

DETERMINAÇÃO DE TANINOS CONDENSADOS E POLIFENÓIS TOTAIS EM ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

Edilene C. Ferreira (IC)², Gilberto B. Souza (PQ)¹, Ana Rita A. Nogueira (PQ)¹

¹Embrapa, Pecuária Sudeste, 13560-970, São Carlos SP.

²Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara SP

palavras-chave: taninos, polifenóis totais, injeção em fluxo, gundú.

Introdução

Os taninos são definidos como uma mistura heterogênea de polifenóis de origem vegetal com alto peso molecular (ente 500 e 3.000). Estão divididos em dois grandes grupos: os hidrolisáveis e os condensados, sendo que o último grupo apresenta propriedades de complexar proteínas. O complexo tanino-proteína não é dissociado em pH fisiológico, de maneira que o organismo não absorve as proteínas ligadas a esses polifenóis, passando as mesmas a fazer parte do bolo fecal. Os taninos também são responsáveis pela inibição de importantes enzimas digestivas, tais como as tripsinas e amilases.

Em função dos diferentes métodos normalmente utilizados para determinação de taninos, métodos originalmente propostos para determinação de polifenóis totais e taninos condensados ("Folin Denis" e "Vanilina") foram adaptados e modificados para quantificar paralelamente as duas espécies de taninos, visando uma maior rapidez e confiabilidade nos resultados. Esses métodos estão sendo utilizados para a avaliação dos teores de taninos condensados e polifenóis totais em uma espécie de leguminosa forrageira, gundú (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). Essa leguminosa é consumida por animais superiores, em especial os ruminantes. Atenta-se para a necessidade de uma correta quantificação dos taninos em contraposição com os fenóis totais normalmente presentes nas sementes de gundú.

Metodologia

Para a determinação dos taninos condensados foi avaliada a metodologia da Vanilina, que reage por substituição eletrofílica, com compostos monoméricos e flavonóides poliméricos, e que, dependendo dos padrões utilizados (catequinas ou procianidinas), representariam os taninos condensados e não os hidrolisáveis. Para a determinação dos fenóis totais foi utilizado método espectrofotométrico de "Folin Denis", que consiste na redução do ácido fosfomolibdico-fosfotungstíco por fenóis em meio básico.

Algumas amostras provenientes de plantas já anteriormente estabelecidas foram utilizadas para os primeiros testes com o método. Após trituração em liquidificador e liofilização, foram preparadas para as determinações propostas, pesadas e extraídas em solução 1,0 % (v/v) HCl em metanol, agitadas e filtradas. O diagrama de fluxo proposto está representado na Fig. 1.

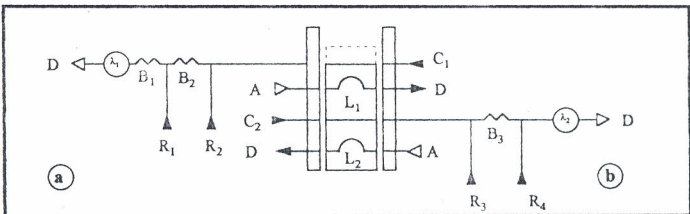


Figura 1. Sistema por injeção em fluxo proposto: A, amostra; D, descarte; a) determinação de taninos condensados: C₁ (2,0 mL min⁻¹), fluxo transportador, etanol 99,5 %; L₁, alga de amostragem para os taninos condensados (100 cm, 500 µL); R₁ (2,0 mL min⁻¹), solução 4 % (m/v) vanilina em etanol, R₂ (2,0 mL min⁻¹), solução 8,0 % (m/v) HCl em etanol, B₁ e B₂, bobinas de mistura (150 e 50 cm); b) fenóis totais: C₂ (3,4 mL min⁻¹), água; L₂, alga de amostragem (40 cm, 200 µL); R₃ (2,0 mL min⁻¹), NaOH 2,0 % (v/v); B₃, 30 cm; R₄ (1,0 mL min⁻¹), reagente Folin Denis. Os comprimentos de onda utilizados foram, respectivamente, λ₁ = 500 nm e λ₂ = 670 nm.

Resultados

O módulo de análise proposto (Fig. 1) foi projetado com a finalidade de se poder obter simultaneamente os resultados relativos aos fenóis totais e aos taninos condensados. Assim, além da economia de tempo e reagentes, é viabilizada a análise no mesmo dia, evitando-se o acréscimo de mais uma variável, ou seja, a possível perda dos teores originais por auto-oxidação. Essa variação pode ser observada quando uma mesma solução padrão foi armazenada. Mesmo protegida da luz e em geladeira, houve perda de c.a. de 4 % em sinal durante um período de 24 h. A reação com vanilina não ocorre em meio aquoso. Essa foi a razão para a utilização de praticamente 2 sistemas independentes, apesar de utilização do mesmo injetor. Tubos de silicone foram empregados quando em meio alcoólicos. Procurando-se diminuição de toxidez e custos, o metanol original foi substituído por etanol nas soluções. Amostras coletadas em diferentes tempos apresentaram resultados aproximadamente iguais, porém, como era de se esperar, os teores de fenóis totais (524,0 e 474,0 mg kg⁻¹ com base na matéria seca) foram superiores aos dos taninos condensados (430,9 e 400,5 mg kg⁻¹, respectivamente). Esses resultados foram confirmados pelo método manual.

Conclusões

Com a utilização do sistema proposto será possível a quantificação de fenóis totais e taninos condensados em uma mesma amostra e a avaliação dos efeitos provocados pelo tempo e condições de armazenamento a diferentes temperaturas na determinação de taninos em gundú.