.2626–2646. 2015.

ARRIETA M.P.; PEPONI L.; LÓPEZ.; FERNÁNDEZ-GARCÍA M.; **Recovery of yerba mate (Ilex paraguariensis) residue for the development of PLA-based bionanocomposite films -** Industrial Crops & Products. v.111 p.317–32,. 2018.

BALYAN U.; PAL VERMA S.; SARKAR B. **Phenolic compounds from Syzygium cumini (L.) Skeels leaves: Extraction and membrane purification** Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 2018.

BHANDARY, S.K.; SUCHETHA, K.N.; BHAT, V.S., SHARMILA, K.P.; BEKAL, M.P.; **Preliminary phytochemical screening of various extracts of Punica granatum peel, whole fruit and seeds.** Nitte Univ. J. Health Sci. 2, p.34 – 37,2012

BHAT, R. S.; AL-DAIHAN S.; **Phytochemical constituents and antibacterial activity of some green leafy vegetables.** Asian Pac J Trop Biomed; v.4(3) p.189-193, 2014.

BASSO, M.C.; LI, X.; FIERRO, V.; PIZZI, A.; GIOVANDO, S.; CELZARD, A.; 2011. **Green formaldehyde-free, foams for thermal insulation.** Adv. Mater. Lett. v.2, p.378–382. 2011

BASSO, M.C.; PIZZI, A.; CELZARD, A.; **Dynamic foaming behaviour of polyurethane vs tannin/furanic foams.** J. Renew. Mater. v.1, p.273–278, 2013.

BEHAR-COHEN F.;C. MARTINSONS; F. VIENOT, G. ZISSIS; A. BARLIER-SALSI; J.P. CESARINI O. ENOUF;M. GARCIA ; S. PICAUD; D. ATTIA. **Light-emitting diodes (LED) for domestic lighting: Any risks for the eye?** Progress in Retinal and Eye Research v.30 p. 239 -257. 2011

BELLE, A.A.; JADHAV, V.M.; KADAM, V.J.; **Potential of tannins: a review.** Asian J.Plant Sci. 9, p.209 – 214, 2010.

BELTRAN-HEREDIA, J.; SANCHEZ-MARTIN, J.; GOMEZ-MUNOZ, M.C.; **New coagulant agents from tannin extracts: preliminary optimisation studies.** Chem. Eng. J. v.162 (3), p.1019–102,. 2011.

BELTRÁN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; DÁVILA-ACEDO, M.A.;. **Optimization of the synthesis of a new coagulant from a tannin extract.** J. Hazard. Mater. v.186, p.1704–1712, 201.

BELTRÁN-HEREDIA,J.; SÁNCHEZ-MARTÍN,J.; MARTÍN-GARCÍA, L.; **Multiparameter quantitative optimization in the synthesis of a novel coagulant derived from tannin extracts for water treatment.** Water Air Soil Poll. v.223, p.2277–2286, 2012.

BRILLOUET J.M.; ROMIEU C.; SCHOEFS B.; SOLYMOSI K.; CHEYNIER V.; FULCRAND H.; VERDEIL JL.; **Tannosoma is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllic organs of Tracheophyta.** Ann. Bot. v.112 (6): p.1003-1014, 2013.

BROWN C.S.; SCHUERGER A.C; SAGER JC.; **Growth and photo morphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting.** J Am Soc Hortic Sci;120 808–13, 1995.

BUI, D.A.; HAUSER, P.C.; **Analytical devices based on light-emitting diodes – a review of the state-of-the-art.** Analytica Chimica Acta 853 p. 46–58, 2015.

BURBULIS,I.E.; WINKEL-SHIRLEY,B.; **Interactions between enzymes of the biosynthetic pathway of flavonoids Arabidopsis .** Proc Natl Acad Sci EUA A 96 (22): 12929-34, 1999.

CHAFE S.C.; DURZAN D.J.; **Tannin inclusions in cell suspension cultures of white spruce.** Planta v.113, p. 251–262. 1973

COMBS, C.A.; **Tannins: biochemistry, food sources and nutritional properties.** Ed. Biochemistry Research Trends, Nova Science Pub Inc, New York, 2016.

CONSTABEL F. **1969. Über die Entwicklung von Gerbstoffzellen in Calluskulturen von Juniperus communis L. Planta Medica.** v.17: p.101–115. 1969.

CORREA, V.G.; GONÇALVES, G.A., DE SÁ-NAKANISHI, A.B., FERREIRA, I.C.F.R., BARROS, L.; DIAS, M.I.; KOEHNLEIN, E.A.; DE SOUZA, C.G.M.; BRACHT, A.; PERALTA, R.M.; **Effects of in vitro digestion and in vitro colonic fermentation on stability and functional properties of yerba mate (Ilex paraguariensis A. St. Hil.) beverages.** Food Chem. v.237, p.453–460. 2017.

COVINGTON, A.D.; **Tanning Chemistry.** The Science of Leather. Royal Society of Chemistry. 2009. .

DEHGHAN,G;. KHOSHKAM, Z.; **Tin(II)-quercetin complex: synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity.** Food Chem. v.131 p.422–426 2012.

DOMÍNGUEZ-RODRÍGUEZ, G.; MARINA M. L.; PLAZA, M.; **Strategies for the extraction and analysis of non-extractable polyphenols from plants.** Journal of Chromatography A, v.1514, p.1–15. 2017.....

DUVAL, A.; AVÉROUS, L.; **J. Agric. Food Chem.** v.64, p. 1751–1760. 2015.

FALCÃO, L., ARAÚJO, M.E.M.; **Application of ATR-FTIR spectroscopy to the analysis of tannins in historic leathers: the case study of the upholstery from the 19th century Portuguese Royal Train.** *Vib. Spectrosc.* v.74, p.98–103, 2014.

FALCÃO L.; ARAÚJO, M.E.M.; **Vegetable Tannins Used in the Manufacture of Historic Leathers Molecules.** v.23(5), p.1081, 2018.

FLASCHKA H.; MCKEITHAN C.; BARNES R., **Anal. Lett.** v.6 p.585. 1973.

FLORIAN M.-L., **Vegetable Tannins**, *Leather Conservation News* v.1 p. 37–38. 1984.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V.; **J. Biol. Chem.** p.73, 424 1927.

FRAZIER, R.A.; DEAVILLE, E.R.; GREEN, R.J., STRINGANO, E., WILLOUGHBY, I.; PLANT, J.; MUELLER-HARVEY, I. **Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins.** *J. Pharm. Biomed.* v. 51, p.490–495, 2010

FRUTOS, P.; HERVAS, G.; GIRALDEZ, F.J., MANTECON, A.R.; **Review. Tannins and ruminant nutrition.** *Spanish J. Agric. Res.* v.2, p.191, 2004.

GORDON, D.B. **Spectroscopic Techniques.** in **Principles and Techniques in Practical Biochemistry.** K. Cambridge: Cambridge University Press, p.324. 1995.

GRASEL, F. dos S.; FERRÃO, M.F.; WOLF, C.R.; **Ultraviolet spectroscopy and chemometrics for the identification of vegetable tannins**, *Ind. Crops Prod.* 91 p.279–285, 2016.

GRUNDHÖFER, P.; GROSS, G. G.; **Plant Sci.** v.160, p.987. 2001.

GRUNDHÖFER, P.; NIEMETZ, R.; SCHILLING, G.; GROSS, G.G.; **Phytochemistry.** v. 57, p.915, 2001.

HADDOUCHI, F.; CHAOUICHE, T.M.; HALLA, N.; **Phytochemical screening, antioxidant activities and hemolytic power of four Saharan plants from Algeria. *Phytothérapie*, p.1–9, 2016.**

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

HASLAM, E.; **Plant Polyphenols: Vegetable tannins revisited** (2nd ed.). CambridgeUniversity Press: Cambridge University Press. 1989.

HAUSER P.C.; D.W.L. CHIANG. **Talanta** , 40 , p.1193, 1993.

HILBERT F.L.; **Tanning materials (vegetable)**, in: R.E. Kirk, D. Othmer (Eds.), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 13, The Interscience Encyclopedia, New York, p. 578–586, 1954.

HRAZDINA, G.; ZOBEL, AM.; HOCH. HC.; **Biochemical, immunological and immunocytochemical evidence for the association of chalcone synthase with membranes of the endoplasmic reticulum..** Proc Natl Acad Sci EUA A. 1987 Dec; 84 (24): 8966-70.

HÜMMER, W., SCHREIER, P.; **Analysis of proanthocyanidins.** Mol. Nutr. Food Res. 52, p. 1381e1398. 2008.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I.; **A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables,** Food Chem. v.126, p.1821–1835. 2011.

IQBAL, E.; SALIM, K.A.; LIM, L.B.L.; **Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam.** J. King Saud Univ. Sci. v.27 (3), p.224–232. 2015.

JANA, P.; FIERRO, V.; PIZZI, A.; CELZARD, A.; **Biomass-derived thermally conducting, carbon foams for seasonal thermal storage.** Biomass Bioenergy v.67, p.312–318, 2014.

KENNEDY, J.A.; TAYLOR, A.W.; **Analysis of proanthocyanidins by high-performance gel permeation chromatography**, J. Chromatogr. A, v. 995 p. 99–107. 2003.

KIPTON, H.; POWELL, J.; TAYLOR M.C.; **Aust. J. Chem.** v.35, p.739–756. 1982.

KLEINDT,C.K.; TRACKE, R.; MEHRTENS,F.; WEISSHAAR, B.; **Expression analysis of flavonoid biosynthesis genes during Arabidopsis thaliana silique and seed development with a primary focus on the proanthocyanidin biosynthetic pathway**. BMC Res. Notes 3, p.255, 2010.

KUMAR, S.; GUPTA, A; PANDEY, AK.; **Calotropis procera root extract has the capability to combat free radical mediated damage** JISRN Pharmacol,:691372, 2013.

KUNGEL P.T.A.N. K.; CORREA ,V G. ; CORRÊA ,R. C.G.; PERALTA, R.A.;SOKOVIĆ, M.;CALHELHA R.;BRACHT, A. ; FERREIRA I. C.F.R. ; PERALTA R.; **Antioxidant and antimicrobial activities of a purified polysaccharide from yerba mate (Ilex paraguariensis)** International Journal of Biological Macromolecules. 114, 1161–1167, 2018.

LAURENTI, R.; REDWOOD, M.; PUIG, R.; FROSTELL, B.; **Measuring the environmental footprint of leather processing technologies**. J. Ind. Ecol. 2016.

LOPEZ-ANDRES, P.; LUCIANO, G.; VASTA V.; **Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep** [J]. Br J Nutr, 2013, v.110(4) p.632- 639, 2013.

LIU, X. L.; HAO, Y.Q.; JIN L.; **Anti-Escherichia coli O157: H7 properties of purple prairie clover and sainfoin condensed tannins**. J. Molecules. v.18(2) p.2183-2199, 2013.

MACKA M.; PIASECKI T.; DASGUPTA P.K.;**Light-emitting diodes for analytical chemistry**, Annu. Rev. Anal. Chem. (Palo Alto Calif.) v.7 p.183–207,2014.

MANÉ, C. ; SOMMERER, N.; YALCIN, T.; CHEYNIER, V.; COLE, R.B.; FULCRAND, H. ; . **Assessment of the molecular weight distribution of tannin fractions through MALDI-TOF MS analysis of protein-tannin complexes.** Anal. Chem. v.79, p.2239–2248, 2007.

MAMET, T.; GE, Z.; ZHANG, Y.; LI C.; **Interactions between highly galloylated persimmon tannins and pectins.** International Journal of Biological Macromolecules v.106, p.410–417, 2018.

MÄNTELE W; DENIZ E.;**UV–VIS absorption spectroscopy: Lambert-Beer reloaded Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** v.173 p. 965–96, 2017.

MARTIN, K.R. ; APPEL, C.L.; **Polyphenols as dietary supplements: a double-edged sword.** Nutr. Diet. Suppl. 2, p.1–12, 2010.

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

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

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

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; QUEIROZ, C. R. A. A.; **Estudos sobre Polifenóis e Lignina da Madeira de Astronium urundeuva** J. Braz. Chem. Soc., v.10, p. 447-452, 1999.

MORITA,T.;ASSUMPCÃO, R.M.V.; **Manual de soluções reagentes e solventes,** Ed. 2ª Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo-SP, 2001.

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

NAIMA R.; M. OUMAMA.; HANNACHEA H.; SESBOUE A.; CHARRIERB, B. A.; PIZZI F. CHARRIER B. E.; **Comparison of the impact of different**

**extraction methods on polyphenols yields and tannins extracted from Moroccan *Acacia mollissima* barks**, Industrial Crops and Products 70 p. 245–252, 2015.

NAICHIA, Y; PULIN, Y; NAICHEN, S.; OMKAR, B.; TA, C.C.; **Applications of light-emitting diodes in researches conducted in aquatic environment**. Renewable and Sustainable Energy Reviews 32 611–618. 2014.

ORLANDI, T.; KOZLOSKI, G.V.; ALVES, T.P.; MESQUITA, F.R.; ÁVILA, S.C.; **Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concentrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract**. Animal Feed Science and Technology 210. p.37–45. 2015.

PARHAM R.A.; KAUSTINEN H.M.; **On the site of tannin synthesis in plant cells**. Botanical Gazette .v. 138: p.465–467. 1977

PERES, R.S.; CASSEL, E.; AZAMBUJA, D.S.; 2012. **Black wattle tannin as steel corrosion inhibitor**. ISRN Corros, p.1–9, 2012.

PEREIRA, D.F.; KAPPEL V.D.; CAZAROLL L.H.; BOLIGONC A.A.; ATHAYDEC M.L. ATHAYDEC G. S.M.; DA SILVA E.L.; SILVA F.R.M.B.; **Influence of the traditional Brazilian drink (*Ilex paraguariensis*) tea on glucose homeostasis- Phytomedicine**. v.19 p .868– 877, 2012.

PETRUSSA, E.; BRAIDOT, E.; ZANCANI, M.; PERESSON, C.; BERTOLINI, A.; PATUI, S.; VIANELLO, A.; **Plant flavonoids-biosynthesis, transport and involvement in stress responses**. Int. J. Mol. Sci. v.14, p.14950–14973, 2013.

QUIDEAU, S. ; DEFfiEUX, D. ; DOUAT-CASASSUS, C .; POUYSEGU, L.; **Plant polyphenols: chemical properties biological activities, and synthesis**. Angew. Chem. Int. Ed. 50, p.586–621, 2011.

REITZER, F.; ALLAIS M.; BALL, V.; MEYER F. **Polyphenols at interfaces**. Advances in Colloid and Interface Science 257. p.31–41, 2018.

RENGASAMY, K.R.R.; KHAN, H.; GOWRISHANKAR, S.; LAGOA R.J.L.; MACOMOODALLY, F.M.; KHAN Z.; SUROOWAN, S; TEWARI, D.; ZENGIN, G.; HASSAN S.T.S.; , PANDIAN, S.K. **The role of flavonoids in autoimmune diseases::** Therapeutic Updates Pharmacol. Ther p. 1 – 25, 2018.

.RICCI, A.; OLEJAR, K.J.; PARPINELLO, G.P.; KILMARTIN, P.A.; VERSARI, A.; **Application of fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in the characterization of tannins.** Appl. Spectrosc. v. 50, p.407–442, 2015.

SASLOWSKY D, WINKEL-SHIRLEY B. **Localization of flavonoid enzymes in roots of Arabidopsis** . The Plant Journal.v.27 p.37–48, 2001.

SCALBERT A.; **Antimicrobial properties of tannins, Phytochemistry** v.30 (12) 3875 - 3883. 1991.

SCHIEL M.; **LEDs Mag 9** p. 37, 2012.

SCHOFIELD, P.; PELL, A. N.; MBUGUA, D. M.; **Tannins:Analysis and Biological Effects in Ruminant Feeds.** Animal Feed Science and Technology., p.91, 21 2001.

SCHUBERT, E.F. **Light-Emitting Diodes,** 2 ed., Cambridge University Press, New York, 2006.

SCHUERGER, A.C.; BROWN, CS.; STRYJEWSKI, E.C.; **Anatomical features of pepper plants(Capsicum annuum L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light.** Ann. Bot. v.79: 273–82. 1997.

SINGH I.P.; SIDANA J.; **Functional Algae Ingredients for Food and Nutraceuticals.** Woodhead Publishing Series in Science, Technology and Nutrition of Copyright - Woodhead Publishing Limited. v. 1, 2013.

SINGH, K.; KUMAR A.; **Kinetics of complex formation of Fe(III) with syringic acid: Experimental and theoretical study** Food Chemistry 265 p. 96–100, 2018.

SINGH, K.; KUMAR A.; **Kinetics of complex formation of Fe(III) with caffeic acid: Experimental and theoretical study.** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 21. p.148–153, 2019.

SPINA, S.; ZHOU, X.; SEGOVIA, C.; PIZZI, A.; ROMAGNOLI, M.; GIOVANDO, S.; PASCH, H.; RODE, K.; DELMOTTE, L.; **Phenolic resin adhesives based on chestnut (*Castanea sativa*) hydrolysable tannins.** J. Adhes. Sci. Technol. v.27, p.2103–2111, 2013a.

SPINA, S.; ZHOU, X.; SEGOVIA, C.; PIZZI, A.; ROMAGNOLI, M., GIOVANDO, S.; PASCH, H.; RODE, K.; DELMOTTE, L.; **Phenolic resin wood panel adhesives based on chestnut (*Castanea sativa*) hydrolysable tannins.** Int. Wood Prod. J. v.4, p. 95–100. 2013b.

TAVARES, I. M. C.; LAGO-VANZELA E. S.; REBELLO L. P. G. , RAMOS A. M. GÓMEZ-ALONSO,S.;GARCÍA-ROMERO,E.; DA-SILVA R.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ I.; **Comprehensive study of the phenolic composition of the edible parts of jambolan fruit (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)** Food Research International 82 p.1–13., 2016.

TONDI, G.; PETUTSCHNIG. A.; **Middle infrared (ATR FT-MIR) characterization of industrial tannin extracts,** Ind. Crops Prod. v.65 p.422–428, 2015

TREASE, G.E.; EVANS W.C. **Pharmacognosy.** 15 th ed. London: Saunders Publishers. p. 42-44, 221-229, 246-249, 304-306, 331-332, 391-393, 2002.

VICKERY, M. L. E.; VICKERY, B.; **Secondary Plant Metabolism,** The Macmillan Press LTD: London, 1981.

WAGNER, G.J.; HRAZDINA, G.;**Endoplasmic reticulum as a site of phenylpropanoid and flavonoid metabolism in *Hippeastrum*,** Plant Physiol. v.74, p. 901-906, 1984.

WILLIS, R. B.; ALLEN, P. R.; **Analyst,** .v.123 p.435. 1998

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

WITZIG, M.; ZEDER, M.; RODEHUTSCORD, M.; **Effect of the ionophore monensin and tannin extracts supplemented to grass silage on populations of ruminal cellulolytics and methanogens in vitro.** Anaerobe v.50, p. 44-54, 2018.

XU L.,Q.; NEOH K.; KANG E.; **Natural polyphenols as versatile platforms for material engineering and surface functionalization.** Progress in Polymer Science 87 p.165–196.p. 2018.

YADAV, R.N.S., AGARWALA, M.;**Phytochemical analysis of somemedicinal plants.** J. Phytol. v.3 (12), p.10–14. 2011.

YEH N.; YEH P.; SHIH N.; BYADGI, O.; CHENG T. C.; **Applications of light-emitting diodes in researches conducted in aquatic environment.** Renewable and Sustainable Energy Reviews 32. p.611–618, 2014.

YU Z.; DAHLGREN R. A.; **Evaluation of Methods of Measuring Polyphenols in Conifer Foliage.** J. Chem Ecol. Ed. 9 v.26 2119-2140, 2000.

YUSO, A.; LAGEL, M.C.; PIZZI, A.; FIERRO, V.; CELZARD, A.; **Structure and properties of rigid foams derived from quebracho tannin.** Mater. Design v. 63 p. 208–212, 2014

## Anexo 1

Dados técnicos do LED branco utilizado no trabalho conforme indica seta vermelha

Power	Color	Wavelength	Forward Voltage	Forward Current	Luminous Flux
3W	Warm White	3000-3500K	3.0-3.4V	560-700mA	260-280LM
	Natural White	4000-4500K	3.0-3.4V	560-700mA	260-280LM
	White	6000-6500K	3.0-3.4V	560-700mA	260-280LM
	Cool White	10000-15000K	3.0-3.4V	560-700mA	260-280LM
	Red	620-625nm	2.0-2.4V	400-500mA	60-70LM
	Blue	460-470nm	3.0-3.4V	400-500mA	50-60LM
	Cyan	490nm	3.0-3.4V	400-500mA	60-70LM
	Green	520-525nm	3.0-3.4V	400-500mA	140-160LM
	Yellow	590-592nm	2.0-2.4V	400-500mA	90-100LM
	Amber	595-600nm	2.0-2.4V	400-500mA	90-100LM
	Orange	600-605nm	2.0-2.4V	400-500mA	90-100LM
	Pink	/	2.0-2.4V	400-500mA	80-90 LM
	UV	395-400nm	3.0-3.4V	400-500mA	80-110LM
	Royal Blue	440-450nm	3.0-3.4V	400-500mA	50-60LM
	Deep Red	660nm	2.0-2.2V	400-500mA	80-90LM
	Full Spectrum	380-840nm	3.0-3.4V	400-500mA	90-100LM
	IR(730nm)	730nm	1.8-2.2V	400-500mA	/
	IR(850nm)	850nm	1.4-1.8V	400-500mA	/
	IR(940nm)	940nm	1.2-1.6V	400-500mA	/
	RGB(4pin/6pin)	R: 620-625nm G: 520-525nm B: 460-470nm	R:2.0-2.2V G:3.0-3.2V B:3.0-3.2V	R:280-350mA G:280-350mA B:280-350mA	R:40-50LM G:70-80LM B:30-40LM
RGBW(8pin)	R: 620-625nm G: 520-525nm B: 460-470nm W: 6000-6500K	R:2.0-2.2V G:3.0-3.2V B:3.0-3.2V W:3.0-3.2V	R:280-350mA G:280-350mA B:280-350mA W:280-350mA	R:40-50LM G:70-80LM B:30-40LM W: 110-120LM	

Fonte: [www.amazon.com](http://www.amazon.com) (2018).

Resistência do potenciômetro – modelo 100K.

Resistência	1W	3W
100 R	100	170
220 R	65	110
500 R	44	77
1K	31	54
5K	14	24
10K	10	17
47K	4,5	7,8
100K	3,1	5,4
470K	3,1	—
1M	1.0	—

Fonte: [www.newtoncbraga.com.br/.../2881-correntes-maximas-de-potenciometros-ip297](http://www.newtoncbraga.com.br/.../2881-correntes-maximas-de-potenciometros-ip297).

## Anexo 2

- E- mail emitido pela empresa SETA S. A

Cópia da mensagem referente ao envio de amostras para teste duplo-cego.

Renato Konrath <[renato.konrath@seta-sa.com.br](mailto:renato.konrath@seta-sa.com.br)>

24 de abr  
de 2018 10:35

Oi José, finalmente conseguimos te enviar as cascas. Foi uma série de atrasos que não costuma acontecer, mas desta vez tu foi premiado pela lei de Murphy.

Bom, cada casca é de uma espécie diferente ou de região/idade/manejo/microclima/etc. diferente caso sejam da mesma espécie. O teste é duplo cego, eu só vou saber o que é cada casca quando tu passar o resultado, assim garantimos que o teste seja válido para o teu dispositivo. Eu pedi as cascas ao nosso setor florestal e eles me passaram já embaladas e rotuladas. Eles sabem qual espécie é cada uma e tu sabe o resultado. Infelizmente não poderemos fazer uma reunião para cada agente colocar o resultado no mesmo momento, mas podemos fazer por e-mail ou se preferir por Skype.

Aqui na Seta para testes de validação ou comprovação de resultados inesperados utilizamos os testes duplos cegos, fica um resultado mais confiável e mais transparente. Para cada amostra de casca, uma parte foi separada e enviada ao nosso laboratório de CQ, lá eles farão a determinação pelo métodos tradicionais. Depois comparamos os resultados e os discutimos.

Até breve e bons testes

Renato

Renato Augusto Konrath

Tecnico em p&d III

Email: [renato.konrath@seta-sa.com.br](mailto:renato.konrath@seta-sa.com.br)

Site <http://www.setaonline.com>

Tel. + +55 51 3205-2233 - Fax. + +55 51 3205-2244

*Esta mensagem e eventuais anexos são de uso restrito e seu conteúdo não pode ser utilizado sem prévia autorização.*

*This message and any attachments are of restricted use and its content must not be used without prior authorization.*

*Este mensaje y cualquier documento adjunto son de uso restrictivo y su contenido no puede ser utilizado sin previa autorización.*

**Mensagem com os resultados em 07/05/2018 enviado pela SETA para serem comparados com o resultados do dispositivo.**

Oi José, tudo bem contigo? Seguem os resultados do laboratório, quantificando o teor de cada tanino. Junto também a espécie de cada amostra...

rótulo	espécie	% TC	TH %
CASCA A	<i>Eucalyptus grandis</i>	35%	35%
CASCA B	<i>Acacia mearnsii</i>	100%	0%
CASCA C	Desconhecida	66%	34%
CASCA D	<i>Pinus elliottii</i>	90%	10%
CASCA E	<i>Acacia mearnsii</i>	100%	0%

A casca C é de um tipo de pinus, mas não encontrei o registro preciso da espécie. Ela veio da Europa e estava guardada muito tempo aqui no lab para testes. Acho que é *Pinus pinea*, mas não posso confirmar.

De qualquer forma, embora não tenha conseguido dizer nos casos onde havia dois tipos de taninos na casca, acertou todas as amostras pensando em tanino majoritário presente na casca. Este dispositivo pode ser interessante se for portátil e consiga identificar rapidamente a amostra pensando em pesquisas de campo. Hoje não teríamos interesse, pois produzimos 100% tanino de Acácia, mas é provável que a área de silvicultura possa se interessar, ainda mais se ele puder identificar tanino em outras partes da árvore, como folhas e lenho.

Renato

Renato Augusto Konrath

Tecnico em p&d III

Email: [renato.konrath@seta-sa.com.br](mailto:renato.konrath@seta-sa.com.br)

Site <http://www.setaonline.com>

Tel. + +55 51 3205-2233 - Fax. + +55 51 3205-2244

Esta mensagem e eventuais anexos são de uso restrito e seu conteúdo não pode ser utilizado sem prévia autorização.

This message and any attachments are of restricted use and its content must not be used without prior authorization.

Este mensaje y cualquier documento adjunto son de uso restrictivo y su contenido no puede ser utilizado sin previa autorización.

## Anexo 3



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS  
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**

**EXAME PRELIMINAR**

**N.º do Pedido:** BR102017004374-6      **N.º de Depósito PCT:**  
**Data de Depósito:** 03/03/2017

O pedido atende formalmente as disposições legais, especialmente quanto ao Art. 19 da LPI e o Instrução Normativa nº 31/2013, estando apto a ser protocolado.

<b>Condições do Pedido</b>	<b>S</b>	<b>N</b>
Requerimento de depósito com os campos obrigatórios preenchidos	X	
Idioma Português	X	
Relatório Descritivo	X	
Reivindicações	X	
PI e C – Apresenta desenhos citados ou não cita nem apresenta desenhos. MU – Apresenta desenhos.	X	
Resumo	X	
Formatado no padrão exigido	X	
Valor correto de Recolhimento	X	

Rio de Janeiro, 24 de maio de 2017.

\_\_\_\_\_  
Olívio Francisco Aguiel Filho  
Mat. Nº 0449114  
DIRPA / COSAP/SEFOR

## Apêndice

- E-mail enviado a empresa TANAC S.A.

<b>TANAC S.A.</b>	
Solicitação de Amostra Laboratórios Aplicação, CQ, P&D&I	

**Solicitação N<sup>o</sup>:** 003/18

**Solicitante:** José Euclides Rodrigues Beltran

**Instituição:** UFPel

**Professor Orientador/Coordenador do Projeto:** Margarete Regina Freitas Gonçalves

**CPF:** 39244881004.

**E-mail:** joeurobe@gmail.com

**Fone:** (55)981426466

**Amostra e quantidade solicitada:** 500g de Weibull Black, 500g Supertan.

**Endereço para remessa da amostra, descrevendo CEP e CNPJ:**

Rua Benjamin Constant, 570 Apto 303 Santa Maria-RS CEP 97050-020.

---

### **Objetivo/aplicação da amostra:**

Realizar análises qualitativas de forma experimental do material para saber qual a classe de taninos predominante, por meio um dispositivo desenvolvido especificamente para qualificar taninos ( TC/TH) e flavonóides.

---

### **Política de Liberação de Amostras da TANAC S.A.**

Declaro estar ciente de que ao receber uma amostra da TANAC S.A., no caso do nome do produto ser citado em qualquer publicação científica ou de outra natureza, o documento deve ser enviado previamente à TANAC S.A. para aprovação.

Independente do nome da TANAC S.A. ser citado ou não, solicitamos a gentileza de envio de uma cópia eletrônica da publicação científica para o E-mail da gerência de P&D da empresa.

Declaro também estar ciente de que as amostras enviadas servem para fins experimentais e que assumo a responsabilidade pela aplicação final do produto.