

**INSTITUTO FEDERAL GOIANO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA APLICADA E  
SUSTENTABILIDADE  
MESTRADO PROFISSIONAL**

**QUANTIFICAÇÃO DE TANINO DA CASCA DO PEQUI  
(*Caryocar brasiliense Camb.*) UM NOVO MÉTODO  
ANALÍTICO: BASEADO EM ANÁLISES EM INJEÇÃO À  
BATELADA**

**Autor: Priscila Ramos Alves**

**Orientador: Polyana Fernandes Pereira**

**Coorientador: Édio Damasio**

**RIO VERDE - GO**

**Julho de 2022**

**PRISCILA RAMOS ALVES**

**QUANTIFICAÇÃO DE TANINO DA CASCA DO PEQUI (*Caryocar brasiliense Camb.*) UM NOVO MÉTODO ANALÍTICO: BASEADO EM ANÁLISES EM INJEÇÃO À BATELADA**

Projeto apresentado à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Aplicada e Sustentabilidade do Instituto Federal Goiano como exigência da disciplina Qualificação de Mestrado do PPGEAS.

Orientador: Prof. Dra. Polyana Fernandes Pereira.

Coorientador: Prof. Dr. Édio Damásio da Silva Júnior.

**RIO VERDE - GO**

**2022**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

Aq           Alves, Priscila  
              QUANTIFICAÇÃO DE TANINO DA CASCA DO PEQUI  
(Caryocar brasiliense Camb.) UM NOVO MÉTODO  
ANALÍTICO: BASEADO EM ANÁLISES EM INJEÇÃO À BATELADA  
/ Priscila Alves; orientadora Polyana Pereira; co-  
orientador Édio Silva Júnior. -- Rio Verde, 2022.  
              62 p.

              Dissertação (Mestrado em Engenharia Aplicada á  
Sustentabilidade) -- Instituto Federal Goiano,  
Campus Rio Verde, 2022.

              1. Compostos fenólicos. 2. Eletrodos impressos em  
3D. 3. Filamentos condutivos. 4. Métodos  
eletroquímicos. I. Pereira, Polyana, orient. II.  
Silva Júnior, Édio, co-orient. III. Título.

# TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

## PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

### NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

#### IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado)   | <input type="checkbox"/> Artigo científico              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação (mestrado)                          | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização)                                | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input type="checkbox"/> TCC (graduação)  | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |
| <input type="checkbox"/> Produto técnico e educacional - Tipo: <input type="text"/> |   |

Nome completo do autor:

Priscila Ramos Alves

Matrícula:

2020102331440188

Título do trabalho:

QUANTIFICAÇÃO DE TANINO DA CASCA DO PEQUI (Caryocar brasiliense Camb.) UM NOVO MÉTODO ANALÍTICO: BASEADO EM ANÁLISES EM INJEÇÃO À BATELADA

#### RESTRICÇÕES DE ACESSO AO

Documento  Não  Sim,

O artigo presente no documento foi submetido a uma revista, mas ainda não foi publicado, por isso solicito o sigilo da dissertação até que seja concluída a publicação do artigo.

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 23 /09 /2023

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim   
 Não

#### DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho 23 /09 /

Local

2022

*Priscila Ramos Alves*

**Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais**

Ciente e de acordo

*Polyana Fernandes Pereira*

**Assinatura do(a) orientador(a)**



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 82/2022 - NREPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

QUANTIFICAÇÃO DE TANINO DA CASCA DO PEQUI (Caryocar brasiliense Camb.) UM NOVO MÉTODO ANALÍTICO BASEADO EM ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA

Autora: Priscila Ramos Alves  
Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Polyana Fernandes Pereira

TITULAÇÃO: Mestre em Engenharia Aplicada e Sustentabilidade - Área de  
Concentração Engenharia Aplicada e Sustentabilidade

APROVADO em 30 de julho de 2022.

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Mariana Cardoso Marra  
Avaliadora externa - UFU

Prof. Dr. Lucas Peres Angelini  
Avaliador Interno - IF Goiano / Rio  
Verde

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Polyana Fernandes Pereira  
Presidente da banca - IF Goiano / Rio Verde

Documento assinado eletronicamente por:

- MARIANA CARDOSO MARRA, MARIANA CARDOSO MARRA - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 10/08/2022 14:24:27.
- Lucas Peres Angelini, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 04/08/2022 17:01:14.
- Polyana Fernandes Pereira, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 04/08/2022 16:50:26.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 29/06/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 403433

Código de Autenticação: 649b600e08



INSTITUTO FEDERAL GOIANO  
Campus Rio Verde  
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970  
(64) 3620-5600

Dedico para a minha filha Alice, meu esposo Smarley e meus pais Helmo e Flausa.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar pelo dom da minha vida, ao Instituto Federal Goiano e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Aplicada e Sustentabilidade pela oportunidade de pesquisa; à minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Polyana Fernandes e ao meu Coorientador Prof. Dr. Edio Damásio pela orientação durante o desenvolvimento do projeto; à minha filha Alice e meu esposo Smarley, pela compreensão e apoio aos meus estudos e aos meus pais Helmo e Flausa, que sempre me incentivaram a estudar e alcançar meus objetivos.

## RESUMO

A presente dissertação visa realizar a extração e quantificação de taninos presentes na casca do pequi, utilizando uma nova proposta de análise baseada em métodos eletroquímicos. Os extratos foram preparados com água em banho maria a 60°C por 60 min. utilizando a casca de pequi crua triturada. A técnica eletroquímica utilizada foi Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção Amperométrica de Múltiplos Pulsos (AMP) e eletrodo de trabalho impresso em 3D fabricado utilizando filamento termoplástico condutivo (PLA-carbon black) a fim de desenvolver um método sensível e de baixo custo.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Eletrodos impressos em 3D. Filamentos condutivos. Métodos eletroquímicos.



## ABSTRACT

The actual dissertation aims to extract and to quantify the tannins present in the pequi hulls, using a new proposal of analysis based on electrochemical. The extracts were prepared with water in a water bath at 60°C for 60 min using crushed raw pequi hulls. The electrochemical technique used was Batch Injection Analysis (BIA) with Multiple Pulse Amperometric (AMP) detection and 3D printed working electrode manufactured using conductive thermoplastic (PLA-carbon black) to develop a sensitive and low-cost method.

Keyword: 3D printed electrodes. Conductive filaments. Electrochemical methods. Phenolic compounds.

## SUMÁRIO

Resumo .....	5
Abstract.....	6
Lista de tabelas.....	8
Lista de figuras.....	9
Lista de siglas.....	11
Introdução Geral .....	13
Objetivos.....	15
Capítulo I .....	23
Capítulo II.....	39
Considerações Finais .....	65

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Rendimento da extração com relação ao tipo, solvente, tempo e temperatura .....	28
Tabela 2- Resultado comparativo dos métodos para quantificação de taninos. .	34
Tabela 3- Resultado comparativo dos três extratos para os dois métodos e a curva em recuperação. ....	58
Tabela 4- Resultados obtidos para determinação de AT por BIA-MPA e recuperação (n = 2).....	58

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- (A) Célula analítica impressa em 3D montada; (B) Componentes da célula impressa em 3D; (C) Eletrodo de trabalho impresso..... 46
- Figura 2- (A) Eletrodo de trabalho sem tratamento; (B) Eletrodo de trabalho polido; (C) Eletrodo de trabalho após o tratamento eletroquímico. Autor: João Vitor... .. 47
- Figura 3- Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo impresso com filamento condutivo Carbon Black/PLA em meio de solução NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> (pH = 11,0) antes (—) e após a adição de 125,0 mg L<sup>-1</sup> de AT (- - -). Velocidade de varredura: 50 mV s<sup>-1</sup>; Incremento de potencial: 5 mV..... 50
- Figura 4- Amperogramas obtidos com o sistema BIA-MPA após injeções (n=4) de soluções solução padrão de AT (40 mg L<sup>-1</sup>), (a) sem agitação e (b) com agitação, utilizando eletrodo de filamento condutivo Carbon Black/ PLA, solução NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> (pH = 11,0) e pulso de potencial: -0.4 V/200 ms. Volume de injeção: 200 µL..... 52
- Figura 5- Amperogramas obtidos para injeções sequenciais de 20,0 (a) ou 80,0 mg L<sup>-1</sup> de AT. Outras condições ver Fig. 3..... 53
- Figura 6- Amperograma obtido com o sistema BIA-MPA após injeções em duplicatas de soluções padrão contendo concentrações crescentes de AT (a – l: 2,5 a 500,0 mg L<sup>-1</sup>). Outras condições ver Fig. 3..... 54
- Figura 7- Curva de calibração da solução padrão de AT (2,5 a 300 mg L<sup>-1</sup>). Outras condições ver Fig. 3.. ..... 55
- Figura 8- Amperogramas obtidos com o sistema BIA-MPA após injeções em duplicatas de cinco soluções padrão contendo concentrações crescentes de AT (a – e: 10,0 a 40,0 mg L<sup>-1</sup>), três amostras não fortificadas (f, h, j) e fortificadas (g, i, l), adequadamente diluídas no eletrólito suporte. Outras condições ver Fig. 3..... 56
- Figura 9- Curva de calibração da solução padrão de AT (10,0 a 40,0 mg L<sup>-1</sup>). Outras condições ver Fig. 4 ..... 57

## LISTA DE SIGLAS

3D- 3 Dimensões

A- Amperes

ABS- Acrilonitrila Butadieno Estireno

AG- Ácido Gálico

AT- Ácido Tânico

BHA- Hidroxianisol Butilado

BIA – Análise por Injeção em Bateladas

C- Celsius

CV – Voltametria Cíclica

DPR- Desvio Padrão Relativo

DR – Difusão Radial

EIS- Impedância Eletroquímica

FC – Folin- Ciocalteu

FIA – Análise de Fluxo de Injeção

g- Gramas

h- Horas

HPLC- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

H<sub>2</sub>O – Água

i – Corrente

IS – Índice de Stiasny

L – Litro

LAME- Laboratório de Eletroanalítica

LD- Limite de Detecção

LQ- Limite de Quantificação

Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> - Sulfito de sódio

mg – Miligramas

min- Minutos

mL- Mililitros

mM- Milimolar

MPA- Amperometria de Múltiplos Pulsos

μ- Micro

nm- Nanômetro

PG- Galato de Propila

pH- Potencial Hidrogeniônico

PLA- Ácido Polilático

R- Coeficiente de Determinação

R\$- Reais

SWV – Voltametria de Onda Quadrada

TBHQ- Terc -Butilhidroquinona

UV– Ultravioleta

V- Volts

## INTRODUÇÃO GERAL

O pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) é uma espécie nativa do cerrado que apresenta um fruto, o pequi, com pericarpo (casca) esverdeado, polpa amarela alaranjada e amêndoa coberta com espinhos finos de 2 a 5 mm de comprimento (BATISTA; SOUSA, 2019). A casca ou pericarpo, conjunto do exocarpo e mesocarpo, corresponde a 76,7 % do fruto (MONTEIRO *et al.*, 2005), parte que na maioria das vezes é descartada, consumindo somente a polpa, ela pode ser reaproveitada por meio da maceração, produzindo tanino.

Os taninos possuem propriedades características, tais como habilidade em formar complexos com proteínas e outras macromoléculas e minerais, podendo ser empregados nas indústrias de curtimento de couro, anticorrosivos, produção de cola, produção de plásticos, bebidas e, também como floculantes para tratamento de efluentes.

A quantificação dos taninos geralmente ocorre pelo método do índice de Stiasny (JOÃO; JÚNIOR, 2019) ou por métodos espectrofotométricos (BOONKORN; CHUAJEDTON; KARUEHANON, 2020). O índice de Stiasny calcula o percentual de tanino condensado contido nos extratos pela razão entre a massa de tanino e a massa dos extrativos totais. Nos métodos espectrofotométricos a quantificação é caracterizada pela absorvância lida no espectrofotômetro e a curva calibrada pela leitura do padrão de ácido tânico. Tais métodos, no entanto, requer uso de reagentes (solventes) orgânicos de elevada toxicidade e, ou de custo elevado (alta pureza).

Nesse contexto, estudos para o desenvolvimento de métodos que possibilitem análises a um custo menor, com elevada frequência analítica e a manutenção da qualidade dos resultados são de grande importância. O uso de eletrodo de trabalho fabricado por tecnologia de impressão 3D e método de Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção amperométrica apresentam características apropriadas para o desenvolvimento de métodos de análise com as seguintes características: portabilidade (implementável em laboratórios com pouca infraestrutura), baixo custo, sensibilidade nas determinações, elevada frequência analítica, consumo mínimo de reagentes e amostras e, portanto, geração mínima de resíduos.

## **PROBLEMA**

A casca do Pequi apesar de suas possíveis aplicações como fonte para produção de farinhas e tinta para tingimento, geralmente é descartada, consumindo somente o fruto. Durante a safra do pequi (outubro a janeiro) o comércio na cidade de Rio Verde gera grande quantidade deste resíduo, que é descartado no aterro controlado da cidade. Sabe-se que essa casca possui em sua composição compostos fenólicos denominados taninos, e ideias de aproveitamento deste material, como a aplicação do tanino extraído para produção de espumas fenólicas a fim de utilizá-lo na horticultura ou para coagulantes no tratamento da água, trariam benefícios ambientais e econômicos. Estes compostos possuem características diferentes, a depender do tipo de matéria-prima, idade da planta, e ou variação temporal, dificultando a existência de um modo padrão de extração e quantificação. Os métodos tradicionais de quantificação requerem o uso de reagentes (solventes) orgânicos de elevada toxicidade e, ou de custo elevado (alta pureza). A proposta de métodos de baixo custo para a extração, melhora a capacidade de aplicabilidade do tanino extraído, tornando o uso das cascas ambientalmente e economicamente viável.



## **HIPÓTESES**

Hipótese 1: há quantidade significativa de tanino presente na casca do pequi.

Hipótese 2: a extração de tanino da casca do pequi pelo método líquido-sólido é eficiente.

Hipótese 3: a quantificação analítica proposta é eficaz para determinar o teor de tanino presente na casca de pequi.

Hipótese 4: a quantificação de tanino pelo método analítico foi igualmente, ou superior ao método espectrofotométrico UV-Vis Folin Denis.

## **OBJETIVOS**

O objetivo geral desse projeto é desenvolver uma nova análise usando a técnica de análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica e eletrodo impresso por tecnologia 3D como eletrodo de trabalho para a quantificação de taninos em extratos obtidos da casca de pequi.

Para isso, alguns objetivos específicos são propostos: identificar os pontos de coleta da casca de pequi; realizar a extração do tanino; quantificar o tanino pelo método espectrofotométrico UV-Vis Folin Denis; quantificar o tanino pelo método analítico proposto; avaliar a confiabilidade dos resultados utilizando testes estatísticos (teste t e teste f).

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1. Pequi *Caryocar brasiliense*, Camb.

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma espécie nativa do cerrado, conhecido popularmente como piqui, pequiá, amêndoa de espinho, grão de cavalo ou amêndoa do Brasil e é encontrado nos estados do Pará, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, São Paulo, Minas Gerais e Paraná, Piauí, Ceará e Maranhão (DE LIMA et al., 2007). Apresenta um fruto, o pequi, com pericarpo (casca) esverdeado, polpa amarela alaranjada e amêndoa coberta com espinhos finos de 2 a 5 mm de comprimento (BATISTA; SOUSA, 2019).

O principal uso do fruto é na alimentação das populações locais, em diversificadas receitas. A polpa do pequi contém boa quantidade de óleo comestível e é rico em vitamina A e proteínas, transformando-se em importante complemento alimentar (ROESLER et al., 2007).

Mesmo com diversas aplicações e o alto consumo do pequi no período da safra, não há o plantio comercial da espécie, sendo estritamente extrativista. Esse tipo de extrativismo gera importante renda para todos os envolvidos no processo. Os frutos, após a maturação, caem e são colhidos no chão, porém para se evitar o processo de deterioração para o uso comercial, alguns catadores fazem a derrubada dos frutos que ainda não estão maduros, gerando problema de má qualidade do fruto.

A casca ou pericarpo, conjunto do exocarpo e mesocarpo, corresponde a 76,7% do fruto (MONTEIRO et al., 2005), parte que na maioria das vezes é descartada, consumindo somente a polpa. BORBA et al., (2019) estudaram o uso de cascas de pequi como bioadsorvente para remoção do glifosato presente em meio aquoso, os resultados demonstraram que o glifosato foi rapidamente adsorvido, mostrando ser uma alternativa promissora de baixo custo.

## 1.2. Taninos

Taninos podem ser definidos como “compostos polifenólicos solúveis em água de ocorrência natural com um peso molecular entre 500 e 3000g, capazes de precipitar alcaloides, bem como gelatina e outras proteínas de soluções aquosas (DE HOYOS-MARTÍNEZ *et al.*, 2019). As principais características dos taninos estão relacionadas com sua natureza fenólica, sendo uma delas a sua capacidade antioxidante, ligada aos anéis fenólicos presentes em sua estrutura, que podem atuar como sequestradores de elétrons para capturar íons e radicais (DE HOYOS-MARTÍNEZ *et al.*, 2019).

Essa característica faz com que os taninos sejam utilizados em diferentes áreas, como a indústria farmacêutica (BONDAM *et al.*, 2022; KHAN; AKHTAR, 2022), médica (PIWOWARSKI; KISS; KOZŁOWSKA-WOJCIECHOWSKA, 2011; RAJASEKAR *et al.*, 2021) ou alimentícia (BUYSE *et al.*, 2021; TORRES *et al.*, 2022). Sua aplicação no curtimento de couro (GUO *et al.*, 2020) existe há vários anos, uma das vantagens do seu uso para este fim, diz respeito ao meio ambiente, em relação aos agentes de curtimento sintético, o tanino vegetal tem a vantagem de ser de matéria-prima renovável e menos poluidora.

Os taninos geralmente são divididos em dois grupos: 1. Hidrolisáveis, que são heteropolímeros compostos de ácidos polifenólicos e seus derivados, esterificados em poliol que geralmente é um carboidrato; e 2. Condensados, cuja estrutura é composta exclusivamente de (epi) catequinas designadas como procianidinas (DE HOYOS-MARTÍNEZ *et al.*, 2019).

## 1.3. Análise por injeção em batelada (BIA)

A análise por injeção em batelada é um procedimento alternativo para a realização de análises simples e rápidas. A técnica consiste em uma injeção da amostra com uma micropipeta, que pode ser manual ou eletrônica (sendo a última mais indicada para que a operação seja altamente reprodutível), na superfície de um eletrodo de trabalho (configuração do tipo wall-jet) imerso em grande volume de solução inerte (detecção eletroquímica) (PEREIRA, 2016).

De acordo com Pereira, (2016) a técnica apresenta várias vantagens, como: baixo custo, consumo reduzido de reagentes e amostras, mínima geração de resíduos, elevada frequência analítica, simplicidade e boa repetibilidade. Outras vantagens são adicionadas quando o sistema BIA é combinado com detecção eletroquímica (amperometria,

potenciometria ou voltametria), como a facilidade de uso em laboratórios com infraestrutura mínima ou em análises em campo, além da dispensa de utilização de reagentes de alta pureza.

#### 1.4. BIA com detecção amperométrica

Detectores amperométricos podem ser acoplados a sistemas BIA, trazendo vantagens na seletividade e sensibilidade (com detecções de baixas concentrações). Porém, durante a análise alguns problemas podem surgir, como a contaminação do eletrodo através de impurezas e subprodutos que comprometem a repetibilidade do sinal analítico.

As técnicas amperométricas pulsadas contornam de forma simples a limitação da detecção amperométrica convencional em relação à estabilidade do sinal eletroquímico, pois permite a realização de limpeza eletroquímica (aplicação de pulso de potencial de limpeza) durante toda análise (PEREIRA, 2016). Essa vantagem do método MPA de limpar *in situ* e reativar a superfície do eletrodo durante a detecção eletroanalítica é por causa dos diferentes programas de trabalho aplicados, em que o potencial de medição é mantido por um curto período de tempo (pulso de medição) e após há o pulso de limpeza do eletrodo (BEBESELEA *et al.*, 2010), isso faz com que a sensibilidade e a repetibilidade da resposta sejam conseqüentemente melhoradas.

Outra vantagem do método é a detecção simultânea de mais de um analito de interesse, que normalmente, é realizado um pré-tratamento da amostra como por exemplo a separação por HPLC dos analitos de interesse ou de uma modificação no eletrodo de trabalho. Todavia, no seu estudo Bovol *et al.*, (2018) conseguiram detectar tBHQ, PG e BHA separadamente em uma única etapa de injeção em um eletrodo de carbono vítreo sem a necessidade de uma separação preliminar. Pelo fato que ao aplicar uma onda potencial adequada, ou seja, uma sequência adequada de pulsos, pode-se distinguir os analitos de uma mistura, sem qualquer modificação do eletrodo ou pré-tratamento da amostra.

Alguns parâmetros influenciam no desempenho do sistema como a distância entre o eletrodo de trabalho e a ponteira da micropipeta, o volume e a velocidade de injeção. Sabe-se que para distâncias menores que 2 mm, a corrente tende a ser menor, à medida que vai aumentando, a corrente aumenta até certa distância, aproximadamente 2 a 3 mm (PEREIRA, 2016) estabilizando no seu máximo, após esse valor a corrente volta a reduzir.

Os parâmetros de velocidade e o volume de injeção são dependentes, e a aquisição

de corrente pode ser comprometida se o volume de injeção for muito pequeno, ou a velocidade de injeção seja muito grande, isso é explicado pelo aumento da sensibilidade com o aumento da velocidade de injeção e de acordo com Pereira, (2016) em volumes de injeção de 150 e 200  $\mu\text{L}$ , a corrente é amostrada mais vezes na região de corrente máxima de cada pico (sinal transiente) e melhor repetibilidade pode ser obtida.

### 1.5. Eletrodo impresso por tecnologia 3D

Nos últimos anos a área da química analítica vem buscando o uso de tecnologias e dispositivos de baixo custo e confiáveis para atender suas demandas. Os eletrodos impressos por tecnologia 3D têm surgido como interface inovadora para análises eletroquímicas pela viabilidade da sua produção utilizando filamentos condutores, como os de ácido polilático (PLA) e acrilonitrila butadieno estireno (ABS).

No entanto, a maioria dos sensores eletroquímicos impressos em 3D precisam ser pré-tratados antes do uso devido ao excesso de PLA que pode obstruir as nanofitas de grafeno condutor na superfície do eletrodo impresso em 3D (CARDOSO *et al.*, 2020a). ROCHA *et al.*, (2020), demonstraram que um tratamento eletroquímico simples com solução de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> melhorou significativamente a resposta eletroquímica de eletrodos impressos em 3D fabricados com filamentos de PLA condutores.

CARDOSO *et al.*, (2020a) demonstraram que o tratamento combinado por polimento mecânico seguido de imersão em solvente melhora o desempenho eletroquímico do sensor G-PLA impresso em 3D. CARDOSO *et al.*, (2020b) fabricaram um eletrodo usando uma caneta 3D, e mostraram que além de ser de baixo custo, em relação à precisão, o eletrodo fabricado apresentou excelente desempenho, melhor que um de carbono comercial, mesmo considerando que o procedimento proposto envolve o manuseio de caneta 3D.

Os filamentos condutivos, como o próprio nome diz, são compostos por um material capaz de conduzir corrente. Suas aplicações são bastante comuns na indústria eletrônica, para impressões de placas Arduino, baterias, teclados digitais, e também na eletroquímica, com a produção de eletrodos de trabalho (HAMZAH *et al.*, 2018).

Os materiais mais comuns usados na produção destes filamentos no mercado são à base de carbono, grafeno (Black Magic®) e negro de fumo (Proto-Pasta®) (FLOWERS *et al.*, 2017) misturados com materiais termoplásticos, como o ácido polilático (PLA condutivo)(STOPFORTH, 2021) e acrilonitrila butadieno estireno (ABS).

Na literatura há relatos de trabalhos propondo o uso de outros materiais para a

produção de eletrodos eletroquímicos impressos, com o uso de aço inoxidável para impressão e depois galvanizados com ouro (Au) (HO; AMBROSI; PUMERA, 2018) e demais metais, como a zircônia para produção de filamentos (YAKIMOV *et al.*, 2021) ou perovskita dopada com alumínio (ALSUWIAN *et al.*, 2021).

Os filamentos condutivos podem ser usados para impressões 3D de eletrodos de trabalho para análises eletroquímicas, tais eletrodos possuem vantagens de baixo custo de produção em relação aos eletrodos comerciais. Entretanto, é um material descartável, uma vez que apresenta contaminação e redução da sua capacidade de conduzir corrente, outro fator a ser observado é em relação ao envelhecimento do filamento, através do estudo de caso, Kalinke *et al.*, (2022) identificaram que o envelhecimento prejudica o desempenho dos sensores através da verificação da redução da reprodutibilidade intra-dia (intradia) dos eletrodos produzidos com filamento de três anos.

Os eletrodos impressos em laboratório além de vantajoso em relação à facilidade do processo de impressão, por exemplo, o impresso para essa pesquisa, levou 11 minutos para ser impresso, possuem o gasto mínimo de filamento, gastando neste experimento a quantidade de 0,59 g de filamento com dimensões de 230,9 mm, saindo a R\$0,70 a peça, confirmando o baixo custo de análise.

Este eletrodo é descartável, pode ser usado mais de uma vez visto que podem usar os dois lados de impressão, porém desvantagens como a contaminação e, também a resistência do material, que ao longo do uso podem demonstrar rachaduras, faz com que seu uso por mais de 2 vezes se torne inviável. Porém ao custo de R\$ 0,70 cada eletrodo e podendo na mesma análise quantificar mais de uma amostra se torna uma forte proposta ambientalmente e economicamente viável.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSUWIAN, T. et al. First principles investigation of physically conductive bridge filament formation of aluminum doped perovskite materials for neuromorphic memristive applications. **Chaos, Solitons & Fractals**, v. 150, p. 111111, set. 2021.

BATISTA, F. O.; DE SOUSA, R. S. Bioactive compounds in fruits pequi (caryocar brasiliense camb.) E baru (dipteryx alata vogel) and their potential uses: a review. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 7, p. 9259–9270, 8 ago. 2019.

BAVOL, D. et al. Simultaneous determination of tert-butylhydroquinone, propyl gallate, and butylated hydroxyanisole by flow-injection analysis with multiple-pulse amperometric detection. **Talanta**, v. 178, p. 231–236, fev. 2018.

BEBESELEA, A. et al. The electrochemical determination of phenolic derivatives using multiple pulsed amperometry with graphite based electrodes. **Talanta**, v. 80, n. 3, p. 1068–1072, jan. 2010.

BONDAM, A. F. et al. Phenolic compounds from coffee by-products: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. **Trends in Food Science & Technology**, v. 123, p. 172–186, maio 2022.

BOONKORN, P.; CHUAJEDTON, A.; KARUEHANON, W. The crude tannin extraction from wood scrap wastes for prolonging the shelf life of litchi fruits. **International Journal of GEOMATE**, v. 18, n. 67, p. 208–213, 2020.

BORBA, L. L. et al. Use of adsorbent biochar from pequi (Caryocar Brasiliense) husks for the removal of commercial formulation of glyphosate from aqueous media. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, p. 19180450, 2019.

BUYSE, K. et al. Chestnut tannins in broiler diets: performance, nutrient digestibility, and meat quality. **Poultry Science**, v. 100, n. 12, p. 101479, dez. 2021.

CARDOSO, R. M. et al. 3D-Printed graphene/polylactic acid electrode for bioanalysis: .Biosensing of glucose and simultaneous determination of uric acid and nitrite in biological fluids. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 307, p. 127621, 15 mar. 2020a.

CARDOSO, R. M. et al. 3D printing pen versus desktop 3D printers: Fabrication of carbon black/polylactic acid electrodes for single-drop detection of 2,4,6-trinitrotoluene. **Analytica Chimica Acta**, v. 1132, p. 10–19, 2 out. 2020b.

DE HOYOS-MARTÍNEZ, P. L. et al. **Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production** *Journal of Cleaner Production* Elsevier Ltd, , 1 jan. 2019.

DE LIMA, A. et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (Caryocar brasiliense, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, dez. 2007.

FLOWERS, P. F. et al. 3D printing electronic components and circuits with conductive thermoplastic filament. **Additive Manufacturing**, v. 18, p. 156–163, dez. 2017.

GUO, L. et al. Optimisation of tannin extraction from Coriaria nepalensis bark as a renewable resource for use in tanning. **Industrial Crops and Products**, v. 149, 1 jul. 2020.

HAMZAH, H. H. et al. 3D printable conductive materials for the fabrication of electrochemical sensors: A mini review. **Electrochemistry Communications**, v. 96, p. 27–31, nov. 2018.

HO, E. H. Z.; AMBROSI, A.; PUMERA, M. Additive manufacturing of electrochemical interfaces: Simultaneous detection of biomarkers. **Applied Materials Today**, v. 12, p. 43–50, set. 2018.

JOÃO, J. J.; JÚNIOR, W. S. Utilization of the pinus bark for tannin extraction to apply with as coagulant in the treatment of industrial effluents. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 1044–1053, 2019.

KALINKE, C. et al. Influence of filament aging and conductive additive in 3D printed sensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 1191, p. 339228, jan. 2022.

KHAN, P.; AKHTAR, N. Phytochemical investigations and development of ethosomal gel with *Brassica oleraceae* L. (Brassicaceae) extract: An innovative nano approach towards cosmetic and pharmaceutical industry. **Industrial Crops and Products**, v. 183, p. 114905, set. 2022.

MONTEIRO, J. M. et al. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 999–1005, dez. 2005.

PEREIRA, P. F. Uso do eletrodo de diamante dopado com boro acoplado a um sistema BIA para determinação simultânea de princípios ativos em medicamentos. Tese (Doutorado em Química), **Instituto de Química**, Universidade Federal de Uberlândia, p. 156. 2016.

PIWOWARSKI, J. P.; KISS, A. K.; KOZŁOWSKA-WOJCIECHOWSKA, M. Anti-hyaluronidase and anti-elastase activity screening of tannin-rich plant materials used in traditional Polish medicine for external treatment of diseases with inflammatory background. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 937–941, set. 2011.

RAJASEKAR, N. et al. An overview on the role of plant-derived tannins for the treatment of lung cancer. **Phytochemistry**, v. 188, p. 112799, ago. 2021.

ROCHA, D. P. et al. Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode: Chemical/electrochemical treatment exposes carbon-black conductive sites. **Electrochimica Acta**, v. 335, p. 135688, 1 mar. 2020.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53–60, 2007.

STOPFORTH, R. Conductive polylactic acid filaments for 3D printed sensors: Experimental electrical and thermal characterization. **Scientific African**, v. 14, p. e01040, nov. 2021.

TORRES, R. N. S. et al. Effects of tannins supplementation to sheep diets on their performance, carcass parameters and meat fatty acid profile: A meta-analysis study. **Small Ruminant Research**, v. 206, p. 106585, jan. 2022.

YAKIMOV, A. V. et al. Influence of oxygen ion elementary diffusion jumps on the electron current through the conductive filament in yttria stabilized zirconia nanometer-sized memristor. **Chaos, Solitons & Fractals**, v. 148, p. 111014, jul. 2021.



**CAPÍTULO 1 – ARTIGO 1**

**EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS: UMA DESCRIÇÃO DOS  
DIFERENTES MÉTODOS APLICADOS NOS ÚLTIMOS ANOS**

**Revista AIDIS- ISSN 0718-378X- Qualis B2.**

## RESUMO

Taninos são compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas, podendo ser encontrados em sementes, frutos e cascas. Estes compostos têm atraído atenção para diversas pesquisas, uma vez que são abundantes na natureza e possuem várias aplicações tais como curtimento de couro, anticorrosivos, produção de cola, de plásticos, de bebidas e tratamento de efluentes. Porém, como apresentam variedade em sua composição química, é possível encontrar na literatura diferentes técnicas de extração e quantificação destes compostos. Este artigo de revisão tem como objetivo, apresentar as principais técnicas de extração e quantificação de taninos obtidos a partir de diferentes matérias-primas, na intenção de realizar uma comparação entre os métodos, bem como vantagens e desvantagens de cada um. Para isso, estudou-se alguns periódicos retirados de bases das seguintes bases de indexação, Scopus e Scielo, e importados para o gerenciador de referência Mendeley ©.

Palavras-chave: compostos fenólicos; extrato tânico; índice de Stiasny; métodos extrativos.

## ABSTRACT

Tannins are phenolic compounds from the secondary metabolism of plants and can be found in seeds, fruits and hulls. These compounds have attracted attention for several researches, since they are often found in nature and have several options for leather, anti-corrosion applications, glue production, plastics, effluent treatment. However, as they present variation in their chemical composition, it is possible to find different techniques and methods for its quantification. This review article aims to present the main techniques for extracting and quantifying tannins obtained from different raw materials, in order to compare the methods, as well as the advantages and disadvantages of each one. For this, some journals taken from the following index bases, Scopus and Scielo, were studied and imported into the Mendeley © reference manager.

Keyword: extractive methods; phenolic compounds; Stiasny index tannic extract.

## 1.1 INTRODUÇÃO

Taninos são polifenóis de alto peso molecular, encontrados em várias partes de plantas, tais como casca, raiz, folhas, madeira e frutas (MORBECK *et al.*, 2019). Esses compostos são amplamente utilizados nas indústrias de curtimento de couro (Guo *et al.*, 2020), clarificação de vinho e cerveja, adesivos de madeira (PING *et al.*, 2011) e como coagulante natural no tratamento da água (JOÃO; JÚNIOR, 2019). Os estudos relatam a diversidade de espécies que possuem taninos em sua composição, como *Eucalyptus bark* (SANTIAGO *et al.*, 2019), *Anadenanthera peregrina* (SOUSA *et al.*, 2019), sendo as mais comuns para a indústria a Acácia (WINA; SUSANA; TANGENDAJA, 2010) e quebracho (DE AZEVÊDO *et al.*, 2015).

O processo de extração é uma etapa muito importante na obtenção do tanino, podendo ser realizado a frio (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014) ou a quente (GALVÃO *et al.*, 2018; ZEVALLOS, 2018), porém, o aumento da temperatura aumenta a velocidade de algumas reações, entretanto temperaturas muito altas podem degradar algumas substâncias. O tipo de extração mais comum é o sólido-líquido, com solventes polares como a água, metanol e acetona ou uma mistura destes. Pode ocorrer a adição de sais como o sulfito de sódio que além de auxiliar no processo extrativo, aumenta o pH do extrato que influencia no processo de aplicação do tanino para fabricação de adesivos. Métodos como o Soxhlet ou ultrassom, e micro-ondas podem ser usados influenciando na redução do tempo de extração.

A quantificação dos taninos geralmente ocorre pelo método do índice de Stiasny (JOÃO; JÚNIOR, 2019) ou por métodos espectrofotométricos (BOONKORN; CHUAJEDTON; KARUEHANON, 2020). O IS calcula o percentual de tanino condensado contido nos extratos pela razão entre a massa de tanino e a massa dos extrativos totais. Nos métodos espectrofotométricos a quantificação é caracterizada pela absorbância lida no espectrofotômetro e a curva calibrada pela leitura do padrão.

Outros métodos que vem sendo estudados para quantificação de taninos são os métodos eletroquímicos, como amperometria (SU; CHENG, 2015) voltametria cíclica (SÁNCHEZ ARRIBAS *et al.*, 2020) e voltametria de onda quadrada (PIOVESAN *et al.*, 2017) suas vantagens revelam que essas técnicas são consideradas rápidas e sensíveis, possuem alta portabilidade e baixo consumo de amostra e reagentes.

Neste trabalho é realizada a revisão bibliográfica, buscando identificar as metodologias desenvolvidas ao longo dos últimos 10 anos para extração e quantificação de taninos em diferentes espécies vegetais.

## 1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os diferentes passos seguidos para a realização deste artigo de revisão são demonstrados nesta seção, desde a busca, até a seleção e análise de artigos. Na preparação desta revisão foram selecionadas duas bases de dados bibliográficas: Scopus e Scielo. A seleção dos trabalhos publicados foi refinada da seguinte forma: primeiro foi realizada a busca geral envolvendo dois tópicos principais deste trabalho, extração e quantificação de taninos, num período de 10 anos (2011-2021), obtendo 24 artigos na Scielo, 80 na Scopus e, posteriormente, para cada base de dados foram selecionados os artigos de maior relevância, excluindo alguns após a leitura do título e outros após a leitura do resumo ou do artigo na íntegra. Dessa forma, foram selecionados 2 artigos para estudar os métodos de extração e de quantificação de taninos, objetivando a comparação entre as diferentes metodologias e a avaliação de seus principais pontos fracos e fortes. No intuito de complementar os dados de quantificação eletroquímica três foram selecionados da base de dados do Science Direct. Por fim, os artigos mais relevantes foram importados para o sistema de gerenciamento de referência Mendeley © para eliminar artigos duplicados totalizando no final 31 artigos

## 1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Tipos de Extração*

A extração de taninos é uma etapa importante, uma vez que podem ocorrer variações ou rearranjos em suas propriedades e estrutura, respectivamente, durante a realização dessa etapa (MORBECK *et al.*, 2019). Inicialmente faz-se a coleta e, na sequência, a amostra passa por uma dessecação e trituração. A dessecação tem por objetivo reduzir a umidade, diminuindo a ação de enzimas e proliferação microbiana, além de facilitar o processo de trituração que tem por finalidade obter a menor granulometria, aumentando a superfície de contato e, conseqüentemente, a eficiência do processo extrator. O rendimento da extração com relação ao tipo, solvente, tempo e temperatura utilizados, é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1- Rendimento da extração com relação ao tipo, solvente, tempo e temperatura utilizados.

Tipos de extração e rendimentos					
Extração	Solvente	Temperatura	Tempo	Rendimento	Ref.
<b>Sólido-líquido (1:13)</b>	Água destilada	Banho-maria 83,5°C	180 min	<i>E.compactum</i> -11,1% <i>S.skinnei</i> - 20,9%	Lisperguer Saravia; Vergara, 2016
<b>Ultrassom</b>	Etanol/ água	—	10 min	Frutos de <i>Dipteryx</i> <i>alata Vogel</i> - 33,70±0,02 %	Martins <i>et al.</i> , 2013
<b>Sólido-Líquido (10g/150 ml)</b>	H <sub>2</sub> O + 5% Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	Refluxo por 80°C	2 horas	Mesocarpo de coco verde - 3,37 %	Morbeck et al., 2019
<b>Soxhlet e fervura</b>	Metanol/ água/ acetona/ tolueno	Temperatura de ebulição	3 a 9 horas	<i>Rhizophora</i> <i>Mucronata</i> 28.97 ± 1.8 %	Muhayyidin <i>et al.</i> (2018)
<b>Sólido-líquido 1: 500</b>	acetona / água/ ácido acético	Temperatura ambiente	20 min	Castanheiro 11% e quebracho 28%	Panzella et al., 2019
<b>Sólido-líquido (1:15)</b>	Etanol / água (70%)	Maceração	72 horas	Casca de <i>A.</i> <i>occidentale</i> - 5,34 ±0,07 %	Santos <i>et al.</i> , 2011
<b>Sólido-líquido (200g/10ml)</b>	Metanol/ água (50%)	Maceração a frio	4 horas	Cascas de angico- vermelho 12,05 %	Sartori; Castro; Mori, 2014

<b>Sólido-líquido (1:15)</b>	3% sulfito de sódio (Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )	Banho-maria 70°C	3 horas	Casca de <i>Curupay</i> - 14.79 ± 0.35 %	Sousa <i>et al.</i> , 2019
<b>Sólido-líquido</b>	Água + 5% sulfito de sódio (Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )	Refluxo	2 horas	Casca de <i>Pinus oocarpa</i> - 27,09%	Vieira; Lelis; Rodrigues, 2014
<b>Sólido-líquido (100g/1L)</b>	Etanol	Macerção 70 °C	24 horas	<i>Desmodium</i> - 5,17 ± 0,10 g ATE / 100 g de planta	Zevallos, 2018

No processo de extração de compostos fenólicos, alguns fatores importantes devem ser considerados, como tamanho de partícula, polaridade do solvente, acidez do meio, sistema de agitação, método de extração, temperatura e tempo de contato (MARTINS *et al.*, 2013). A extração de taninos pode ocorrer na forma sólido-líquida, em que a fração sólida do material, em contato com o solvente, é dissolvida e retirada na forma de extrato.

Como os taninos são moléculas polares, sua extração é simples devido a sua solubilidade em solventes orgânicos polares e água. Há vários solventes que podem ser empregados: etanol (ZEVALLOS, 2018), metanol e água (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014), acetona e água (PANZELLA *et al.*, 2019). Alguns estudos usam a água como solvente (ALVES *et al.*, 2015; LISPERGUER; SARAIVA; VERGARA, 2016), pelo fato de ser mais econômica e bastante eficiente, além de ser ambientalmente mais limpa.

O valor de pH se torna de grande importância na reatividade dos taninos, principalmente para uso como adesivos, pois a acidez interfere na reação de condensação do tanino com o formaldeído. Nota-se aumento no pH dos extratos com a adição dos sais e um caráter ácido nos taninos em extratos aquosos (VIEIRA; LELIS; RODRIGUES, 2014).

A extração aquosa de taninos condensados na presença de sulfito de sódio é chamada sulfitação, sendo especialmente adequada para a produção de extratos tânicos destinados à síntese de adesivos (VIEIRA; LELIS; RODRIGUES, 2014). De acordo com Sousa *et al.*, (2019), uso do sulfito de sódio acrescido de água para extrair o tanino aumentaria a superfície de contato entre os taninos e o solvente, aumentando a eficiência da extração. O resultado do estudo demonstrou que baixas doses de sal extrator e curtos tempos de extração não são suficientes para extrair grandes quantidades de taninos, enquanto longos períodos de extração e grandes concentrações de sal causam depreciação dos taninos e maior extração de componentes não taninos, resultando também em menor gravimetria (SOUSA *et al.*, 2019).

Alguns estudos demonstraram que os melhores rendimentos de taninos, e relativamente um baixo percentual de não taninos, foi com a extração utilizando sulfito de sódio a 5% (MORBECK *et al.*, 2019; VIEIRA; LELIS; RODRIGUES, 2014).

Além do solvente ideal, outros fatores que influenciam no processo extrativo são a temperatura de extração e o tempo de contato. Métodos convencionais de extração como aquecimento, fervura ou refluxo, podem ser utilizados na extração de produtos naturais, as desvantagens são a perda de substâncias de interesse pela hidrólise, oxidação e ionização durante o processo extrativo (MARTINS *et al.*, 2013).

Há variedade de extração na literatura envolvendo a temperatura e tempo de extração, algumas com o uso autoclave a 80°C (MORBECK *et al.*, 2019), uso de banho-maria a 83,5°C (COLÍN-URIETA; OCHOA-RUIZ; RUTIAGA-QUIÑONES, 2013), além de pesquisas que fazem a extração por maceração a frio (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014). O mesmo ocorre para o tempo de extração, há estudos com tempo de refluxo de 30 min (ROMERO; DOMÍNGUEZ; GUZMÁN, 2014) e a maceração em 72 horas (SANTOS *et al.*, 2011).



A extração de Soxhlet é um método bem conhecido para a extração de líquidos-sólidos, como vantagem esse método é intermitente, não há o contato direto do solvente em ebulição com a amostra, descartando a filtração após o processo, como desvantagem podendo citar a saturação do solvente que dificultaria o processo extrator.

A extração Soxhlet pode ser modificada com adição de banho termostático na câmara de Soxhlet e sonda ultrassônica, ou assistida por micro-ondas, que tem como vantagem a redução do ciclo de extração. Porém, Muhayyidin *et al.*, (2018) escolheu a extração convencional de Soxhlet porque, em termos de rendimento, ela produz resultado mais eficaz comparada a assistida por ultrassom e micro-ondas para extração em um estágio.

Martins *et al.*, (2013) realizou uma extração de tanino pelo método assistido por ultrassom, no qual as forças de cisalhamento criadas pela cavitação ultrassônicas quebram as paredes das células mecanicamente, permitindo maior penetração do solvente e aumenta a superfície de contato entre a fase sólida e a líquida, resultando na difusão do soluto da fase sólida para o solvente. Uma das vantagens do uso do ultrassom (método físico), ao invés dos métodos químicos, é que ele é ambientalmente mais limpo e fornece possibilidades para processos energeticamente mais eficientes (SIVAKUMAR *et al.*, 2018).

Para um eficiente processo de extração, são necessários estudos isolados de aprimoramento com avaliação das diferentes variáveis que influenciam no processo, visando a diminuição de custos, matérias-primas, produção mais limpa e, conseqüentemente, reduzindo o impacto ambiental.

### *Tipos de Quantificação*

A concentração de taninos é altamente variável, dependendo da espécie, tipo de tecido, cultura, estado de desenvolvimento e condições ambientais (ZEVALLOS, 2018). Esses fatores são relevantes, pois influenciam nos processos de extração e quantificação. De acordo com Sartori *et al.*, (2014), árvores mais novas sintetizam compostos fenólicos mais simples, à medida que aumenta sua idade aumenta a polimerização destes compostos formando os polímeros, que são os taninos e a lignina, e esta polimerização tende a se estabilizar e diminuir ao longo da idade da árvore.

De Azevêdo *et al.*, (2015) encontraram maior teor de taninos condensados no mês de dezembro quando as plantas encontravam com a presença de folhas verdes e menor teor de taninos em agosto, mês que a planta apresentou presença de frutos verdes, porque

que os taninos podem se translocar para os frutos, como mecanismo de defesa da planta contra insetos. São várias as metodologias para quantificação de compostos fenólicos em laboratório, destacando-se os ensaios de precipitação de metais ou proteínas, e os ensaios colorimétricos (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014).

Na literatura são encontradas diversas pesquisas que usam como método de quantificação o Índice de Stiasny (SI) (MORBECK *et al.*, 2019, SOUSA *et al.*, 2019), a qual expressa o conteúdo de polifenóis no extrato e apresenta como vantagem, fácil execução. O número Stiasny é a razão entre o precipitado formado em relação ao total de sólidos e corresponde à porcentagem de taninos condensados no extrato (ROMERO; DOMÍNGUEZ; GUZMÁN, 2014). Representa o percentual de taninos condensados existentes no extrato proveniente da reação de Stiasny, a qual é realizada em meio de formaldeído e ácido clorídrico (VIEIRA; LELIS; RODRIGUES, 2014).

Após a reação o material é filtrado e seco, até atingir massa constante e o índice pode ser calculado através da divisão da massa seca do precipitado tanino-formaldeído pela massa total de sólidos do extrato. Obtém-se também o rendimento gravimétrico em taninos condensados através do produto do rendimento de sólidos totais pelo índice de Stiasny e o rendimento dos componentes não taninos pela diferença do rendimento de sólidos totais e o rendimento gravimétrico de taninos condensados.

Outro método de quantificação é por difusão radial, que apresenta como vantagem a não interferência de fenóis não tânicos, como flavonoides, ácidos benzoicos ou ácidos hidroxicinâmicos, no ensaio, como acontece pelo índice de Stiasny. (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014). Esse método é simples, sensível e específico, e fundamenta-se na propriedade que os taninos complexam proteínas. Quando o tanino entra em contato com um gel contendo proteína, há a formação de um precipitado visível. O gel pode ser preparado com agarose em solução de ácido acético e de ácido ascórbico e o resultado expresso de forma semelhante aos métodos de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu. O método é geralmente aplicado quando há análise de grande número de amostras (SANTOS *et al.*, 2014) e não necessita de equipamentos sofisticados (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014).

Métodos espectrofotométricos na região UV, como o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, também são propostos para a quantificação de taninos. A reação de Folin-Ciocalteu é resultado de oxidação inespecífica com polifenóis, e a coloração e intensidade observadas após a reação não correspondem exclusivamente aos taninos (GALVÃO *et al.*, 2018). Assim é necessária a segunda etapa para a complexação do tanino. A quantificação dos taninos totais é obtida subtraindo as absorvâncias dos fenóis totais e dos fenóis residuais (ZEVALLOS, 2018).

Uma das vantagens da metodologia de Folin- Ciocalteu é que utiliza menor quantidade de reagentes, resultando em menor custo e menor geração de resíduos químicos (JARAMILLO *et al.*, 2016). Santos *et al.*, (2011) realizou a quantificação através do método de Folin-Ciocalteu adaptado, em que o total de taninos foi obtido por precipitação química de caseína.

Outro método espectrofotométrico é através da catequina como padrão, em que teor de taninos é obtido a partir da plotagem do valor observado em curva de calibração previamente realizada utilizando catequina (MORAIS *et al.*, 2016). Nesse estudo, o autor mediu a absorvância em espectrofotômetro a 500 nm das amostras, como já havia realizado a curva padrão com a catequina, descobriu-se através da absorvância o valor da concentração dos taninos extraídos.

Técnicas eletroanalíticas, como amperometria (SU; CHENG, 2015), voltametria cíclica (SÁNCHEZ ARRIBAS *et al.*, 2020) e voltametria de onda quadrada (PIOVESAN *et al.*, 2017) também podem ser utilizadas para quantificação de taninos. Como vantagens essas técnicas são consideradas rápidas e sensíveis, com limites de detecção que podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas, alta portabilidade e baixo consumo de amostra e reagentes.

Nesses métodos, a detecção do analito de interesse ocorre pela leitura da corrente em função de um potencial aplicado, sendo que na voltametria esse potencial sofre variação ao longo do tempo e na amperometria há a fixação de um potencial.

Para a realização da quantificação de taninos pelos métodos eletroquímicos, verifica-se na literatura que a maioria dos autores relatam modificação do eletrodo de trabalho, SU e CHENG (2015) realizaram a quantificação pelo método de amperometria por injeção de fluxo (FIA), visando a determinação de ácido gálico (GA) em uma condição neutra, com um eletrodo de carbono serigrafado pré-anodizado imobilizando com um filme fino de poli(melamina) eletroativo.

SÁNCHEZ ARRIBAS *et al.*, (2020) modificaram eletrodos com filmes de nanotubos de carbono, que proporcionam melhor desempenho eletroanalítico em relação ao polifenol ácido gálico usando a Voltametria de Pulso Diferencial e Piovesan *et al.*, (2017) usaram um eletrodo de carbono

vítreo modificado com nanopartículas de ouro e carboximetilcelulose para determinar taninos por impedância eletroquímica (EIS), voltametria cíclica (CV) e voltametria de onda quadrada (SWV) em extratos de Acácia (*Acacia mearnsii* de wild).

Piovesan *et al.*, (2017) fizeram uma comparação do método espectrofotométrico de Folin-Cilocalteu e por voltametria de onda quadrada e verificaram que não houve diferença significativa entre os resultados obtidos pelos dois métodos ao nível de confiança de 95%, concluindo que ele pode ser utilizado para a determinação de taninos em amostras de extratos vegetais.

A tabela 2 mostra um comparativo de dados das características analíticas dos métodos mencionados acima, como a faixa linear, o valor de r, o desvio padrão relativo, o limite de detecção e o limite de quantificação.

Tabela 2- Resultado comparativo dos métodos para quantificação de taninos.

<b>Método</b>	<b>IS</b>	<b>DR</b>	<b>UV</b>	<b>FIA</b>	<b>CV</b>	<b>SWV</b>
<b>Faixa linear (µg/ml)</b>	-	100-600	16-48	0,5-2500	3,3-100	0,3-10
<b>R</b>	0,9539	0,9965	0,9994	0,9984	0,9990	0,9970
<b>DPR</b>	0,03	6,81	0,91	3,9	-	0,222
<b>LD</b>	-	8,32	1,5302	0,076	1,0	0,274
<b>LQ</b>	-	27,72	5,1007	-	-	0,831
<b>Ref.</b>	Sousa <i>et al.</i> , 2019	Santos <i>et al.</i> , 2014	Galvão <i>et al.</i> , 2018	Su; Cheng, 2015	Sánchez Arribas <i>et al.</i> (2020)	Piovesa n <i>et al.</i> , 2017

r = coeficiente de correlação linear; DPR= desvio padrão relativo, LD = Limite de detecção, LQ = Limite de quantificação, Ref= referência, IS= índice de Stiasny, DR= difusão radial, UV- ultravioleta, FIA= análise por injeção em fluxo, CV= voltametria cíclica, SWV= voltametria de onda quadrada.

Através da tabela, podem verificar que os métodos analíticos apresentam melhores resultados quando comparam os valores de  $r$  com valores mais próximos de 1. Sobre a faixa de linearidade, o método FIA apresenta resultados melhores com linearidade de 0,5-2500 ( $\mu\text{g/ml}$ ). Observando os resultados e analisando os tempos de análise e uso de menores quantidade de reagentes e soluções, notam que os métodos eletroanalíticos vêm se tornando uma metodologia promissora para quantificação de taninos, por possuir bons parâmetros analíticos e redução dos custos.

## **1.4 CONCLUSÕES**

Através da revisão, podem entender um pouco mais de vários métodos envolvendo a extração e quantificação de taninos. Extrações mais comuns são a de sólido-líquido envolvendo solventes químicos como acetona, etanol, metanol e água, além de usos de sulfito de sódio para melhorar os rendimentos.

Extrações com água, caso apresentem boa eficiência em relação à extração por outro tipo de solvente, podem garantir um processo ambientalmente mais limpo e economicamente mais viável. Extrações por ultrassom e por Soxhlet melhoram a eficiência de extração e diminuem o tempo de extração em comparação a outros métodos, pois o uso de temperatura foi demonstrado na maioria das pesquisas que influencia positivamente no processo extrativo.

A quantificação de taninos pode ser realizada por diferentes metodologias, sendo as mais antigas pelo Índice de Stiasny (SI) ou pelos métodos espectrofotométricos, porém novas tecnologias de quantificação como as eletroquímicas, por exemplo, a amperometria, a voltametria de pulso diferencial ou a voltametria de onda quadrada, vem ganhando espaço para inovar as análises, trazendo mais sensibilidade e eficiência, além da redução de solventes, de reagentes e subprodutos de análise, pelo uso de pequenas quantidades de extrato.

## **1.5 AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Instituto Federal Goiano, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Aplicada e Sustentabilidade.

## 1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, I. A. B. S. et al. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por espectrofotometria no visível para quantificação de taninos totais na casca do caule de *Simarouba amara* Aubl. **Revista Arvore**, v. 39, n. 1, p. 37–47, 2015.

BIANCHI, S. et al. Characterization of condensed tannins and carbohydrates in hot water bark extracts of European softwood species. **Phytochemistry**, v. 120, p. 53–61, 1 dez. 2015.

BOONKORN, P.; CHUAJEDTON, A.; KARUEHANON, W. The crude tannin extraction from wood scrap wastes for prolonging the shelf life of litchi fruits. **International Journal of GEOMATE**, v. 18, n. 67, p. 208–213, 2020.

CARVALHO, A. G.; LELIS, R. C. C.; DO NASCIMENTO, A. M. Avaliação de adesivos à base de taninos de *Pinus caribaea* var. *bahamensis* e de *Acacia mearnsii* na fabricação de painéis aglomerados. **Ciencia Florestal**, v. 24, n. 2, p. 479–489, 2014.

COLÍN-URIETA, S.; OCHOA-RUIZ, H. G.; RUTIAGA-QUIÑONES, J. G. Contenido de taninos en la corteza de dos especies de parácata (*Erythroxylon compactum* Rose y *Senna skinneri* Benth. Irwin & Barneby). **Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente**, v. 19, n. 1, p. 115–124, jan. 2013.

DE AZEVÊDO, T. K. B. et al. *Mimosa tenuiflora* tannin quality for the production of tannin formaldehyde adhesive. **Ciencia Florestal**, v. 25, n. 2, p. 507–514, 2015.

GALVÃO, M. A. M. et al. Evaluation of the Folin-Ciocalteu Method and Quantification of Total Tannins in Stem Barks and Pods from *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul) L. P. Queiroz. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, n. 0, p. 18170586, 14 nov. 2018.

GUO, L. et al. Optimisation of tannin extraction from *Coriaria nepalensis* bark as a renewable resource for use in tanning. **Industrial Crops and Products**, v. 149, 1 jul. 2020.

JARAMILLO, C. J. et al. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. **Revista de Biología Tropical**, v. 64, n. 3, p. 1171–1184, 1 set. 2016.

JOÃO, J. J.; JÚNIOR, W. S. Utilization of the pinus bark for tannin extraction to apply with as coagulant in the treatment of industrial effluents. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 1044–1053, 2019.

LISPERGUER, J.; SARAVIA, Y.; VERGARA, E. Structure and thermal behavior of tannins from *Acacia dealbata* bark and their reactivity toward formaldehyde. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 61, n. 4, p. 3188–3190, 2016.

MARTINS, F. S. et al. Impact of different extraction methods on the quality of *Dipteryx alata* extracts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 3, p. 521–526, 2013.

MORAIS, N. R. L. 1; O. et al. Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidioscolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi-RN. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 18, n. 1, p. 180–185, 2016.

MORBECK, F. L. et al. Extraction and evaluation of tannin from green coconut mesocarp. **Revista Materia**, v. 24, n. 3, 2019.

MUHAYYIDIN, A. H. M. et al. Tannin extraction from bark of *Rhizophora Mucronata* using soxhlet and boiling techniques. **International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology**, v. 8, n. 6, p. 2525–2530, 2018.

PANZELLA, L. et al. Exhausted woods from tannin extraction as an unexplored waste biomass: Evaluation of the antioxidant and pollutant adsorption properties and activating effects of hydrolytic treatments. **Antioxidants**, v. 8, n. 4, 1 abr. 2019.

PING, L. et al. Condensed tannins extraction from grape pomace: Characterization and utilization as wood adhesives for wood particleboard. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p. 907–914, 1 jul. 2011.

PIOVESAN, J. V. et al. Voltammetric determination of condensed tannins with a glassy carbon electrode chemically modified with gold nanoparticles stabilized in carboxymethylcellulose. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 240, p. 838–847, 1 mar. 2017.

ROMERO, R. S.; DOMÍNGUEZ, G.; GUZMÁN, D. R. *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult) d.c., proveniente de tres localidades de la región Ucayali. **Rev Soc Quím Perú**, 2014.

SÁNCHEZ ARRIBAS, A. et al. A comparative study of carbon nanotube dispersions assisted by cationic reagents as electrode modifiers: Preparation, characterization and electrochemical performance for gallic acid detection. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 857, p. 113750, 15 jan. 2020.

SANTIAGO, S. B. et al. Condensed tannins extracted from *Eucalyptus bark* waste. **Floresta**, v. 49, n. 1, p. 49–56, 2019.

SANTOS, G. H. F. et al. Influence of gamma radiation on the antimicrobial activity of crude extracts of *Anacardium occidentale* rich in tannins. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 3, p. 444–449, 2011.

SANTOS, L. G. et al. Validação de metodologia analítica para determinação de taninos pelo método de difusão radial. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 16, n. 4, p. 881–885, 2014.

SARTORI, C. J. et al. Rendimento gravimétrico em taninos condensados nas cascas de *Anadenanthera peregrina* em diferentes classes diamétricas. **Cerne**, v. 20, n. 2, p. 239–244, 2014.

SARTORI, C. J.; CASTRO, A. H. F.; MORI, F. A. Teores de fenóis totais e taninos nas cascas de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*). **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 3, p. 394–400, 2014.

SIVAKUMAR, V. et al. Ultrasound assisted vegetable tannin extraction from *Myrobalan* (*Terminalia Chebula*) nuts for leather application. **Journal of the American Leather Chemists Association**, v. 113, n. 2, p. 53–58, 1 fev. 2018.

SOUSA, T. B. et al. Quantification of tannins from *Curupay bark*. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 1, p. 20160082, 2019.

SU, Y. L.; CHENG, S. H. Sensitive and selective determination of gallic acid in green tea samples based on an electrochemical platform of poly(melamine) film. **Analytica Chimica Acta**, v. 901, p. 41–50, 11 dez. 2015.

VIEIRA, M. C.; LELIS, R. C. C.; RODRIGUES, N. D. Propriedades químicas de extratos tânicos da casca de *Pinus oocarpa* e avaliação de seu emprego como adesivo. **Cerne**, v. 20, n. 1, p. 47–54, 2014.

WINA, E.; SUSANA, I. W. R.; TANGENDJAJA, B. Biological activity of tannins from *Acacia mangium bark* extracted by different solvents. **Media Peternakan**, v. 33, n. 2, p. 103–107, 2010.

ZEVALLOS, D. R. R. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum Schubert*. **Soc Quím Perú**, 84(2), p. 175-182, 2018.



## **CAPÍTULO 2 – ARTIGO 2**

**Uso do eletrodo de grafite impresso em 3D para quantificação de tanino extraído da casca do pequi.**

**Revista ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS -  
ISSN 1678-2690 - Qualis B1**

## RESUMO

Um procedimento simples, rápido e de baixo custo, baseado em Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção amperométrica e eletrodo de trabalho fabricado por tecnologia de impressão 3D utilizando filamento condutivo negro de fumo foi desenvolvido nesse trabalho para a quantificação de taninos presentes em amostras de cascas de pequi. O tanino foi extraído das amostras utilizando água (1g casca para 50 ml solvente) e, posteriormente, uma alíquota do extrato foi injetada diretamente na superfície do eletrodo de trabalho (configuração wall-jet) imerso em eletrólito suporte (NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>) no sistema BIA. As características analíticas do método proposto incluem alta frequência analítica (até 44 injeções por hora), boa estabilidade (RSD < 0,74%; n = 10), baixo limite de detecção (2,5 mg L<sup>-1</sup>) e geração mínima de resíduos.

**Palavras-chave:** Análise por Injeção em Batelada. Detecção Amperométrica. filamento condutivo. Eletroquímica. Impressora 3D.

## ABSTRACT

A simple, fast and low-cost procedure, based on Batch Injection Analysis (BIA) with amperometric detection and working electrode manufactured by 3D printing technology using conductive carbon black filament, was developed in this work for tannins quantification present in pequi hulls samples. Tannin was extracted from the samples using water (1g hulls for 50 ml solvent) and, later, an aliquot of the extract was injected directly onto the surface of the working electrode (wall-jet configuration) immersed in supporting electrolyte (NaOH 0.5 mol L<sup>-1</sup>) in the BIA system. The analytical characteristics of the proposed method include high analytical frequency (up to 44 injections per hour), good stability (RSD < 0.74%; n = 10), low detection limit (2.5 mg L<sup>-1</sup>) and minimal generation of waste.

**Keyword:** Amperometric detection. Batch Injection Analysis. Conductive filament. Electrochemistry. 3D printer.

## 2.1. INTRODUÇÃO

Os taninos são considerados polifenóis, em razão da grande quantidade de anéis fenólicos presentes em sua estrutura, com massa molecular variando entre 500 e 3000 g/mol aproximadamente (VIEIRA; LELIS; RODRIGUES, 2014). São classificados quimicamente em taninos hidrolisáveis, os quais apresentam na sua constituição monômeros de ácido gálico ou ácido elágico, e taninos condensados, consistindo em unidades flavonóis, encontrados em várias partes de plantas, tais como casca, raiz, folhas, madeira e frutas (MORBECK *et al.*, 2019).

A casca do pequi é rica em antioxidantes que podem influenciar positivamente no tratamento de doenças que cursam com estresse oxidativo (MENDES, 2017), bem como apresentar atividade citotóxica em células de osteossarcoma canino (BRAGA, 2016), e um potencial de uso na indústria farmacêutica e de alimentos (CARVALHO, 2018).

Há várias metodologias de quantificação de taninos disponíveis na literatura, incluindo Índice de Stiasny (SI) (DA SILVA ARAUJO *et al.*, 2021; IRMAN *et al.*, 2022; MORBECK *et al.*, 2019; SOUSA *et al.*, 2019), difusão radial (SARTORI; CASTRO; MORI, 2014), método colorimétrico de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu (GALVÃO *et al.*, 2018; GONZÁLEZ *et al.*, 2022; MOYA *et al.*, 2008; VANDERWEIDE *et al.*, 2020) e alguns métodos eletroquímicos como amperometria (HUNG *et al.*, 2008; SU; CHENG, 2015), voltametria cíclica (ALIPOUR *et al.*, 2022; SÁNCHEZ ARRIBAS *et al.*, 2020; ZIYATDINOVA; SNEGUREVA; BUDNIKOV, 2017) e voltametria de onda quadrada (PIOVESAN *et al.*, 2017).

No entanto, entre os métodos listados, vários apresentam uma ou mais de uma das seguintes limitações: alto custo, baixa frequência analítica, uso de solventes orgânicos, uso de reagentes de alta pureza e necessidade de etapas de modificação de eletrodos. Desta forma, estudos para o desenvolvimento de novos métodos que permitam a determinação de taninos sem as limitações listadas anteriormente é de grande importância.

Um procedimento alternativo denominado Análise por Injeção em Batelada com detecção por Amperometria de Múltiplos Pulsos (BIA-MPA, do inglês “*Batch Injection analysis with Multiple Pulse Amperometric detection*”) pode ser utilizado para a quantificação de taninos. Como características dos sistemas BIA-MPA, pode-se citar: baixo custo, simplicidade, necessidade de volume reduzido de amostras e reagentes, alta frequência analítica, alta sensibilidade e possibilidade de desenvolvimento de procedimentos com características portáteis. (PEREIRA, 2016).

Recentemente, o uso de eletrodos de trabalho fabricados por tecnologia de impressão 3D vem recebendo destaque no desenvolvimento de novos métodos eletroquímicos de análise (JOÃO *et al.*, 2022; VIVALDI *et al.*, 2022). Basicamente, isto se deve a algumas propriedades atrativas deste material, como: alta condutividade, propriedades catalíticas, biocompatibilidade e de fácil preparação (DE OLIVEIRA; DE MELO; DA SILVA, 2022; ZHANG *et al.*, 2022). Estas características vêm sendo exploradas com sucesso no desenvolvimento de novos métodos para diversas determinações (KALINKE *et al.*, 2022; LISBOA *et al.*, 2022; PIOVESAN *et al.*, 2017).

Neste trabalho é proposto o desenvolvimento de um novo método eletroquímico para a quantificação de tanino usando BIA-MPA e eletrodo de trabalho fabricado por impressão 3D, utilizando o filamento PLA condutivo negro de fumo. Até o momento não foi encontrado na literatura nenhuma metodologia baseada em métodos eletroquímicos com uso tecnologia 3D para a quantificação de taninos, que evidencia a inovação da proposta.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Reagentes, soluções e amostras

Ácido tânico, utilizado como padrão para a quantificação de taninos, foi adquirido da empresa ACS Científica (Sumaré, SP, Brasil), hidróxido de sódio da empresa Dinâmica Química Contemporânea (São Paulo, SP, Brasil), etanol da Neon Reagentes Analíticos (Suzano, SP, Brasil).

Os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico e preparados sem purificação prévia. Solução de hidróxido de sódio  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  foi utilizada como eletrólito suporte. As cascas de pequi foram coletadas em pontos de comercialização do fruto na cidade de Rio Verde (Goiás), feiras livres e vendedores ambulantes.

Após a coleta, foi realizada uma triagem e as cascas selecionadas foram lavadas, picadas e levadas à estufa para secagem a fim de reduzir a umidade, facilitar o processo de trituração, diminuir ação enzimática e evitar proliferação de microbiana (RODRIGUES *et al.*, 2016). Depois de dessecadas, foram trituradas em moinho de facas, obtendo menor granulometria.

O tanino da casca de pequi crua triturada foi extraído em solução aquosa em banho-maria a 60° C durante 60 minutos, numa proporção de 1g de pó da casca para cada 50 ml de água. Após, os extratos foram filtrados em papel filtro, armazenado à temperatura de -20°C e protegido da luz até a realização das análises.

### 2.2.2. Quantificação por Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção amperométrica.

As medidas eletroquímicas foram realizadas usando um potenciostato desenvolvido no próprio laboratório, interfaciado a um microcomputador raspberry pi 3 e software Qt-design com linguagem de programação Phyton (PyQt) (BARROS et al., 2019). Um eletrodo miniaturizado de Ag/AgCl<sub>sat.</sub> com KCl e um fio de aço inoxidável foram utilizados como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente. Impressora 3D (GTMax3D – disponível no LabMaker, Rio verde, GO) foi utilizada para a fabricação da célula BIA de 150mL, utilizando filamento ABS obtido da empresa Filamentos 3D Brasil (Novo Hamburgo, RS, Brasil), e do eletrodo de trabalho, utilizando filamento condutivo Carbon Black/PLA obtido da empresa Proto-Pasta®.

A célula eletroquímica foi impressa usando o modelo proposto por Cardoso et al., (2018) adaptado, como mostra a Figura 1.

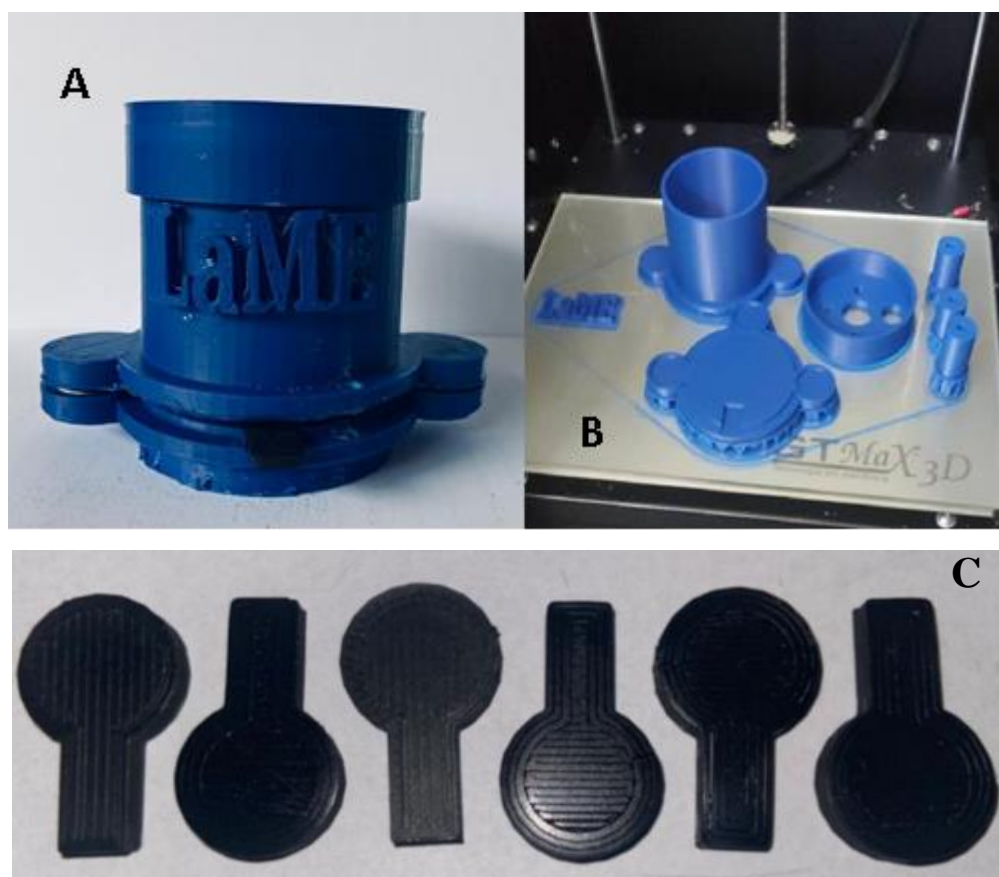


Figura. 1. (A) Célula analítica impressa em 3D montada; (B) Componentes da célula impressa em 3D; (C) Eletrodo de trabalho impresso. Autor: João Vitor.

Antes do uso, um dos lados do eletrodo de trabalho foi polido manualmente com papel abrasivo (lixa microfina T401 1500) umedecido com água deionizada por 30s, como proposto por Cardoso et al., (2019), e o resultado é a exposição do Carbon Black e homogeneização da superfície (lisa e sem ranhuras), evitando possíveis vazamentos quando o eletrodo é acoplado à célula eletroquímica impressa em 3D e proporcionando melhora na resposta de corrente e perfil voltamétrico (Figura. 2. B) .

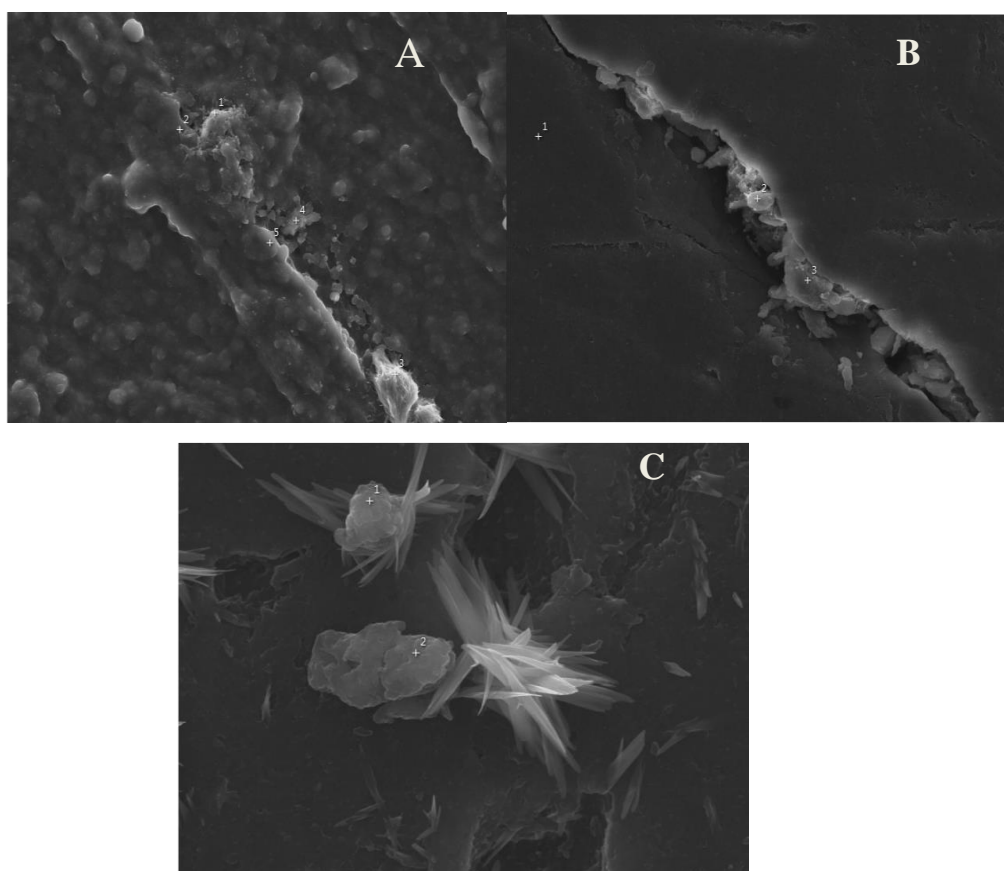


Figura. 2. (A) Eletrodo de trabalho sem tratamento; (B) Eletrodo de trabalho polido; (C) Eletrodo de trabalho após o tratamento eletroquímico. Autor: João Vitor.

Em seguida, o eletrodo polido foi fixado na parte inferior da célula BIA com auxílio de um o-ring de borracha de 0,8 cm de diâmetro. O diâmetro do o-ring define a área do eletrodo de trabalho ( $0,5 \text{ cm}^2$ ). Finalmente, após o acoplamento do eletrodo de trabalho à célula, foi realizado um tratamento eletroquímico da sua superfície que consistiu na aplicação da seguinte sequência de pulsos potencial em meio  $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ :  $+ 1,4 \text{ V}/200 \text{ s}$  e após  $- 1,0 \text{ V}/200 \text{ s}$  (Figura. 2. C) , conforme descrito na literatura (CARDOSO *et al.*, 2020). Esta etapa remove o material polimérico não condutor (PLA) da superfície do eletrodo de trabalho para facilitar a transferência de elétrons. Após 1 dia de trabalho ou medições sucessivas, o

mesmo eletrodo (peça retangular) pode ser utilizado novamente repetindo o polimento manual da superfície e o tratamento eletroquímico.

Todos os experimentos foram realizados com a solução no interior da célula BIA sob agitação magnética e a injeção das soluções (amostras e padrões) foi realizada com uma micropipeta eletrônica motorizada (Jetta Smartpipette pro 1200) com a ponteira da mesma posicionada a uma distância constante do eletrodo de trabalho ( $\sim 2$  mm), conforme recomendado anteriormente (PEREIRA., 2016).

No preparo da solução estoque, quantidade adequada do padrão de ácido tânico foi dissolvido em água para uma concentração final de  $2500 \text{ mg L}^{-1}$ . Na sequência, alíquotas dessa solução estoque foram diluídas, para concentrações adequadas, no eletrólito de suporte para subsequente injeção no sistema BIA. O mesmo processo foi realizado na análise da amostra, utilizando alíquotas do extrato devidamente diluídas em meio de  $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ .

### **2.2.3. Validação do método**

A validação de um método analítico é uma forma de demonstrar o desempenho do método, sua credibilidade, assegurando a confiabilidade dos resultados. Dois agentes fiscalizadores, a ANVISA, - RDC N° 166, DE 24 DE JULHO DE 2017 (ANVISA, 2017) e o INMETRO, documento DOQCGCRE- 008 de 2006 (INMETRO, 2020) regulam e descrevem os requisitos mínimos para validação de um método analítico. Alguns parâmetros são considerados significativos para realização da validação de um método, são eles: linearidade, limite de quantificação (LQ), limite de detecção (LD), precisão, exatidão e repetibilidade.

#### **2.2.4.1. Linearidade**

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (ANVISA, 2017). Ela é comprovada a partir da média de três curvas padrão, com no mínimo cinco concentrações (SANTOS, 2020).

A linearidade será obtida conforme a equação matemática, equação (1), que melhor expresse a relação de concentração do analito na amostra com a resposta do sistema de detecção. Um teste estatístico será aplicado em nível de significância de 5% (cinco por cento). De acordo com a resolução ANVISA- RDC N° 166, DE 24 DE JULHO DE 2017 (ANVISA, 2017), o coeficiente de correlação deve estar acima de 0,990 para apresentar bons resultados de linearidade.



$$y = ax + b \quad (1)$$

Em que  $y$  é a resposta medida, variável independente,  $b$  é o coeficiente linear (intersecção com o eixo),  $a$  é o coeficiente angular (inclinação da curva de calibração) e  $x$  é a concentração do analito, variável independente (RAMOS et al., 2020). O método é mais sensível quando pequenas variações de concentração resultam em maior variação na resposta, ou seja, maior inclinação ( $a$ ) (INMETRO, 2020).

#### **2.2.4.2.Limite de quantificação**

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2017). Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco) (INMETRO, 2020). Esse parâmetro tem grande importância para métodos quantitativos. O limite de quantificação (LQ) pode ser estimado pela equação (2):

$$L = \frac{10 s}{b} \quad (2)$$

Em que,  $s$  é o desvio padrão da resposta do branco e  $b$ , a inclinação (coeficiente angular) da curva analítica. Esse método fornece melhores resultados ao nível de traços. Em altas concentrações, este método estima valores de LQ acima dos reais (INMETRO, 2020).

#### 2.2.4.3. Limite de detecção

O Limite de detecção deve ser demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2017). O limite de detecção pode ser calculado através da equação (3). A importância dessa determinação e os problemas associados a ela advêm do fato de que a probabilidade de detecção não muda rapidamente de “0” para “1” quando seu limiar é ultrapassado (INMETRO, 2020).

$$L = \frac{3s}{b} \quad (2)$$

Onde,  $s$  é o desvio padrão da resposta do branco e  $b$ , a inclinação (coeficiente angular) da curva analítica. Esse método fornece melhores resultados ao nível de traços. Em altas concentrações, esse método estima valores de LD acima dos reais (INMETRO, 2020).

#### 2.2.4.4. Precisão

Como a precisão avalia a proximidade entre os resultados, ela pode ser demonstrada através da repetitividade, precisão intermediária ou da reprodutividade. Na repetibilidade de medição, tem o mesmo procedimento de medição, os mesmos analistas, o mesmo sistema de medição, as mesmas condições de operação e o mesmo local, assim como medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares durante um curto período de tempo (INMETRO, 2020).

A precisão deve ser demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativa (DPR) da série de medições conforme a fórmula equação (4), em que  $DP$  é o desvio padrão e  $CMD$ , a concentração média determinada (ANVISA, 2017).

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (2)$$

#### 2.2.4.5.Exatidão

Para verificar a exatidão do método, foi realizado o estudo de recuperação ou fortificação, em que uma alíquota de concentração conhecida do analito é adicionado a amostra para verificar se a resposta da amostra corresponde ao esperado em relação à curva de calibração. Neste estudo, os extratos A, B e C foram fortificados com uma concentração do padrão de AT de 10 mg L<sup>-1</sup> e injetados no método BIA para verificação da exatidão. A % recuperação pode ser calculada pela equação 5:

$$\% \text{ recuperação} = \frac{C \text{ amostra fortificada} - C \text{ amostra não fortificada}}{C \text{ adicionado}} \times 100 \quad (5)$$

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comportamento eletroquímico do AT, usando eletrodo de trabalho impresso com filamento condutivo Carbon Black/PLA, foi previamente investigado utilizando  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão BR (Britton-Robinson) em diferentes valores de pH (1,0; 3,0; 5,0 e 7,0) e  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de solução de NaOH (pH = 11,0). Nesse estudo foi utilizada a técnica de voltametria cíclica na faixa de potencial de -0,70 a +1,50 V com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  e incremento de potencial de 5 mV. Verificou-se que as melhores condições eletroquímicas em função da sensibilidade e seletividade na detecção de AT foram obtidas em meio de eletrólito NaOH  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  (pH = 11) conforme apresentado na Figura 3.

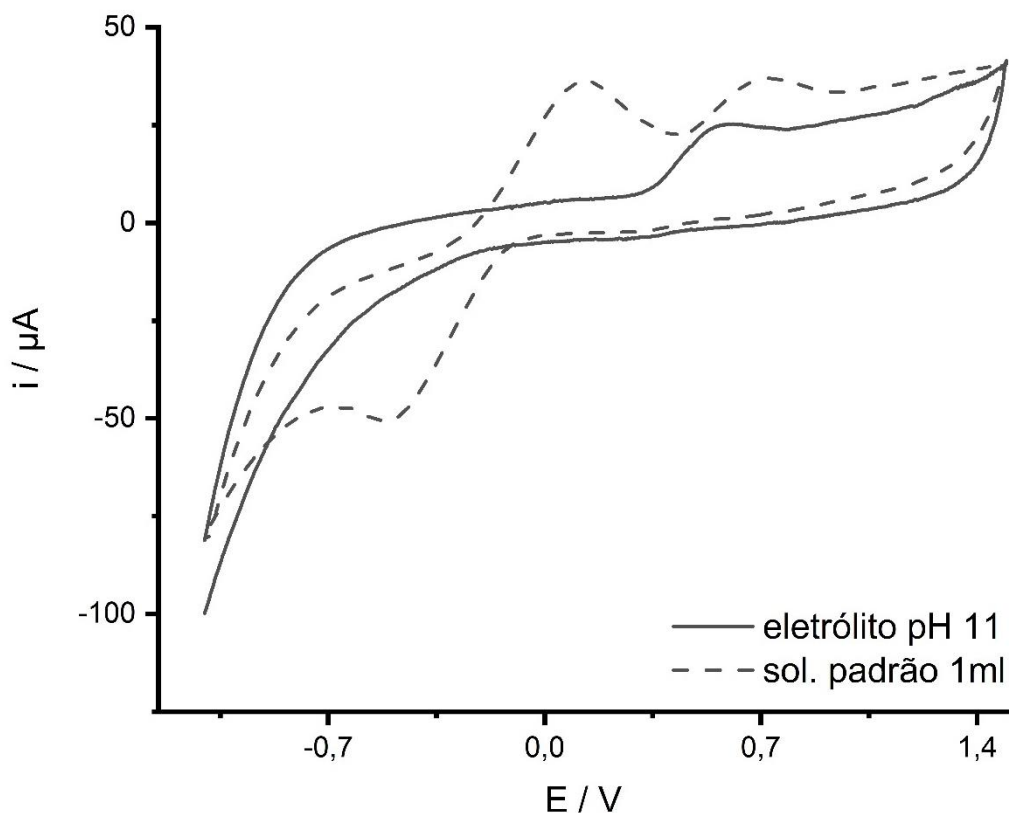


Figura 3. Voltamograma cíclico obtido utilizando eletrodo impresso com filamento condutivo Carbon Black/PLA em meio de solução NaOH  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  (pH = 11,0) antes (—) e após a adição de  $125,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AT (- - -). Velocidade de varredura:  $50 \text{ mV s}^{-1}$ ; Incremento de potencial: 5 mV

Como pode ser observado na Figura 3, o mecanismo de oxidação do AT envolve os grupos hidroxila (-OH) presentes na molécula, o aumento da intensidade da corrente faz com que mais moléculas de AT sejam adsorvidas na superfície do eletrodo, aumentando a corrente de oxidação (PIOVESAN; SANTANA; SPINELLI, 2020). Na varredura inversa, um pico catódico foi observado em cerca de -0,40 V ( $i = 40 \mu\text{A}$ ), que provavelmente corresponde à redução eletroquímica dos produtos de oxidação gerados em +0,15 e +0,70 V.

O uso da solução de NaOH 0,05 mol L<sup>-1</sup> (pH = 11) como eletrólito suporte mostrou-se eficiente para a detecção do AT, e nessas condições o pico catódico (-0,40 V) apresentou maior variação de corrente, sendo o escolhido para prosseguir os estudos.

Um teste de agitação foi realizado para verificar a influência da agitação no interior da célula BIA. A Figura 4 mostra os resultados obtidos utilizando o sistema BIA sem e com agitação da solução no interior da célula.

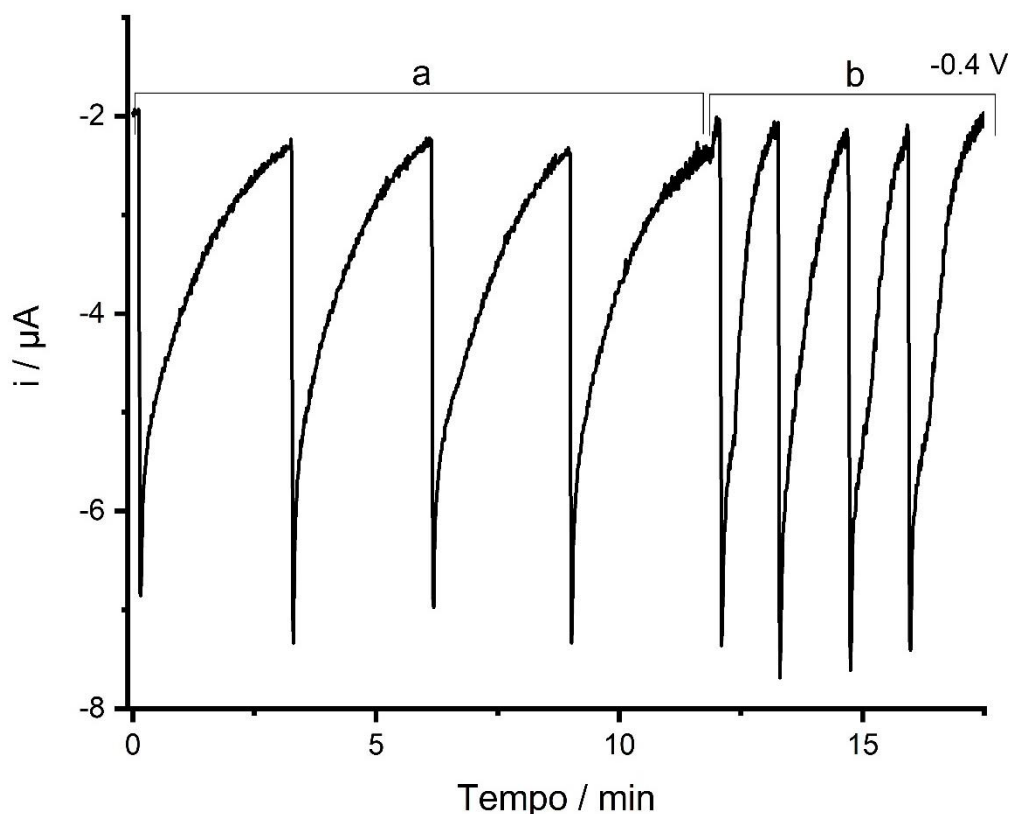


Figura 4. Amperogramas obtidos com o sistema BIA-MPA após injeções ( $n=4$ ) de soluções padrão de AT ( $40 \text{ mg L}^{-1}$ ), (a) sem agitação e (b) com agitação, utilizando eletrodo de filamento condutivo Carbon Black/ PLA, solução NaOH  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  (pH = 11,0) e pulso de potencial: -0.4 V/200 ms. Volume de injeção:  $200 \mu\text{L}$ .

A determinação de AT poderia ser realizada sem agitação da solução no interior da célula BIA. Porém, sob agitação, nota-se que o retorno do pico de corrente para seu ponto inicial ocorre rapidamente e a frequência de amostragem pode ser aumentada de 22 para 44 injeções/ hora), portanto para melhorar a eficiência em relação ao tempo de análise, a agitação é uma boa alternativa, uma vez que reduz em quase metade do tempo. Além de maior frequência de análise, a agitação pode reduzir problemas relacionados a contaminação da superfície do eletrodo pois ocorre a diluição mais rápida da solução na célula.

A Figura 5 apresenta os resultados obtidos para injeções sequenciais ( $n=10$ ) de soluções contendo (a) 20,0 ou (b) 80,0 mg L<sup>-1</sup> de AT.

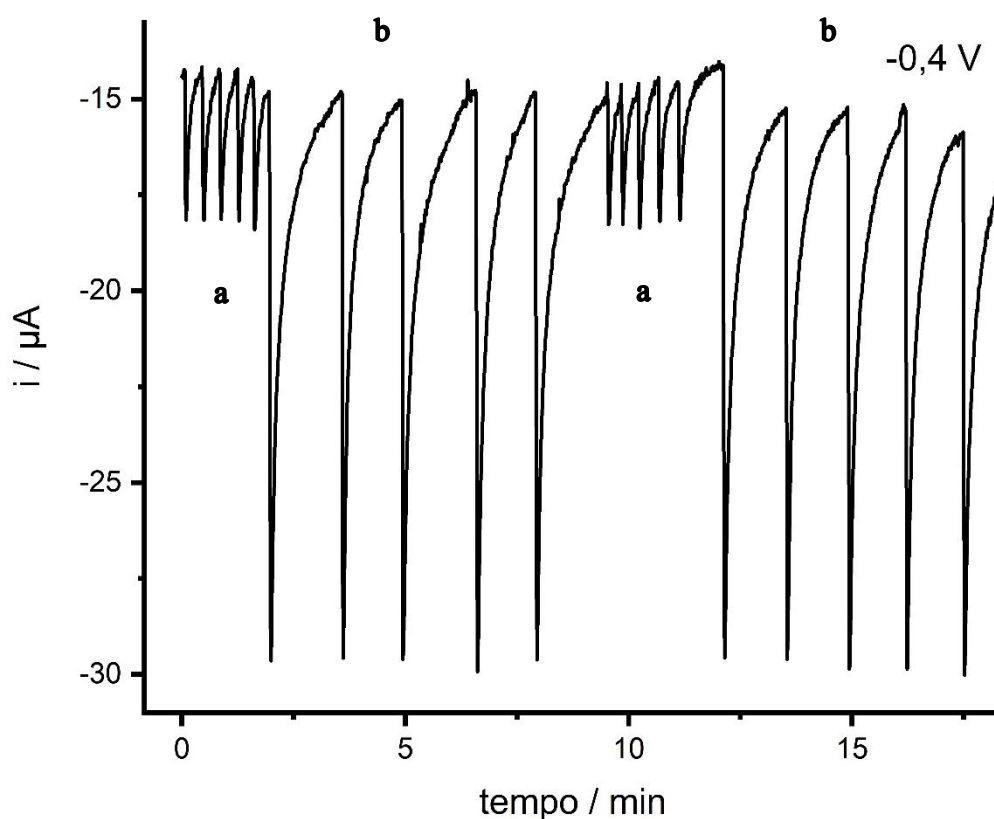


Figura 5. Amperogramas obtidos para injeções sequenciais de 20,0 (a) ou 80,0 mg L<sup>-1</sup> de AT. Outras condições ver Fig. 3.

Neste estudo, o DPR ( $n=10$ ) foi de 0,15 e 0,69% (a) e de 0,39 e 0,74% (b) intra e interdia, respectivamente. Esses resultados indicam que o método é preciso, pois mesmo com injeções sucessivas de soluções com diferentes concentrações e em diferentes dias, os DPRs obtidos foram baixos ( $< 0,74\%$ ) e não foi observado efeito de memória entre as injeções.

A Figura 6 apresenta os amperogramas obtidos para injeções em duplicata de soluções padrão contendo concentrações crescentes de AT (a – l: 2,5 a 500,0 mg L<sup>-1</sup>) em meio de eletrólito (pH = 11).

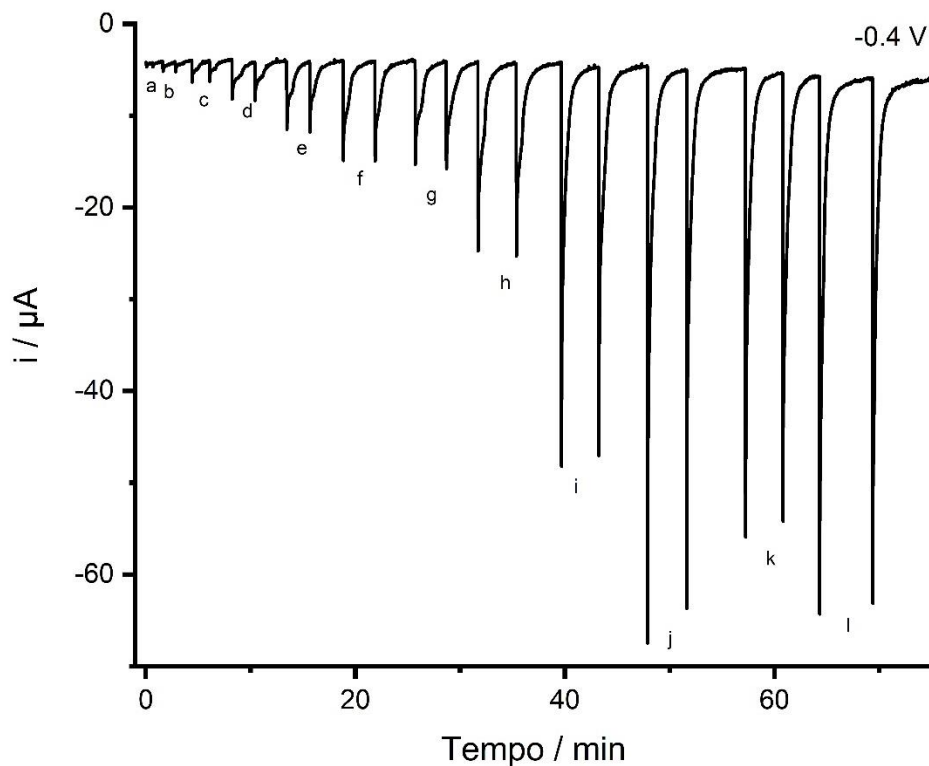


Figura 6. Amperograma obtido com o sistema BIA-MPA após injeções em duplicatas de soluções padrão contendo concentrações crescentes de AT (a – l: 2,5 a 500,0 mg L<sup>-1</sup>). Outras condições ver Fig. 3.

Através do amperograma apresentado na Fig. 6, é possível observar que a faixa de linear de trabalho foi de 2,5 a a 300 mg L<sup>-1</sup>. Nos pontos de 400 e 500 mg L<sup>-1</sup>, ocorre perda dessa linearidade, pontos desconsiderados na realização da curva de calibração, como mostra a Figura 7.

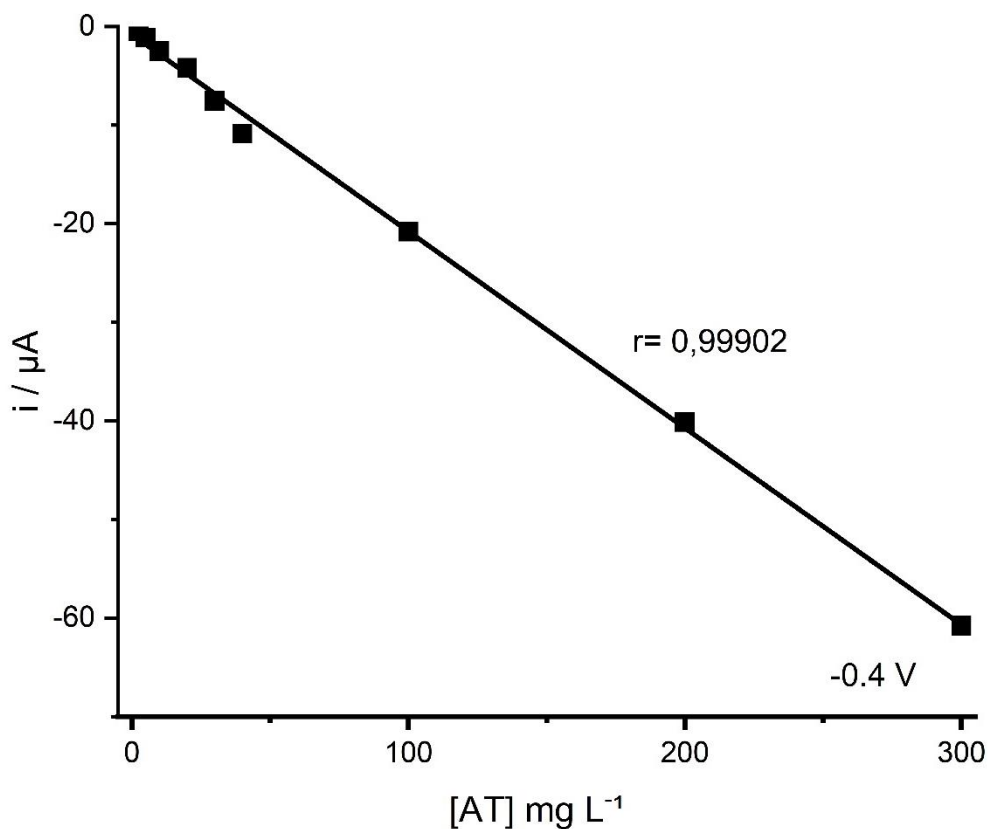


Figura 7. Curva de calibração da solução padrão de AT (2,5 a 300 mg L<sup>-1</sup>). Outras condições ver Fig. 3

Através da regressão linear da curva de calibração, obtém-se a seguinte equação:

$$I (\mu\text{A}) = -0,19962 \pm 0,00333 [\text{AT}] (\text{mg L}^{-1}) - 0,80001 \pm 0,42007 ; r = 0,999$$

Após determinação da faixa linear, o sistema BIA-MPA foi aplicado na determinação de taninos em extratos obtidos a partir da casca de pequi. A Figura 8 apresenta o amperograma obtido para injeções em duplicata de cinco soluções padrão contendo concentrações crescentes de AT (a – e: 10,0 a 40,0 mg L<sup>-1</sup>), três amostras não fortificadas (f, h, j) e fortificadas (g, i, l) adequadamente diluídas no eletrólito suporte.



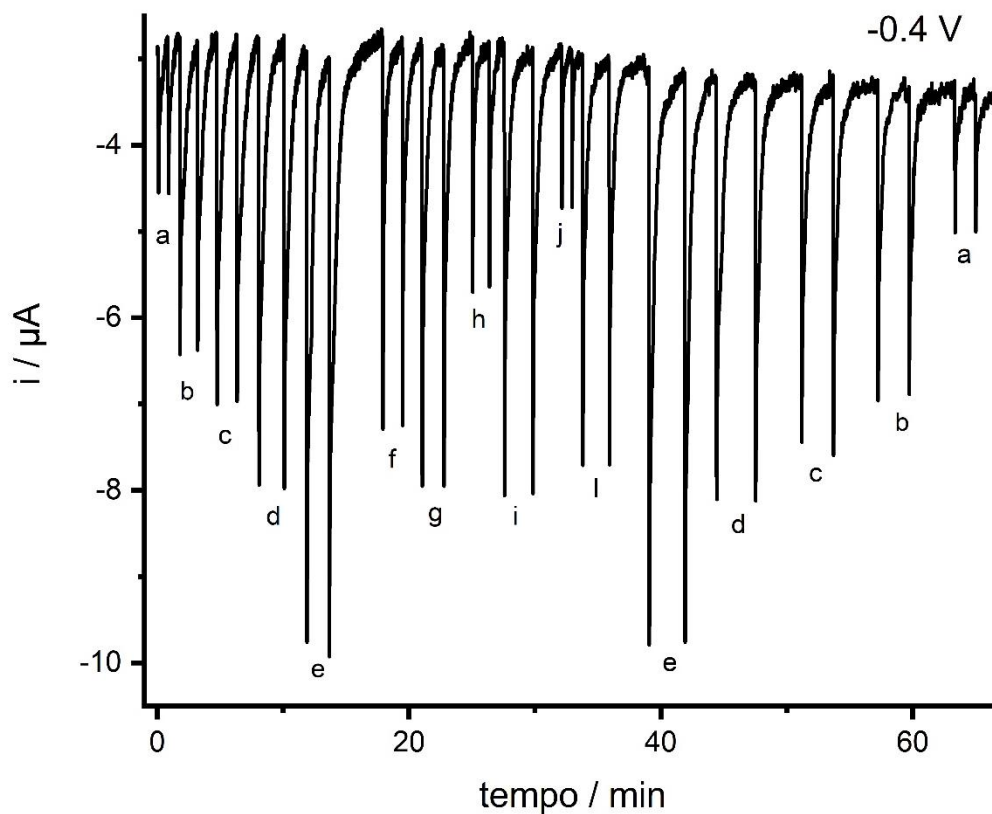


Figura 8. Amperogramas obtidos com o sistema BIA-MPA após injeções em duplicatas de cinco soluções padrão contendo concentrações crescentes de AT (a – e: 10,0 a 40,0 mg L<sup>-1</sup>), três amostras não fortificadas (f, h, j) e fortificadas (g, i, l), adequadamente diluídas no eletrólito suporte. Outras condições ver Fig. 3

As médias da altura dos picos de cada concentração foram usadas para a construção da curva de calibração padrão apresentada na Figura 9.

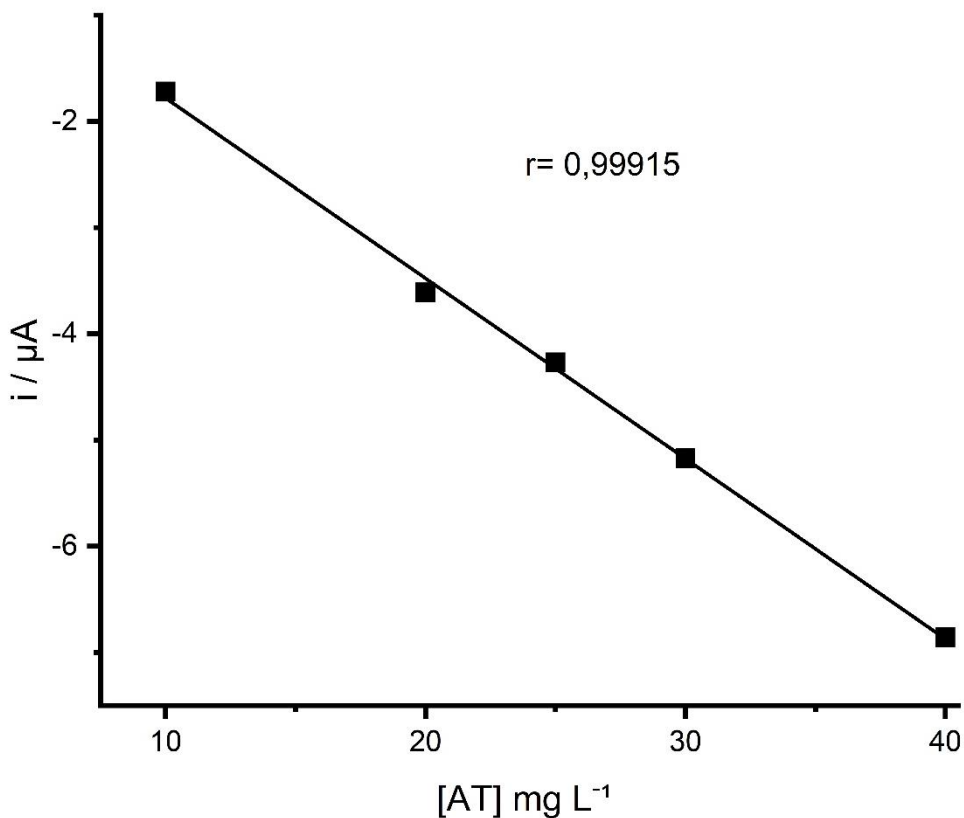


Figura 9. Curva de calibração da solução padrão de AT (10,0 a 40,0 mg L<sup>-1</sup>). Outras condições ver Fig. 3

A curva de calibração apresentou boa linearidade na faixa de concentração empregada, com a seguinte equação de calibração:

$$I (\mu\text{A}) = -0,1698 \pm 0,0040 [\text{AT}] (\text{mg L}^{-1}) - 0,081 \pm 0,10882; r = 0,999$$

As soluções padrão injetadas em ordem crescente e decrescente de concentração apresentaram respostas semelhantes (mesmo após injeção das amostras), e confirma que o fenômeno de efeito de memória ou contaminação do eletrodo foi prevenido, mesmo usando um eletrodo de trabalho sólido, não modificado e fabricado com material alternativo. As características analíticas do método BIA-MPA para quantificação de taninos são apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Características analíticas do método BIA-MPA para AT.

<b>Características</b>	<b>AT</b>
<b>Faixa Linear (mg L<sup>-1</sup>)</b>	2,5 – 300,0
<b>r</b>	0,999
<b>LD (mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,950
<b>LQ (mg L<sup>-1</sup>)</b>	2,890
<b>Frequência analítica (injeções h<sup>-1</sup>)</b>	44
<b>DPR intradia (n = 10)</b>	0,39%
<b>DPR interdía (n = 10)</b>	0,74%

r = coeficiente de correlação linear; LD = Limite de detecção ( $3 S_B/b$ ;  $S_B$  = desvio padrão do branco, n = 10, b = coeficiente angular da curva de calibração); LQ = Limite de quantificação (3,33 LD).

Com a média dos valores de alturas dos picos para cada amostra e a fortificação, calculou-se a % de recuperação conforme a equação. Em que %R é a porcentagem de recuperação, Cfort é a concentração da amostra fortificada, Cnfort é a concentração da amostra não fortificada e Cad é a concentração do padrão adicionado numa concentração conhecida.

O método BIA-MPA proposto foi usado para determinar taninos em três amostras de extratos (A, B e C). A Tabela 4 mostra os resultados das análises dessas amostras e seus respectivos valores de recuperação.

Tabela 4- Resultados obtidos para determinação de AT por BIA-MPA e recuperação (n = 2).

<b>Método</b>	<b>Método BIA</b>	<b>Recuperação</b>
<b>Extrato</b>	[AT] (mg L <sup>1</sup> )	%
<b>A</b>	5228,5 ± 33,3	38
<b>B</b>	3302,7 ± 58,3	153
<b>C</b>	2089,5 ± 41,6	170

O método BIA não apresentou resultados satisfatórios de recuperação, como os taninos são compostos que possuem uma molécula complexa e o conteúdo do extrato proveniente da casca do pequi é desconhecido, pode haver em sua composição alguns compostos interferentes na amostra como por exemplo os flavonoides, entre outros compostos fenólicos.

Para contornar esse problema, alguns ajustes de metodologia são necessários, como a detecção da composição do extrato por HPLC ou detecção por massas, porém houve inviabilidade dessas análises pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e pela Universidade Federal de Goiás- Goiânia, por problemas nos equipamentos ou a falta de padrões para quantificação. Conseguindo detectar os interferentes, pode-se realizar a verificação de outro potencial diferente do aplicado na pesquisa, detectando os interferentes e usando um fator de correção. Esta metodologia, além de ser capaz de eliminar os interferentes, traz a viabilidade de análises simultâneas de várias espécies numa mesma metodologia.

## 2.4 CONCLUSÕES

O método BIA com eletrodo de filamento condutivo PLA Carbon Black em meio de solução eletrolítica NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> (pH = 11,0) apresentou bons resultados de linearidade ( $r = 0,999$ ), boa precisão (DPR < 0,75%) e alta frequência analítica (44 injeções h<sup>-1</sup>). Se mostrou um método inovador, simples e de baixo custo para quantificação de AT em matriz simples, uma vez que em matrizes complexas outros compostos fenólicos podem interferir na quantificação.

Até o presente momento, não consta na literatura nenhuma detecção amperométrica de AT sem uma modificação do eletrodo ou uma pré-oxidação do composto. Sendo assim, o método proposto se torna uma alternativa atrativa para a detecção de compostos tânicos, visto que para a detecção foi usado eletrodos de material de custo baixo, impressos em uma impressora 3D e um potenciostato caseiro construído no próprio laboratório. Além da vantagem econômica, o uso de quantidades pequenas de amostras (250µL) e de reagentes, além da baixa toxicidade o torna viável também no âmbito ambiental (geração mínima de resíduos).

Como proposta para trabalhos futuros, o incremento de análise dos interferentes identificando a composição do extrato e o estudo de potencial ótimo de detecção destes interferentes para análises simultâneas.

## 2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

INMETRO. Documento de caráter orientativo, DOQ-CGCRE-008 de 2006, Orientação sobre validação de métodos analíticos. Revisão 09, jun. 2020.

ALIPOUR, E. et al. Electrochemically activated pencil lead electrode as a sensitive voltammetric sensor to determine gallic acid. *Food Chemistry*, v. 375, p. 131871, maio 2022.

ARAUJO, E. S. et al. Quantification of the bark *Myrcia eximia* DC tannins from the Amazon rainforest and its application in the formulation of natural adhesives for wood. **Journal of Cleaner Production**, v. 280, p. 124324, 20 jan. 2021.

BARROS, A. et al. Desenvolvimento de um mini potenciostato para análises voltamétricas e amperométricas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Aplicada e Sustentabilidade). **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano-campus Rio Verde**, 2019.

BRAGA, K. M. S. Atividade citotóxica do extrato etanólico da casca de pequi (*Caryocar brasiliense*) em células de osteossarcoma canino in vitro. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), **Universidade Federal de Goiás**, 2017.

CARDOSO, R. M. et al. 3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 1033, p. 49–57, 29 nov. 2018.

CARDOSO, R. M. et al. 3D-printed flexible device combining sampling and detection of explosives. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 292, p. 308–313, 1 ago. 2019.

DA SILVA ARAUJO, E. et al. Quantification of the bark *Myrcia eximia* DC tannins from the Amazon rainforest and its application in the formulation of natural adhesives for wood. *Journal of Cleaner Production*, v. 280, p. 124324, 20 jan. 2021.

DE CARVALHO, L. Toxicidade do extrato etanólico da casca de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) em camundongos. Tese (Doutorado em Ciência Animal), **Universidade Federal de Goiás**, 2018.

DE OLIVEIRA, F. M.; DE MELO, E. I.; DA SILVA, R. A. B. A versatile user-friendly electrochemical cell with three 3D-pen-printed electrodes in a tiny micropipette tip. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 360, p. 131650, jun. 2022.

GALVÃO, M. A. M. et al. Evaluation of the Folin-Ciocalteu Method and Quantification of Total Tannins in Stem Barks and Pods from *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul) L. P. Queiroz. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, n. 0, p. 18170586, 14 nov. 2018.

GONZÁLEZ, C. M. et al. An in vitro digestion study of tannins and antioxidant activity affected by drying “Rojo Brillante” persimmon. *LWT*, v. 155, p. 112961, fev. 2022.

HUNG, Y. et al. Determining the levels of tannin in tea by amperometry of ferricyanide pre-reaction with a sample in a flow-injection system. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 130, n. 1, p. 135–140, 14 mar. 2008.

IRMAN, N. et al. Preparation and characterization of formaldehyde-free wood adhesive from mangrove bark tannin. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, v. 114, p. 103094, abr. 2022.

JOÃO, A. F. et al. 3D-printed carbon black/poly(lactic acid) electrochemical sensor combined with batch injection analysis: A cost-effective and portable tool for naproxen sensing. *Microchemical Journal*, v. 180, p. 107565, set. 2022.

JOÃO; JÚNIOR, W. S. Utilização da Casca de Pinus para Extração de Taninos e aplicar como Coagulante no Tratamento do Efluentes Industriais Utilization of the Pinus Bark for Tannin Extraction to apply with as Coagulant in the Treatment of Industrial Effluents. **Rev. Virtual Quim**, v. 11, n. 3, p. 1044–1053, 2019.

KALINKE, C. et al. Influence of filament aging and conductive additive in 3D printed sensors. *Analytica Chimica Acta*, v. 1191, p. 339228, jan. 2022.

LISBOA, T. P. et al. 3D-printed electrode an affordable sensor for sulfanilamide monitoring in breast milk, synthetic urine, and pharmaceutical formulation samples. *Talanta*, v. 247, p. 123610, set. 2022.

LORENA, C. et al. **Supporting Information 3D-printed graphene/poly(lactic acid) electrodes promise high sensitivity in electroanalysis.** [s.l: s.n.].

MENDES, F. F. O extrato etanólico da casca de pequi reduz o dano cerebral induzido em ratas submetidas à dieta hipercalórica. Tese (Doutorado em Ciência Animal), **Universidade Federal de Goiás**, 2017.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Ministério da Saúde-MS Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA**, 2017.

MORAIS, N. R. L. <sup>1</sup>; O. et al. Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidocolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi-RN. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 18, n. 1, p. 180–185, 2016.

MORBECK, F. L. et al. Extraction and evaluation of tannin from green coconut mesocarp. **Revista Materia**, v. 24, n. 3, 2019.

MOYA, H. D. et al. A multicommutated flow-system for spectrophotometric determination of tannin exploiting the Cu(I)/BCA complex formation. **Microchemical Journal**, v. 88, n. 1, p. 21–25, fev. 2008.

OLIVEIRA BATISTA, F.; FERREIRA, R.; SANTOS DE SOUSA, R. Brazilian Journal of Development Compostos bioativos em frutos pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e baru (*Dipteryx alata* Vogel) e seus usos potenciais: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 7, p. 9259–9270, 8 ago. 2019.

PIOVESAN, J. V.; SANTANA, E. R.; SPINELLI, A. A carbon paste electrode improved with poly(ethylene glycol) for tannic acid surveillance in beer samples. **Food Chemistry**, v. 326, p. 127055, out. 2020.

PIOVESAN, J. V. et al. Voltammetric determination of condensed tannins with a glassy carbon electrode chemically modified with gold nanoparticles stabilized in carboxymethylcellulose. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 240, p. 838–847, 1 mar. 2017.

PEREIRA, P. F. Uso do eletrodo de diamante dopado com boro acoplado a um sistema BIA para determinação simultânea de princípios ativos em medicamentos. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, p. 156. 2016.

RAMOS, R. O. et al. Validation of the spectrophotometric method for determining the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in public supply water. **J. of Develop**, v. 6, n. 8, p. 61828–61836, 25 ago. 2020.

RODRIGUES, F. A. et al. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p. 870, 2016.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53–60, 2007.

SÁNCHEZ ARRIBAS, A. et al. A comparative study of carbon nanotube dispersions assisted by cationic reagents as electrode modifiers: Preparation, characterization and electrochemical performance for gallic acid detection. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 857, p. 113750, 15 jan. 2020.

SU, Y. L.; CHENG, S. H. Sensitive and selective determination of gallic acid in green tea samples based on an electrochemical platform of poly(melamine) film. **Analytica Chimica Acta**, v. 901, p. 41–50, 11 dez. 2015.

SANTOS, F. C. R. Desenvolvimento e validação de um método analítico indicativo de estabilidade para o ácido nordihidroguaiairético. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 14 fev. 2020. Disponível em: <<http://tede.unioeste.br/handle/tede/5051>>. Acesso em: 18 fev. 2021.

VANDERWEIDE, J. et al. Increase in seed tannin extractability and oxidation using a freeze-thaw treatment in cool-climate grown red (*Vitis vinifera* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 308, p. 125571, mar. 2020.

VIEIRA, M. C.; LELIS, R. C. C.; RODRIGUES, N. D. Propriedades químicas de extratos tânicos da casca de *Pinus oocarpa* e avaliação de seu emprego como adesivo. **Cerne**, v. 20, n. 1, p. 47–54, 2014.

VIVALDI, F. et al. Electric conductivity measurements employing 3D printed electrodes and cells. **Analytica Chimica Acta**, v. 1203, p. 339600, abr. 2022.

ZHANG, T. et al. A quantitative sensing system based on a 3D-printed ion-selective electrode for rapid and sensitive detection of bacteria in biological fluid. **Talanta**, v. 238, p. 123040, fev. 2022.

ZIYATDINOVA, G.; SNEGUREVA, Y.; BUDNIKOV, H. Novel approach for the voltammetric evaluation of antioxidant activity using DPPH<sup>-</sup>-modified electrode. **Electrochimica Acta**, v. 247, p. 97–106, set. 2017.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O reaproveitamento das cascas de pequi é de interesse econômico e ambiental, desde que sua metodologia de extração e quantificação sejam de baixo custo. A quantificação de tanino através do uso de eletrodo de trabalho fabricado por tecnologia de impressão 3D e método de Análise por Injeção em Batelada (BIA) com detecção amperométrica apresentam vantagens como a implementação em laboratórios com pouca infraestrutura, baixo custo, elevada seletividade e sensibilidade nas determinações, elevada frequência analítica, consumo mínimo de reagentes e amostras, além de geração mínima de resíduos.

Os extratos de plantas contendo taninos têm sido usado largamente no tratamento de águas e efluentes, e através da cationização deste composto, atua na etapa de coagulação e floculação, substituindo parte ou todo de coagulantes químicos como por exemplo o cloreto férrico. Além de reduzir o uso de compostos químicos que geram subprodutos, extratos tânicos são capazes de aumentar o pH do efluente tratado ou da água, reduzindo o uso de alcalinizantes no tratamento.

Outras aplicações para os taninos são a produção de espumas fenólicas tanto para usos hidropônicos quanto para isolantes térmicos na construção civil, no intuito de substituir espumas fenólicas sintéticas. Atuam também, como bactericidas tanto em aplicações ambientais quanto farmacológicas, considerados anti-inflamatórios e antimicrobianos.

A casca do pequi por ser um resíduo descartável é uma promissora fonte de extração destes compostos para diversas aplicações economicamente viável e ambientalmente correta, podendo gerar renda extra para comerciantes informais do fruto, além de reaproveitamento de um resíduo.



